

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-614>



Молекулярно-биологическая характеристика изолятов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных пневмококковым менингитом

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

¹Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета, Смоленск, Россия;

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

Аннотация

Цель работы — дать ключевые характеристики изолятов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих на территории России в 2015–2020 гг. и выделенных от больных пневмококковым менингитом, на основании данных высокопроизводительного секвенирования, включая глобальные кластеры пневмококковых последовательностей, серотипы, факторы вирулентности и генетические детерминанты резистентности, в сравнении с клиническими данными по чувствительности к антимикробным препаратам (АМП).

Материалы и методы. Исследовано 68 инвазивных изолятов *S. pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора пациентов с бактериальным менингитом в разных регионах России в 2015–2020 гг. Видовую идентификацию проводили с учётом морфологии колоний на кровяном агаре, наличия α-гемолиза, отрицательной каталазной реакции, чувствительности к оптохину, положительных результатов латекс-агглютинации. Чувствительность изолятов к АМП определяли методом микроразведений в бульоне, категории чувствительности — на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК). Проводили полногеномное секвенирование изолятов *S. pneumoniae*, анализ изолятов на сигнатуру пенициллинсвязывающих белков, определение глобальных кластеров пневмококковых последовательностей, аллелей MLST, серотипов, сиквент-типов и генов приобретённой резистентности (*mefA*, *ermB*, *tetM*, *folA/P*, *cat*), идентифицировали гены вирулентности.

Результаты. Выявлены 28 GPSC, 45 сиквент-типов и 27 серотипов. Степень охвата ППВ-23 и ПКВ-13 составила 78 и 59% соответственно. Доминировали серотипы 3 (18%), 19F (9%), 23F (7%) и 15B (6%). Преобладала (43%) линия GPSC12 (серотип 3). Линии, экспрессирующие вакцинные серотипы GPSC1(19F), GPSC6(14), GPSC13(6A), GPSC904(14) и GPSC10(19F), обладали множественной антимикробной резистентностью, включая резистентность к пенициллину. Резистентные линии, экспрессирующие невакцинные серотипы, — GPSC230 (13) и GPSC177 (35F). В большинстве случаев установлено соответствие генотипической и фенотипической резистентности к пенициллину (повышенные МПК β-лактамов коррелировали с типами пенициллинсвязывающих белков), эритромицину (*ermB*, *mefA*, *ermB/mefA*), клиндамицину (*ermB*) и тетрациклину (*tetM*) и триметоприму-сульфаметоксазолу (*folA*, *folP*). У всех изолятов обнаружены гены вирулентности *cbpG*, *lytA*, *pce/cbpE*, *pavA*, *pfbA*, *ply*, *hysA*, *nanA* и *cps4A*. Цинковая металлопротеиназа С обнаружена у 13% изолятов.

Заключение. Выявлено высокое разнообразие серотипов и линий среди изолятов пневмококков, выделенных у больных менингитом. Из 68 изолятов *S. pneumoniae*, выделенных у пациентов с бактериальным менингитом, более 17% относились к невакцинным серотипам. Результаты сопоставления фенотипической и генотипической антимикробной резистентности характеризовались хорошей конкордантностью, что указывает на необходимость дальнейшего изучения возможности использования полногеномного секвенирования в качестве диагностического инструмента для выявления механизмов резистентности у клинических изолятов пневмококков.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, инвазивные пневмококковые инфекции, полногеномное секвенирование, мультилокусное секвенирование-типирование, резистентность к антимикробным препаратам, пенициллинсвязывающие белки, глобальный кластер пневмококковых последовательностей, серотипы

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном письменном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Независимым междисциплинарным комитетом по этической экспертизе клинических исследований (протокол № 1 от 17.01.2020).

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: Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С., Гапонова И.И., Миронов К.О. Молекулярно-биологическая характеристика изолятов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных пневмококковым менингитом. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2025;102(2):150–161. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-614>
EDN: <https://www.elibrary.ru/NRAEKS>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-614>

Molecular and biological characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients with pneumococcal meningitis

Aida N. Chagaryan^{1✉}, Natali V. Ivanchik¹, Alexey Yu. Kuzmenkov¹,
Roman S. Kozlov^{1,2}, Irina I. Gaponova², Konstantin O. Mironov²

¹Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia;

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Abstract

The aim of the study is to provide key characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates circulating in Russia in 2015–2020 and isolated from pneumococcal meningitis patients based on high-throughput sequencing data, including global pneumococcal sequence clusters, serotypes, virulence factors and genetic determinants of resistance, in comparison with clinical data on antimicrobial susceptibility.

Materials and methods. We studied 68 invasive *S. pneumoniae* isolates from blood and cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis in different regions of Russia in 2015–2020. Species identification was performed taking into account the morphology of colonies on blood agar, the presence of α-hemolysis, negative catalase reaction, sensitivity to optoquine, and positive latex-agglutination results. The sensitivity of isolates to antimicrobials was determined by microdilution in broth, and sensitivity categories were determined based on borderline values of minimum inhibitory concentrations (MICs). Whole genome sequencing of *S. pneumoniae* isolates, analysis of isolates for penicillin-binding protein signature, determination of global pneumococcal sequence clusters, MLST alleles, serotypes, sequence types and acquired resistance genes (*mefA*, *ermB*, *tetM*, *folA/P*, *cat*), identification of virulence genes were carried out.

Results. Twenty-eight GPSCs, 45 sequence types and 27 serotypes were identified. The coverage rates of PPV-23 and PCV-13 were 78% and 59%, respectively. Serotypes 3 (18%), 19F (9%), 23F (7%) and 15B (6%) were predominant. The GPSC12 lineage (serotype 3) was predominant (43%). Lineages expressing vaccine serotypes GPSC1(19F), GPSC6(14), GPSC13(6A), GPSC904(14) and GPSC10(19F) exhibited multiple antimicrobial resistance, including penicillin resistance. The resistant lineages expressing non-vaccine serotypes were GPSC230 (13) and GPSC177 (35F). In most cases, genotypic and phenotypic resistance to penicillin (increased MICs of β-lactams correlated with types of penicillin-binding proteins), erythromycin (*ermB*, *mefA*, *ermB/mefA*), clindamycin (*ermB*) and tetracycline (*tetM*), and trimethoprim-sulfamethoxazole (*folA*, *folP*) was found to be consistent. The virulence genes *cbpG*, *lytA*, *pce/cbpE*, *pavA*, *pfbA*, *ply*, *hysA*, *nanA* and *cps4A* were detected in all isolates. Zinc metalloproteinase C was detected in 13% of isolates.

Conclusion. A high diversity of serotypes and lineages among pneumococcal isolates from meningitis patients was revealed. Out of the 68 *S. pneumoniae* isolates from patients with bacterial meningitis, more than 17% belonged to non-vaccine serotypes. The results of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance comparison were characterized by good concordance, which indicates the necessity for further study of the possibility of using whole-genome sequencing as a diagnostic tool to identify resistance mechanisms in clinical isolates of pneumococci.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, invasive pneumococcal infections, whole-genome sequencing, multilocus sequencing-typing; antimicrobial resistance, penicillin-binding proteins, global pneumococcal sequence cluster, serotypes

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The study protocol was approved by the Independent Interdisciplinary Committee for the Ethical Review of Clinical Trials (Protocol No. 1, January 17, 2020).

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: Chagaryan A.N., Ivanchik N.V., Kuzmenkov A.Yu., Kozlov R.S., Gaponova I.I., Mironov K.O. Molecular and biological characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients with pneumococcal meningitis. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2025;102(2):150–161.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-614>

EDN: <https://www.elibrary.ru/NRAEKS>

Введение

Streptococcus pneumoniae является патогеном дыхательных путей человека и основной причиной заболеваемости и смертности во всём мире. *S. pneumoniae* — 4-я по частоте причина смертельных инфекций, таких как септицемия и менингит, и является, по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), причиной 1,6 млн смертей, из которых 0,7–1,0 млн приходится на детей в возрасте до 5 лет, в основном в развивающихся странах [1–3]. Поверхностные капсульные полисахариды *S. pneumoniae* являются одними из наиболее важных факторов вирулентности и основой серотипирования пневмококка. В настоящее время известны более 100 серотипов *S. pneumoniae* [4]. Благодаря своей способности приобретать экзогенную ДНК пневмококк может переключать серотипы и получать гены резистентности к антибиотикам [5]. Бесконтрольное использование антимикробных препаратов (АМП), избирательное давление пневмококковых вакцин, высокий уровень генетической рекомбинации *S. pneumoniae* ведут к изменению популяции пневмококков: возникновению новых невакцинных серотипов, появлению изолятов со множественной антимикробной резистентностью, изменению профиля вирулентности. В 2024 г. ВОЗ включила *S. pneumoniae*, резистентный к макролидам, в обновлённый список приоритетных бактериальных патогенов среднего уровня¹.

В настоящее время технологии полногеномного секвенирования позволяют получить информацию о генетических изменениях, серотипах, сиквенс-типах, определённых как по «классической» 7-локусной схеме, так и по «основному геному» (core genome MLST), профиле вирулентности, статусе антимикробной резистентности пневмококков, что является важным для эпидемиологического надзора [6–10].

Цель исследования: дать ключевые характеристики изолятов *S. pneumoniae*, выделенных от больных пневмококковым менингитом, циркулирующих на территории России в 2015–2020 гг., на основании данных высокопроизводительного секвенирования, включая глобальные кластеры пневмококковых последовательностей, серотипы, факторы вирулентности и генетические детерминанты резистентности, в сравнении с клиническими данными по чувствительности к АМП.

Материалы и методы

Проведено исследование факторов вирулентности и генов резистентности у 68 инвазивных изолятов *S. pneumoniae*, выделенных из крови и ликво-

ра пациентов с диагнозом «бактериальный менингит». Исследование проводилось при добровольном информированном письменном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Независимым междисциплинарным комитетом по этической экспертизе клинических исследований (протокол № 1 от 17.01.2020).

Все изоляты были получены при проведении различных этапов многоцентрового исследования «ПеГАС» в 2015–2020 гг. в разных регионах России [11]. Выделение и первичную идентификацию изолятов проводили в локальных микробиологических лабораториях центров — участников исследования в рамках стандартной процедуры бактериологического исследования биологического материала, полученного от пациентов с диагнозом «бактериальный менингит» и в соответствии с МУК 4.2.1887-04 «Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов». Транспортировку изолятов *S. pneumoniae* в центральную лабораторию Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии (НИИХ) осуществляли на модифицированной среде Дорсэ. В НИИХ проводились оценка соответствия присланных изолятов критериям включения, идентификация с учётом морфологии колоний на кровяном агаре («НЕМ»), наличия α -гемолиза, отрицательной каталазной реакции, чувствительности к оптохину («Oxoid») и положительных результатов латекс-агглютинации с использованием набора «DrySpot Pneumo» («Oxoid»). До момента определения чувствительности к АМП все изоляты хранили в пробирках с триптиказо-соевым бульоном («bioMérieux») с добавлением 30% стерильного глицерина («Sigma») при -70°C . Контаминированные и нежизнеспособные изоляты были исключены из исследования. Чувствительность к АМП определяли методом микроразведений в бульоне в соответствии с требованиями ISO 20776-1:2020², категории чувствительности изолятов к АМП — на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК) в соответствии со стандартами EUCAST³ и российскими рекомендациями⁴. Для контроля ка-

¹ WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. URL: <https://who.int/publications/i/item/9789240093461>

² Национальный стандарт ГОСТ Р ИСО 20776:2022. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни).

³ European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 14.0, 2024. URL: www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (дата обращения 01.11.2024).

⁴ Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2024-02. Смоленск; 2024. 192 с.

чества определения чувствительности параллельно с исследуемыми изолятами тестировали референсный штамм *S. pneumoniae* ATCC 49619.

Полногеномное секвенирование проводили на базе ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Пробоподготовку вели по протоколу «Nextera» («Illumina»). Высокопроизводительное секвенирование проводили на приборе «HiSeq 1500» с использованием наборов «HiSeq PE Rapid Cluster Kit v2» и «HiSeq Rapid SBS Kit v2» («Illumina»). Полногеномные нуклеотидные последовательности собирали с использованием программы «SPAdes v. 3.13». Подробное описание методики пробоподготовки для полногеномного секвенирования приведено нами ранее [12].

Полногеномные нуклеотидные последовательности изученных изолятов, данные о серотипах и чувствительности к антибиотикам, а также информация об источниках штаммов внесены в базу PubMLST⁵: идентификационные номера: 51080–51125, 73010–73011, 73013–73015, 73017–73033.

Инвазивные изоляты пневмококков были проанализированы на сигнатуру пенициллинсвязывающих белков (ПСБ), где комбинация 3 сигнатур (PBP1A, PBP2B, PBP2X) определяет уровень резистентности к β-лактамам, были определены глобальные кластеры пневмококковых последовательностей, аллели MLST, серотипы, сиквенс-типы и гены приобретённой резистентности (*mefA*, *ermB*, *tetM*, *folA/P*, *cat*) с использованием инструмента, доступного на Pathogenwatch — глобальной платформе геномного наблюдения⁶. Гены вирулентности идентифицировали с помощью онлайн-программы AMRseq⁷ и программы BacWGSTdb⁸.

Исследование не являлось интервенционным и не предполагало сравнения групп. Для представления результатов использовали методы описательной статистики с определением абсолютного и относительного количества наблюдений.

Результаты

Молекулярно-биологическая характеристика инвазивных изолятов *S. pneumoniae*

Нами выявлено 28 глобальных кластеров пневмококковых последовательностей (GPSC), 45 сиквенс-типов и 27 серотипов (табл. 1).

Анализ полногеномных данных показал, что среди инвазивных изолятов преобладали серотипы, входящие в состав пневмококковой полисахарид-

ной 23-валентной вакцины (ППВ-23) и пневмококковой конъюгированной вакцины 13 (ПКВ-13) — 3 (18%), 19F (9%), 23F (7%) и 15B (6%). Степень охвата ППВ-23 составила 79%, ПКВ-13 — 59%. Частота выделения пневмококков невакцинных се-

Таблица 1. Глобальные кластеры пневмококковых последовательностей, ассоциированные с сиквенс-типами и серотипами

Глобальные кластеры пневмококковых последовательностей	Сиквенс-типы	Серотипы	Количество изолятов, n (%)
1	236	19F	2 (7)
2	15249	1	1 (4)
3	1012	11A	1 (4)
6	3418, 143	6E(6B), 14	2 (7)
7	311, 152248, 16095, 311	23F	4 (14)
10	230	19F	1 (4)
11	1262	15B	2 (7)
12	505, 180, 15251, 15250, 2049	3	12 (43)
13	12493, 473	6A, 6B	2 (7)
16	66, 16098	9N	2 (7)
19	433	22F	2 (7)
32	3244, 11901, 2824, 3544	7F, 8	4 (14)
38	393	38	1 (4)
43	239	9V	3 (11)
44	179	19F	1 (4)
49	440	23F	1 (4)
68	15252, 3187	18C	2 (7)
76	490	6A	1 (4)
98	1480	8	1 (4)
123	447	37	1 (4)
162	2361	4	2 (7)
177	2991	35F	2 (7)
212	6202	12F, 15F	4 (14)
229	1025	15B, 15C	3 (11)
230	2754	13	1 (4)
365	225	28A	2 (7)
376	9247	6E(6B)	1 (4)
904	782	14	1 (4)
Not assigned	15	19F	2 (7)
Not assigned	15247	10C	1 (4)
Not assigned	5205	8	1 (4)
Not assigned	13459	10A	1 (4)
Not assigned	16099	4	1 (4)

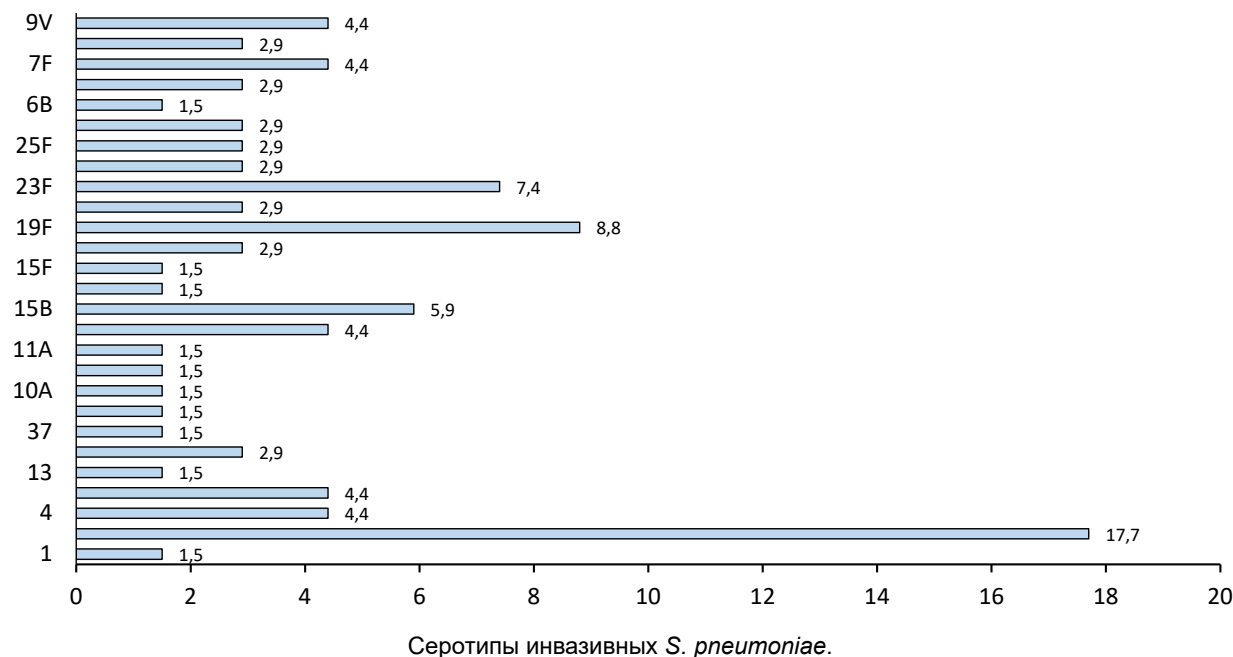
Примечание. Not assigned — не назначен номер глобального кластера пневмококковых последовательностей.

⁵ Streptococcus pneumoniae MLST Databases.
URL: <https://pubmlst.org/spneumoniae/>
(дата обращения: 17.02.2020).

⁶ A Global Platform for Genomic Surveillance.
URL: <https://pathogen.watch>

⁷ AMRseq. URL: <https://amrseq.net/ru/>

⁸ BacWGSTdb. URL: <http://bacdb.cn/BacWGSTdb/index.php>



ротипов при менингите в России: 28A и 35F — по 3%; 13, 37, 38, 10C, 15C и 15F — более 1% (**рисунок**).

Из 28 GPSC 20 GPSC были представлены вакцинными серотипами, 6 GPSC — невакцинными серотипами. Две линии — GPSC212 (12F, 15F) и GPSC229 (15B, 15C) — экспрессировали серотипы как вакцинных, так и невакцинных серотипов. Линия GPSC12 экспрессировала только 3-й вакцинный серотип и составила более 42%. В ряде случаев один и тот же серотип был связан с разными линиями. Второй по частоте встречаемости серотип, 19F, экспрессировался линиями GPSC1, 10, 44 и новой линией, GPSC которой не определён, серотип 23F — GPSC7 и GPSC49, серотип 15B — GPSC11 и GPSC229. Невакцинные серотипы экспрессировались линиями GPSC 365 (серотип 28A), GPSC177 (серотип 35F), GPSC212 (серотип 15F), GPSC229 (серотип 15C), GPSC123 (серотип 37), GPSC38 (серотип 38), GPSC230 (серотип 13).

Чувствительность к антимикробным препаратам инвазивных изолятов *S. pneumoniae*

Анализ чувствительности к АМП показал, что резистентны к пенициллину были 6 (9%) инвазивных изолятов (**табл. 2**), к тетрациклину — 11 (16%), к эритромицину — 5 (7%), к клиндамицину — 2 (3%), к респираторным фторхинолонам — 1 (1%). К триметоприму-сульфаметоксазолу 12 (18%) изолятов были резистентны, 12 (18%) — чувствительны при увеличенной экспозиции. Среди изолятов 28 линий GPSC изоляты 5 линий, экспрессирующие вакцинные серотипы, были резистентны одновременно к 3 и более классам АМП: GPSC1 (серотип 19F), GPSC6 (серотип 14) были резистентны к пенициллину, тетрациклину, три-

метоприму-сульфаметоксазолу, эритромицину и клиндамицину; GPSC10 (серотип 19F), GPSC904;9 (серотип 14) — к пенициллину, тетрациклину и триметоприму-сульфаметоксазолу, GPSC6 (серотип 6E(B)) — к пенициллину, эритромицину и триметоприму-сульфаметоксазолу. Одна линия с вакцинными серотипами была резистентна одновременно к антибиотикам двух классов: GPSC44 (серотип 19F) — к тетрациклину и эритромицину. Две линии, экспрессирующие невакцинные серотипы, — GPSC177 (серотип 35F) и GPSC230 (серотип 13) — были резистентны к тетрациклину и триметоприму-сульфаметоксазолу.

Генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам

У клинических изолятов *S. pneumoniae* резистентность к β-лактамам в первую очередь обусловлена вариациями аминокислотных последовательностей в транспептидазных доменах ПСБ: RBP1a, RBP2b и RBP2x, которые снижают сродство β-лактамов антибиотиков к этим участкам. Тип ПСБ позволяет прогнозировать уровни резистентности к β-лактамам [13]. Анализ результатов полногеномного секвенирования инвазивных изолятов *S. pneumoniae* выявил, что наиболее распространенным типом ПСБ у чувствительных изолятов (RBP1a-RBP2b-RBP2x) был 2-0-2 — 29%, реже встречались 11-4-0 — 4% и 12-0-6 — 3%. Все резистентные к пенициллину изоляты имели сигнатуры: 13-16-47, 17-15-22, 24-53-77, 36-34-44, 31-12-18. Выявлено также несколько комбинаций новых типов ПСБ: new-27-new, 34-11-new. Резистентность к макролидам и линкозамидам (эритромицину и клиндамицину) была обусловлена

Таблица 2. Резистентность пневмококковых линий GPSC к АМП

Пневмококковые линии	Серотип	Количество	Генотип, резистентность, n (%)						
			PEN	TET	TS	CL	ERY	CHL	FX
1	19F	2	2 (3)	2 (3)	2 (3)	1 (1)	2 (3)	0	0
2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
3	11A	1	0	0	1 (1)	0	0	0	0
6	6E(B),14	2	1 (1)	2 (3)	2 (3)	2 (3)	2 (3)	0	0
7	23F	4	0	0	4 (6)	0	0	0	0
10	19F	1	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0	0	0	0
11	15B	2	0	0	2 (3)	0	0	0	0
12	3	12	0	1 (1)	0	0	0	0	1 (1)
13	6A, 6B	2	1 (1)	1 (1)	2 (3)	0	1 (1)	0	0
16	9N	2	0	0	1 (4)	0	0	0	1 (1)
19	22F	2	0	0	0	0	0	0	0
32	7F,8	4	0	0	0	0	0	0	0
38	38	1	0	0	0	0	0	0	0
43	9V	3	0	0	3 (4)	0	0	0	0
44	19F	1	0	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0	0
49	23F	1	0	0	1 (1)	0	0	0	0
68	18C	2	0	0	2 (3)	0	0	0	0
76	6A	1	0	0	1 (1)	0	0	0	0
98	8	1	0	0	0	0	0	0	0
123	37	1	0	0	0	0	0	0	0
162	4	2	0	0	0	0	0	0	0
177	35F	2	0	2 (3)	2 (3)	0	0	0	0
212	12F, 15F	4	0	0	0	0	0	0	0
229	15B, 15C	3	0	0	3 (4)	0	0	0	0
230	13	1	0	1 (1)	1 (1)	0	1 (1)	0	0
365	28A	2	0	0	0	0	0	0	0
376	6E(6B)	1	0	0	1 (1)	0	0	1 (4)	0
904;9	14	1	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0	0	0	0
Not assigned	10C, 19F, 8, 10A, 4	6	0	2 (3)	2 (3)	0	0	0	0
28	27	68	6 (9)	14 (21)	33 (49)	4 (6)	7 (10)	1 (1)	2 (3)

Примечание. PEN — резистентность к пенициллину, предсказанная на основе последовательностей RBP1a, RBP2b и RBP2x; TET — резистентность к тетрациклину, предсказанная по наличию гена *tet M*; TS — резистентность к триметоприму-сульфаметоксазолу, связана с заменой в *folA I100L* и/или вставкой 1 или 2 кодонов в *folP_aa_insert_57-70*; CL — резистентность к клиндамицину, предсказанная по наличию гена *ermB*; ERY — резистентность к макролидам, предсказанная по наличию гена метилазы (*ermB*) и гена насоса оттока макролидов (*mefA/E*); CHL — резистентность к хлорамфениколу, предсказанная по наличию гена хлорамфениколацетилтрансферазы (*cat*); FX — резистентность к фторхинолонам, предсказанная по наличию мутаций в генах *gyrA*, *parC*.

наличием гена метилазы (*ermB*) у 5 (7%) изолятов, у 1 (1%) изолята были одновременно обнаружены гены *ermB* и гены насоса оттока макролидов (*mefA/E*). Резистентность к триметоприму-сульфаметоксазолу была связана с заменой в *folA I100L* и/или вставкой 1 или 2 кодонов *foP*, в то время как у изолятов, относящихся к категории чувствительных при повышенной экспозиции, часто имела место вставка 1 или 2 кодонов в *foP*. Резистентность к хлорамфениколу прогнозировалась по наличию гена хлорамфе-

никацетилтрансферазы (*cat*), резистентность к фторхинолонам — мутациями в генах *gyrA* и *parC*.

Сравнение фенотипа и генотипа резистентности

Конкордантность генотипа и фенотипа резистентности в целом была высокой, однако в некоторых случаях были выявлены несоответствия между генотипической и фенотипической резистентностью.

Резистентность к β-лактамам показала хорошее соответствие. Шесть изолятов пневмококков,

резистентных к пенициллину, имели сигнатуры ПСБ, характерные для резистентных пневмококков. Интересно, что все 6 резистентных к пенициллину изолятов имели сигнатуры PBP1a(13–36)-PBP2b(12–53)-PBP2x(18–77), в то время как все чувствительные изоляты имели сигнатуры ПСБ с низким номером. Таким образом, сигнатуры транспептидазы ПСБ являются надёжными индикаторами МПК различных β -лактамов антибиотиков у клинических изолятов пневмококков и могут служить альтернативой тестированию фенотипической чувствительности.

Все 11 резистентных к тетрациклину пневмококков несли гены *tetM*. Три изолята, содержавшие *tetM*, относились к категории чувствительных, что может быть обусловлено мутациями в *tetM*, не рассмотренными в нашем исследовании.

В случае с триметопримом-сульфаметоксазолом для большинства изолятов была выявлена хорошая корреляция между наличием маркеров резистентности и фенотипической резистентностью. Двенадцать изолятов являлись двойными мутантами с заменой в *folA* I100L и вставкой 1 или 2 кодонов в *folP* *aa insert* 57–70 и были резистентны к триметоприму-сульфаметоксазолу (табл. 2). Двенадцать изолятов пневмококка, содержащие вставки в *folP*, имели МПК 2 мг/л и были отнесены к категории чувствительных при увеличенной экспозиции, а 9 изолятов с одиночными мутациями в *folP* были отнесены к категории чувствительных (МПК $\leq$ 1 мг/л).

Все 5 изолятов, резистентных к эритромицину, несли ген *ermB*, 1 резистентный изолят нёс одновременно *ermB* и *mefA*, в то же время 2 изолята, имевшие ген *mefA*, сохраняли фенотипическую чувствительность к эритромицину. У 2 изолятов, резистентных к клиндамицину, были обнаружены гены *ermB*, но *ermB* был выявлен также у 2 фенотипически чувствительных изолятов.

В связи с тем, что для *S. pneumoniae* отсутствуют критерии для определения категории чувст-

вительности к хлорамфениколу, оценка активности данного препарата проводилась на основании значения эпидемиологических точек отсечения (Epidemiological cut-off value). МПК хлорамфеникола для всех исследованных изолятов составила менее 8 мг/л, что соответствует популяции дикого типа), однако 1 изолят нёс ген *cat*.

Был выявлен 1 изолят, резистентный к респираторным фторхинолонам (левофлоксацину и моксифлоксацину), он имел мутации в генах *gyrA* и *parC*. В то же время среди чувствительных к фторхинолонам пневмококков у 1 изолята была выявлена мутация в гене *parC*.

Генетические детерминанты вирулентности пневмококков

Чтобы получить представление о генетических особенностях, способствующих вирулентности, мы исследовали наличие основных белковых факторов вирулентности пневмококка. У всех инвазивных изолятов пневмококков были обнаружены холинсвязывающие белки (CbpG, LytA и Pse/CbpE), PavA и PfbA, известные как фибронектин- и плазминогенсвязывающие белки, а также гиалуронидаза, пневмолизин, нейраминидаза, связанный с капсулой Cps4A (табл. 3). Цинковая металлопротеиназа C была обнаружена у 9 (13%) изолятов.

Обсуждение

В нашем исследовании среди клинических изолятов, вызывающих менингит в России, преобладали пневмококки серотипа 3. Аналогичная ситуация отмечается и во многих других странах в поствакцинальный период. В Австрии, Англии, Канаде, Швеции и Германии за последние 3 года наблюдался значительный рост инвазивных пневмококковых заболеваний серотипа 3 у взрослых [14]. В Бразилии серотип 3 выступал как преобладающая причина инвазивного заболевания в эпоху после ПКВ среди взрослых [15, 16]. Низкая эффектив-

Таблица 3. Характеристика генов вирулентности

Гены вирулентности	Название кодируемого белка	% гомологии	Количество изолятов	
			n	%
<i>cbpG</i>	Холинсвязывающий белок G	99,30	68	100
<i>lytA</i>	Аутолизин	98,75	68	100
<i>pse/cbpE</i>	Холинсвязывающий белок E	99,18	68	100
<i>ply</i>	Пневмолизин	99,86	68	100
<i>pavA</i>	Фибронектинсвязывающий белок	99,52	68	100
<i>pfbA</i>	Плазмин- и фибронектинсвязывающий белок A	99,72	68	100
<i>hysA</i>	Гиалуронидаза	99,16	68	100
<i>nanA</i>	Нейраминидаза A	98,77	68	100
<i>cps4A</i>	Синтез капсулы	96,54	68	100
<i>zmpC</i>	Цинковая металлопротеиназа C	99,96	9	13

ность конъюгированных вакцин против пневмококков серотипа 3 связана с особенностями строения полисахаридной капсулы, которая нековалентно связана с пептидогликаном клеточной стенки [17–21]. Следует отметить, что изоляты линии GPSC12 (серотип 3), оставаясь основной причиной инвазивных форм пневмококковой инфекции во всём мире после введения ПКВ-13, как правило, сохраняют чувствительность к АМП [22–25]. Низкая частота резистентности к АМП изолятов серотипа 3 может быть связана с высокой инвазивностью изолятов данного серотипа и относительно короткой продолжительностью носительства, что, в свою очередь, снижает воздействие АМП при лечении инфекций другой этиологии [26]. В то же время исследование серотипа 3, проведённое в Англии [27], выявило, что с 2018 г. появляются изоляты линии GPSC12, резистентные к пенициллину, макролидам, хлорамфениколу и тетрациклину [28, 29]. Нарастание резистентности изолятов серотипа 3 указывает на циркуляцию более устойчивых к антибиотикам клонов [30]. В нашем исследовании все изоляты *S. pneumoniae* серотипа 3 были чувствительны к пенициллину, из 12 изолятов, выделенных из ликвора, только 2 содержали гены резистентности к фторхинолонам — *parC* и к тетрациклину — *tetM*, сохраняя при этом фенотипическую чувствительность к данным препаратам.

Вторыми по частоте выделения при менингите были пневмококки серотипа 19F, что может быть обусловлено особенностями капсульного полисахарида, который более устойчив к отложению С3b компонента комплемента и антител на стенке бактерии, что снижает чувствительность к опсонофагоцитозу [31, 32]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что циркуляция серотипа 19F связана с распространением 3 линий: GPSC10, GPSC1 и GPSC44. Все линии характеризовались устойчивостью к различным АМП, причём линии GPSC10 и GPSC1 проявляли множественную антимикробную резистентность. В Канаде доминирование серотипа 19F было связано с распространением линий GPSC1, GPSC4, GPSC9, GPSC10, GPSC18, GPSC44 и GPSC119 [33], в Швеции — линии GPSC1 [34], в Азии, Европе, Северной Америке и Южной Америке серотип 19F был одним из доминирующих в линии GPSC1 [35]. В Южной Африке доминирование серотипа 19F было связано с распространением линий GPSC1 и GPSC21, при этом установлено, что высокая, порядка 50%, внутрибольничная смертность от пневмококкового менингита связана с серотипом 19F [35, 36]. Увеличение частоты встречаемости серотипа 19F после введения ПКВ-13 в Индии было связано с мультирезистентными линиями GPSC1 и GPSC10, при этом особого внимания заслуживает линия GPSC10, которая экспрессировала как вакцинные серотипы,

включая 19F, так и невакцинные серотипы и тем самым вносила наибольший вклад в распространение невакцинных серотипов среди клинических изолятов [37]. Линия GPSC10 способна одновременно экспрессировать широкий спектр серотипов, что облегчает её адаптацию к селективному давлению вакцин. Международный набор данных линии GPSC10 показал, что эта линия экспрессирует 16 серотипов, из которых только 6 включены в ПКВ-13. При этом линия GPSC10 обладает относительно высоким потенциалом развития инвазивных форм инфекции и склонностью вызывать менингит, независимо от серотипа [38]. Было установлено, что для распространения пневмококков линии GPSC10 во Франции потребовалось порядка 3–5 лет, а в Испании, Аргентине и Израиле быстрое изменение состава серотипа этой линии произошло в поствакцинальный период. Таким образом, вместе с его трансмиссивностью GPSC10 следует рассматривать как линию высокого риска, которая со временем может снизить эффективность вакцин во всём мире [39, 40]. Е. Егоровой и соавт. установлено, что в России в 2011–2018 гг. изоляты серотипа 19F принадлежали к 8 различным линиям (GPSC1, GPSC44, GPSC10, GPSC6, GPSC11, GPSC18, GPSC43 и GPSC591), из них линии GPSC1, GPSC6 и GPSC10 характеризовались резистентностью к АМП [41].

По результатам настоящего исследования пневмококки серотипа 23F были третьими по распространённости среди серотипов, ответственных за развитие бактериального менингита в России. Четыре из 5 изолятов серотипа 23F принадлежали линии GPSC7, 1 — линии GPSC49. Все изоляты серотипа 23F характеризовались резистентностью к триметоприму-сульфаметоксазолу. В исследованиях, проведённых в Китае и Иране, серотип 23F был одним из доминирующих серотипов, выделенных у пациентов из ликвора [42, 43]. Результаты исследований, выполненных в Великобритании, показали, что изоляты серотипа 23F входили в линию GPSC7. Если в 2002 г. в этой линии преобладал серотип 23F и было лишь небольшое количество серотипа 23A, то в 2009 г. появились изоляты серотипа 23B [29]. Линия GPSC7 была одной из доминирующих линий, ответственных за инвазивные заболевания в эпоху ПКВ-13 в Гонконге, Израиле, Малави, Южной Африке, Гамбии и США [22].

Результаты международных исследований свидетельствуют о том, что поствакцинальный период характеризуется снижением доли вакцинных серотипов и увеличением невакцинных серотипов пневмококков среди разных возрастных групп населения [44, 45]. В популяции сохраняются линии, представленные вакцинными серотипами, в которых уже присутствовали невакцинные серотипы [15]. Отмечено, что эти невакцинные серотипы обладают высоким потенциалом развития инвазив-

ных форм инфекции [46, 47]. Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что в России более 17% случаев пневмококкового менингита были вызваны пневмококками невакцинных серотипов. Обращает на себя внимание относительно высокая доля изолятов с серотипом 15B (6%) и присутствие изолятов с невакцинными серотипами 28A, 37 и 38, которые ранее не были ассоциированы с пневмококковым менингитом на территории России. Установлено, что уровень резистентности к антибиотикам у невакцинных серотипов ниже, чем у вакцинных, и различается в зависимости от линии GPSC. В нашем исследовании линии, экспрессирующие невакцинные серотипы, были чувствительны ко всем тестируемым АМП, за исключением 2 линий (табл. 2).

В процессе инвазивной инфекции на разных стадиях участвуют различные факторы вирулентности. По результатам нашего исследования классические гены, кодирующие факторы вирулентности, такие как синтез капсулы, пневмококковый поверхностный адгезин, аутолизин, белок, связывающий фибронектин и пневмолизин, были обнаружены у всех инвазивных изолятов. Интересное наблюдение было сделано в отношении гена *zmpC*. Он был выявлен только у 9 инвазивных изолятов пневмококка линий GSPC229 (серотип 15C, 15B), GSPC3 (серотип 11A), GSPC162 (серотип 4), GSPC904 (серотип 14) и новой линии GSPC (серотип 8). Ранее в исследовании в Нидерландах ген *zmpC* выявлен у инвазивных серотипов 8, 11A и 4, принадлежащих к линии GPSC3. Установлено, что случаи инвазивных пневмококковых инфекций, вызванные *zmpC*-положительными пневмококками, чаще сопровождались сепсисом [48]. Японскими учёными высказано предположение о том, что металлопротеаза цинка *zmpC* подавляет вирулентность пневмококков путём ингибирования бактериальной инвазии в центральную нервную систему [49]. Таким образом, металлопротеаза цинка *zmpC* представляет отдельный интерес и требует дополнительных исследований.

Выводы

1. Выявлено 28 глобальных кластеров пневмококковых последовательностей (GPSC), 45 сиквенс-типов *S. pneumoniae*, ассоциированных с инвазивными штаммами, на территории России. Из 68 изолятов *S. pneumoniae*, выделенных у пациентов с бактериальным менингитом, более 17% относились к невакцинным серотипам.

2. Антибиотикорезистентность пневмококков вакцинных серотипов была выше, чем у невакцинных серотипов.

3. Появление линий невакцинных серотипов пневмококка с детерминантами высокой вирулентности, включая устойчивость к антибиотикам, об-

условливает необходимость дальнейших исследований молекулярно-генетической характеристики изолятов, вызывающих менингит.

4. Результаты сопоставления фенотипической и генотипической антимикробной резистентности характеризовались хорошей конкордантностью, что указывает на необходимость дальнейшего изучения возможности использования полногеномного секвенирования в качестве диагностического инструмента для выявления механизмов резистентности у клинических изолятов *S. pneumoniae*.

В заключение следует отметить, что характеристика пневмококковых линий, их генетические вариации, оказывающие влияние на резистентность и инвазивность, являются весьма информативными для создания глобальной стратегии непрерывного эпидемиологического контроля за популяцией пневмококков.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Principi N., Di Cara G., Bizzarri I., et al. Prevention of invasive pneumococcal disease: problems emerged after some years of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine use. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2018;20(1):1. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0607-z>
- Briles D.E., Paton J.C., Mukerji R., et al. Pneumococcal vaccines. *Microbiol. Spectr.* 2019;7(6):10.1128/microbiolspec.gpp3-0028-2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0028-2018>
- Chen H., Matsumoto H., Horita N., et al. Prognostic factors for mortality in invasive pneumococcal disease in adults: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 2021;11(1):11865. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91234-y>
- Ganaie F., Saad J.S., McGee L., 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. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.00937-20>
- Salvadori G., Junges R., Morrison D.A., Petersen F.C. Competence in *Streptococcus pneumoniae* and close commensal relatives: mechanisms and implications. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019;9:94. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00094>
- Протасова И.Н., Бахарева Н.В., Перьянова О.В. и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика и резистентность пневмококков у детей дошкольного возраста. *Сибирское медицинское обозрение.* 2018;(3):73–9. Protasova I.N., Bakhareva N.V., Peryanova O.V., et al. Molecular-epidemiological characteristics and resistance of pneumococcus in children of preschool age. *Siberian Medical Review.* 2018;(3):73–9. DOI: <https://doi.org/10.20333/2500136-2018-3-73-79> EDN: <https://elibrary.ru/xserud>
- Sidorenko S., Rennert W., Lobzin Y., 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):114914. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2019.114914>
- Протасова И.Н., Мартынова Г.П., Ильенкова Н.А. и др. Этиологическая роль и молекулярно-генетические особенности *Streptococcus pneumoniae* при инфекционных заболеваниях у детей. *Детские инфекции.* 2020;19(1):7–12. DOI: <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2020-19-1-7-12> EDN: <https://elibrary.ru/dwibms>

9. Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И. и др. 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):512–8. Mironov K.O., Gaponova I.I., Korchagin V.I., 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. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(5):512–8. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-144> EDN: <https://elibrary.ru/kvjhkk>
10. Vohnrová S., Kozáková J. Possibilities for use of whole genome sequencing (WGS) for the analysis of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.* 2024;73(1):30–6. DOI: <https://doi.org/10.61568/emi/11-6254/20240123/136240> (in Czech)
11. Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В. 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. Ivanchik N.V., Chagaryan A.N., Sukhorukova M.V., et al. Antimicrobial resistance of clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Russia: the results of multicenter epidemiological study «Pehasus 2014–2017». *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(3):230–7. DOI: <https://doi.org/10.36488/cmac.2019.3.230-237> EDN: <https://elibrary.ru/hlaxrl>
12. Миронов К.О., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В. 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. Mironov K.O., Korchagin V.I., Mikhailova Yu.V., et al. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* strains causing invasive infections using whole-genome sequencing. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(2):113–8. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-113-118> EDN: <https://elibrary.ru/lxmqy>
13. Kawaguchiya M., Urushibara N., Aung M.S., et al. Genetic characterization of penicillin-binding proteins of nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae* in the postpneumococcal conjugate vaccine era in Japan. *Int. J. Infect. Dis.* 2022;120:174–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.04.033>
14. Grant L.R., Slack M.P.E., Theilacker C., et al. Distribution of serotypes causing invasive pneumococcal disease in older adults from high-income countries and impact of pediatric and adult vaccination policies. *Vaccine*. 2023;41(38):5662–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.08.001>
15. Brandileone M.C.C., Almeida S.C.G., Minamisava R., Andrade A.L. Distribution of invasive *Streptococcus pneumoniae* serotypes before and 5 years after the introduction of a 10-valent pneumococcal conjugate vaccine in Brazil. *Vaccine*. 2018;36(19):2559–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.04.010>
16. Almeida S.C.G., Cassiolato A.P., Dias U.J., et al. Molecular characterization of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated in pre (2005–2009) and post (2011–2015) 10-valent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Brazil. In: *37th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases*. Ljubljana, Slovenia;2019.
17. Shenoy A.T., Beno S.M., Brissac T., et al. Severity and properties of cardiac damage caused by *Streptococcus pneumoniae* are strain dependent. *PLoS One*. 2018;13(9):e0204032. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204032>
18. Andrews N., Kent A., Amin-Chowdhury Z., et al. Effectiveness of the seven-valent and thirteen-valent pneumococcal conjugate vaccines in England: The indirect cohort design, 2006–2018. *Vaccine*. 2019;37(32):4491–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.06.071>
19. Wijayasri S., Hillier K., Lim G.H., et al. The shifting epidemiology and serotype distribution of invasive pneumococcal disease in Ontario, Canada, 2007–2017. *PLoS One*. 2019;14(12):e0226353. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226353>
20. Goettler D., Streng A., Kemmling D., et al. Increase in *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 associated parapneumonic pleural effusion/empyema after the introduction of PCV13 in Germany. *Vaccine*. 2020;38(3):570–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.10.056>
21. Babb R., Doyle C.R., Pirofski L.A. Isolation and characterization of human monoclonal antibodies to pneumococcal capsular polysaccharide 3. *Microbiol. Spectr.* 2021;9(3):e0144621. DOI: <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01446-21>
22. Lo S.W., Gladstone R.A., van Tonder A.J., et al. Pneumococcal lineages associated with serotype replacement and antibiotic resistance in childhood invasive pneumococcal disease in the post-PCV13 era: an international whole-genome sequencing study. *Lancet Infect. Dis.* 2019;19(7):759–69. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30297-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30297-x)
23. Kandasamy R., Voysey M., Collins S., et al. Persistent circulation of vaccine serotypes and serotype replacement after 5 years of infant immunization with 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in the United Kingdom. *J. Infect. Dis.* 2020;221(8):1361–70. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz178>
24. Løchen A., Croucher N.J., Anderson R.M. Divergent serotype replacement trends and increasing diversity in pneumococcal disease in high-income settings reduce the benefit of expanding vaccine valency. *Sci. Rep.* 2020;10(1):18977. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75691>
25. Kwun M.J., Ion A.V., Cheng H.C., et al. Post-vaccine epidemiology of serotype 3 pneumococci identifies transformation inhibition through prophage-driven alteration of a non-coding RNA. *Genome Med.* 2022;14(1):144. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01147-2>
26. Butić I., Gužvinec M., Jelić M., et al. Serotype distribution and antimicrobial resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates among Croatian adults during a fifteen-year period (2005–2019). *Croat. Med. J.* 2022;63(2):156–65. DOI: <https://doi.org/10.3325/cmj.2022.63.156>
27. Azarian T., Mitchell P.K., Georgieva M., et al. Global emergence and population dynamics of divergent serotype 3 CC180 pneumococci. *PLoS Pathog.* 2018;14(11):e1007438. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007438>
28. Sheppard C.L., Groves N., Andrews N., et al. The genomics of *Streptococcus pneumoniae* carriage isolates from UK children and their household contacts, pre-PCV7 to post-PCV13. *Genes (Basel)*. 2019;10(9):687. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10090687>
29. Groves N., Sheppard C.L., Litt D., et al. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 in England and Wales: a major vaccine evader. *Genes (Basel)*. 2019;10(11):845. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10110845>
30. Suaya J.A., Mendes R.E., Sings R.E., et al. *Streptococcus pneumoniae* serotype distribution and antimicrobial nonsusceptibility trends among adults with pneumonia in the United States, 2009–2017. *J. Infect.* 2020;81(4):557–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.07.035>
31. Sanapala S.R., Seco B.M.S., Baek J.Y., et al. Chimeric oligosaccharide conjugate induces opsonic antibodies against *Streptococcus pneumoniae* serotypes 19A and 19F. *Chem. Sci.* 2020;11(28):7401–7. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0sc02230f>

32. Downs SL., Olwagen CP., Van Der Merwe L., et al. *Streptococcus pneumoniae* and other bacterial nasopharyngeal colonization seven years post-introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in South African children. *Int. J. Infect. Dis.* 2023;134: 45–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.05.016>
33. Golden A.R., Adam H.J., Baxter M., et al. Whole genome characterization of *Streptococcus pneumoniae* from respiratory and blood cultures collected from Canadian hospitals before and after PCV-13 implementation in Canada: Focus on serotypes 22F and 33F from CANWARD 2007–2018. *Vaccine.* 2021;39(39): 5474–83. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.08.061>
34. Yamba Yamba L., Udden F., Fuursted K., et al. Extensive/multidrug-resistant pneumococci detected in clinical respiratory tract samples in Southern Sweden are closely related to international multidrug-resistant lineages. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:824449. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.824449>
35. Gladstone R.A., Lo S.W., Lees J.A., et al. International genomic definition of pneumococcal lineages, to contextualise disease, antibiotic resistance and vaccine impact. *EBioMedicine.* 2019;43:338–46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.04.021>
36. Lekhuleni C., Ndlangisa K., Gladstone R.A., et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccines on invasive pneumococcal disease-causing lineages among South African children. *Nat. Commun.* 2024;15(1):8401. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-52459-3>
37. Nagaraj G., Govindan V., Ganaie F., et al. *Streptococcus pneumoniae* genomic datasets from an Indian population describing pre-vaccine evolutionary epidemiology using a whole genome sequencing approach. *Microb. Genom.* 2021;7(9):000645. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000645>
38. Lo S.W., Gladstone R.A., van Tonder A.J., et al. A mosaic tetracycline resistance gene tet(S/M) detected in an MDR pneumococcal CC230 lineage that underwent capsular switching in South Africa. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020;75(3):512–20. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkz477>
39. Galletti P., Lo SW., Hawkins PA., et al. Population genetic structure, serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in Argentina. *Microb. Genom.* 2021;7(9):000636. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000636>
40. Lo S.W., Mellor K., Cohen R., Alonso A.R. Emergence of a multidrug-resistant and virulent *Streptococcus pneumoniae* lineage mediates serotype replacement after PCV13: an international whole-genome sequencing study. *Lancet Microbe.* 2022;3(10):e735–43. DOI: [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(22\)00158-6](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(22)00158-6)
41. Egorova E., Kumar N., Gladstone R.A., et al. Key features of pneumococcal isolates recovered in Central and Northwestern Russia in 2011–2018 determined through whole-genome sequencing. *Microb. Genom.* 2022;8(9):mgen000851. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000851>
42. Beheshti M., Jabalameli F., Feizabadi M.M., et al. Molecular characterization, antibiotic resistance pattern and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated from clinical samples in Tehran, Iran. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):167. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01855-y>
43. Zhou M., Wang L., Wang Z., et al. Molecular characterization of penicillin-binding protein 2x, 2b and 1a of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive pneumococcal diseases in China: a multicenter study. *Front. Microbiol.* 2022;13:838790. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.838790>
44. Ouldali N., Varon E., Levy C., et al. Invasive pneumococcal disease incidence in children and adults in France during the pneumococcal conjugate vaccine era: an interrupted time-series analysis of data from a 17-year national prospective surveillance study. *Lancet Infect. Dis.* 2021;21(1):137–47. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30165-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30165-1)
45. Andrejko K., Ratnasiri B., Lewnard J.A. Association of pneumococcal serotype with susceptibility to antimicrobial drugs: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2022;75(1):131–40. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab852>
46. Balsells E., Dagan R., Yildirim I., et al. The relative invasive disease potential of *Streptococcus pneumoniae* among children after PCV introduction: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2018;77(5):368–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.06.004>
47. Amin-Chowdhury Z., Collins S., Sheppard C., et al. Characteristics of invasive pneumococcal disease caused by emerging serotypes after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in England: a prospective observational cohort study, 2014–2018. *Clin. Infect. Dis.* 2020;71(8):e235–43. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa043>
48. Hansen C.B., Fuursted K., Valentiner-Branth P., et al. Molecular characterization and epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* serotype 8 in Denmark. *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):421. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06103-w>
49. Yamaguchi M. Investigation of pneumococcal virulence factors in the infection process. *Nihon Saikingaku Zasshi.* 2020;75(2): 173–83. DOI: <https://doi.org/10.3412/jsb.75.173> (in Japanese)

Информация об авторах

Чагарян Аида Нуримановна — канд. биол. наук, н. с. лаб. антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, aida.chagaryan@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9195-8764>

Иванчик Натали Владимировна — канд. мед. наук, с. н. с. лаб. антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, natali.ivanchik@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9392-0732>

Кузьменков Алексей Юрьевич — д-р мед. наук, профессор каф. микробиологии, зам. директора по стратегическим разработкам НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, alexey.kuzmenkov@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9562-2096>

Козлов Роман Сергеевич — д-р мед. наук, профессор, ректор, директор НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ, Смоленск, Россия, roman.kozlov@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8728-1113>

Гапонова Ирина Игоревна — лаборант-исследователь научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, gaponova@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0003-4481-2249>

Information about the authors

Aida N. Chagaryan — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of antibiotic resistance, Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, aida.chagaryan@antibiotic.ru, <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, natali.ivanchik@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9392-0732>

Alexey Yu. Kuzmenkov — D. Sci. (Med.), Professor, Deputy director, Associate Professor, Microbiology department, Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia, alexey.kuzmenkov@antibiotic.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9562-2096>

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

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, gaponova@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0003-4481-2249>

Миронов Константин Олегович — д-р мед. наук, рук. научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов ЦНИИ Эпидемиологии, Москва, Россия, mironov@pcr.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8207-9215>

Участие авторов: *Чагарян А.Н.* — организация сбора и обработки материала, идентификация микроорганизмов фенотипическими методами, определение чувствительности к АМП, написание текста; *Иванчик Н.В.* — организация сбора материала, идентификация микроорганизмов фенотипическими методами, определение чувствительности к АМП; *Кузьменков А.Ю.* — обработка материала; *Козлов Р.С.* — координация исследования, редактирование статьи; *Гапонова И.И.* — проведение полногеномного секвенирования, обработка полученных результатов; *Миронов К.О.* — проведение полногеномного секвенирования, обработка полученных результатов, редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.12.2024;
принята к публикации 17.03.2025;
опубликована 28.04.2025

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>

Author contribution: *Chagaryan A.N.* — organization of material collection and processing, identification of microorganisms by phenotypic methods, determination of sensitivity to AMP, text writing; *Ivanchik N.V.* — organization of material collection, identification of microorganisms by phenotypic methods, determination of sensitivity to AMP; *Kuzmenkov A.Yu.* — material processing; *Kozlov R.S.* — coordination of the study, editing of the article; *Gaponova I.I.* — full genome sequencing, processing of the obtained results; *Mironov K.O.* — full genome sequencing, processing of the obtained results, editing of the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, 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 30.12.2024;
accepted for publication 17.03.2025;
published 28.04.2025