

Профиль чувствительности к бактериофагам назофарингеальных условно-патогенных бактерий у детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями

Ли́ра Табри́совна Бая́зитова^{1,2*}, О́льга Фели́ксовна Тю́пкина¹,
Та́тьяна Алекса́ндровна Ча́зова¹, Ни́кита Серге́евич Ко́ньшев²,
Ки́рилл Никола́евич Сю́зев², Гу́зель Шавха́товна Иса́ева^{1,2}

¹Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии, г. Казань, Россия;

²Казанский государственный медицинский университет,
г. Казань, Россия

Реферат

Цель. Изучение микробиоты и оценка профиля чувствительности к антибиотикам и бактериофагам условно-патогенной микрофлоры носоглотки у детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями.

Методы. Проведено исследование микрофлоры носоглотки 182 детей с пневмококковым носительством, обратившихся за помощью в Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Идентификацию микроорганизмов, оценку чувствительности к антимикробным препаратам и бактериофагам проводили согласно нормативной документации. Выделенные культуры подтверждали с помощью масс-спектрометрии. Для определения титра бактериофага в единице объёма использовали метод Грациа.

Результаты. Пневмококк-ассоциированные таксоны носоглотки представлены *Staphylococcus spp.*, *Moraxella spp.*, *Haemophilus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp* и *Candida spp.* Профиль антибиотикорезистентности *Streptococcus pneumoniae*: устойчивостью к оксациллину обладали 20,7%, к эритромицину — 45,9%, к клиндамицину — 20%, к ко-тримоксазолу (сульфаметоксазолу + триметоприму) — 18,4% изолятов соответственно. Мультирезистентность (резистентность к трём и более антибиотикам) обнаружена у 19,6% изолятов. Доля чувствительных к бактериофагам *S. pneumoniae*: 97,2% изолятов — к стрептококковому бактериофагу, 75% штаммов — к пнобаактериофагу. Все антибиотикорезистентные штаммы были чувствительны к стрептококковому бактериофагу. Титр клебсиеллёзного бактериофага по Грациа в отношении *K. pneumoniae* варьировал от 9×10^{-6} до 5×10^{-5} бляшкообразующих единиц/мл. Результаты ранжирования антистафилококковой активности химиопрепаратов по мере снижения эффективности: фузидиевая кислота > мупироцин > хлорамфеникол > ципрофлоксацин > эритромицин.

Вывод. Микробиоценоз носоглотки детей-носителей пневмококков представлен вариабельной полимикробной ассоциацией, носоглоточные штаммы эффективно лизируются бактериофагами; моно- и поливалентные бактериофаги можно применять в качестве альтернативы антибактериальному лечению у детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями.

Ключевые слова: микробиоценоз, пневмококковое носительство, рекуррентные респираторные инфекции, антибиотикорезистентность, бактериофаги.

Для цитирования: Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А. и др. Профиль чувствительности к бактериофагам назофарингеальных условно-патогенных бактерий у детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями *Казанский мед. ж.* 2020; 101 (3): 330–336. DOI: 10.17816/KMJ2020-330.

Phage sensitivity profiles of a nasopharyngeal opportunistic pathogen in *Streptococcus pneumoniae* carrier children with recurrent respiratory infections

L.T. Bayazitova^{1,2}, O.F. Tupkina¹, T.A. Chazova¹, N.S. Konyshev², K.N. Syuzhev², G.Sh. Isaeva^{1,2}

¹Kazan Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia;

²Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Abstract

Aim. To study the nature of microbiota and estimating the susceptibility to antibiotics and bacteriophages of conditionally pathogenic microflora of the nasopharynx in children-pneumococcal carriers with recurrent respiratory infections.

Methods. Researching microflora was conducted in 182 pneumococcal carriers receiving help in Kazan Scientific and Research Institute of Epidemiology and Microbiology. Microbial identification, testing of susceptibility to antibiotics and bacteriophages was carried out following the regulatory documentation. Bacterial isolates were confirmed by mass spectrometry. The phage titer was determined by the method of agar layers according to Grazia.

Results. Nasopharyngeal *S. pneumoniae* species was presented by *Staphylococcus spp.*, *Moraxella spp.*, *Haemophilus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp* and *Candida spp.* The antimicrobial resistance profiles of *Streptococcus pneumoniae*: resistant to oxacillin was detected in 20.7% of strains, to erythromycin in 45.9%, to clindamycin in 20%, to trimethoprim-sulfamethoxazole in 18.4%. 19.6% of isolates were multidrug-resistant (MDR, resistant to 3 or more antimicrobial agents). Phage susceptibility test of *S. pneumoniae* showed that 97.2% of isolates were resistant to streptococcal bacteriophage, 75% to pyobacteriophage. All antibiotic-resistant strains remained susceptible to *Streptococcus* phages. The phage titer of *Klebsiella* in agreement with Grazia method of *Kl. pneumoniae* ranged from 9×10^{-6} to 5×10^{-5} PFU/mL. The ranking results of activities of antistaphylococcal antibiotics (effectiveness descending): fusidic acid > mupirocin > chloramphenicol > cyprofloxacin erythromycin.

Conclusion. Nasopharyngeal microbiota of pneumococci carriers children is represented by a variable polymicrobial association; nasopharyngeal strains are effectively lysed by bacteriophages; mono- and polyvalent bacteriophages can be used as an alternative to antibacterial treatment in *Streptococcus pneumoniae* carriers children with recurrent respiratory infections.

Keywords: nasopharynx microbiocenosis, pneumococcal carriage, recurrent respiratory infections, antibiotic resistance, bacteriophages.

For citation: Bayazitova L.T., Tupkina O.F., Chazova T.A. et al. Phage sensitivity profiles of a nasopharyngeal opportunistic pathogen in *Streptococcus pneumoniae* carrier children with recurrent respiratory infections. *Kazan medical journal*. 2020; 101 (3): 330–336. DOI: 10.17816/KMJ2020-330.

Актуальность. Микробиоценоз верхних дыхательных путей как составная часть микробиоты макроорганизма активно участвует в обучении иммунокомпетентных клеток антиинфекционной защите, а также в формировании патологического процесса [1]. При контаминации слизистой оболочки условно-патогенной и патогенной микрофлорой, распознаваемой PRRs-рецепторами, активируются резидентные макрофаги, НК-клетки и дендритные клетки. Синтез провоспалительных цитокинов приводит к миграции в очаг воспаления нейтрофилов, моноцитов, а также других клеток врождённого иммунитета с последующей активацией их эффекторных механизмов элиминации патогена (фагоцитоза, кислород-зависимых механизмов киллинга) [2].

Клетки врождённого иммунитета дополнительно стимулируются молекулами DAMP, накапливающимися в очаге воспаления в результате повреждения клеток [3]. Более того, клетки эпителия также способны участвовать

в защите от патогенов секрецией антимикробных полипептидов (дефензинов, анионных и катионных пептидов и т.д.), дестабилизирующих мембраны чужеродных организмов [4].

Приобретённый иммунитет отвечает за формирование мукозального барьера путём секреции иммуноглобулинов типа IgA. Именно IgA доминирует в слизистых оболочках, обладает специфичностью для конкретного патогена. Синтез IgA происходит с помощью дендритных клеток, которые отбирают в основном бактерии, адгезированные на эпителии, и взаимодействуют с В- и Т-клетками лимфоаденоидного глоточного кольца, регионарных лимфатических узлов.

Однако не все микроорганизмы подвергаются элиминации клетками иммунной системы: некоторые из них вступают с системой иммунитета в синергические отношения с развитием толерантности. Хотя иммунологическая толерантность к комменсалам, вероятно, достигается с помощью множественных механизмов, за

последние несколько лет регуляторные Т-клетки Foxp3⁺ заняли центральное место в нашем понимании этого процесса. Комменсалы способствуют индукции регуляторных Т-клеток посредством прямого восприятия микробных продуктов или метаболитов Т-клетками или дендритными клетками, что в свою очередь предотвращает избыточную реакцию иммунной системы и развития воспаления [5].

К сожалению, нельзя спрогнозировать, когда тот или иной комменсальный микроорганизм преодолет толерантность иммунной системы и начнёт проявлять патогенные свойства, так как микробиота носоглотки представляет собой чрезвычайно динамичную систему, в которой микроорганизмы находятся в состоянии непрерывного взаимодействия с иммунной системой макроорганизма и другими микроорганизмами, колонизирующими этот биотоп, — *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus aureus*, spp. *Prevotella*, spp. *Veillonella* и т.д. [6].

У детей дошкольного возраста, страдающих рекуррентными респираторными инфекциями, нередко происходит совместная колонизация условно-патогенными и патогенными микроорганизмами в составе микробиома носоглотки [7]. *S. pneumoniae* — один из ключевых факторов в развитии мукозальных респираторных и инвазивных инфекций [8]. Носительство *S. pneumoniae* бывает характерной чертой часто болеющих детей. Наиболее часто отмечают совместную колонизацию *S. pneumoniae* с *S. aureus*, *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis* и *Klebsiella pneumoniae*. Одновременная колонизация несколькими возбудителями приводит к суммированию вирулентного потенциала, что увеличивает риск развития повторных респираторных инфекций у детей. Более того, частое применение антибиотиков провоцирует формирование резистентных к антимикробным препаратам штаммов.

Вакцинация — не только наиболее эффективная мера для снижения заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями, но и важный инструмент, позволяющий снизить уровень антибиотикорезистентности пневмококков в связи с тем фактом, что наиболее устойчивы к химиопрепаратам вакцинные серотипы [9, 10].

Одним из возможных методов эрадикации носительства патогенной и условно-патогенной микрофлоры, в частности *S. pneumoniae*, служит применение вирулентных бактериофагов с широким спектром литической активности. Выбор бактериофагов должен быть основан

на определении чувствительности к ним возбудителя *in vitro*. Бактериофаги, применяемые для фаготерапии и фагопрофилактики, выпускаемые различными производителями, различаются по составу фагового коктейля. Для повышения результативности проводят периодическую смену фагов в препаратах.

Важное условие эффективности применения фаговых препаратов — совпадение серии препарата, тестируемого в лаборатории, с серией назначаемого пациенту препарата. Следует также помнить о выработке штамм-специфического антифагового иммунного ответа при повторном применении бактериофагов.

Цель исследования — изучение характера микробиоты и оценка профиля чувствительности к антибиотикам и бактериофагам условно-патогенной микрофлоры носоглотки у детей-носителей *S. pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Казанского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии (протокол №2 от 09.09.2019).

Материал и методы исследования. Исследование микрофлоры носоглотки проведено у 182 детей с рекуррентными респираторными инфекциями, обратившихся за консультативной медицинской помощью в Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, у которых ранее был установлен факт носительства *S. pneumoniae*. Распределение по возрасту было следующим: до 2 лет — 96 детей, 3–4 лет — 47 человек, 5–7 лет — 39 детей.

Посев биоматериала производили на агар (Columbia, Bio-Rad, США) с добавлением 3% эритроцитарной массы, маннит-солевой желточный агар, шоколадный агар, содержащий 10 мкг/мл никотинамидадениндинуклеотида, который добавляли в питательную среду, предварительно охлаждённую до 50–60 °С, Эндо, Сабуро. Идентификацию микроорганизмов проводили согласно нормативной документации [11]. Выделенные культуры подтверждали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Оценку профиля чувствительности к антимикробным препаратам и интерпретацию результатов проводили согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» EUCAST (2018).

Определение чувствительности к бактериофагам осуществляли скрининговым методом (спот-тестом). В исследование включены бак-

териофаги производства НПО «Микроген»: бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (г. Уфа) и пиобактериофаг поливалентный «Секстафаг» (г. Пермь). Для определения титра бактериофага в единице объема использовали метод Грациа (подсчёт количества образующихся негативных пятен — БОЕ/мл¹).

Результаты. Изучение носоглоточной микрофлоры детей дошкольного возраста с рекуррентными респираторными инфекциями показало, что *Streptococcus pneumoniae* выделялся в 28,5% случаев в монокультуре в высокой степени колонизации (10^4 – 10^6 КОЕ/мл²). В качестве пневмококк-ассоциированного таксона регистрировался *Staphylococcus aureus*, который преобладал у детей старше 5 лет (46,1%) с высокой степенью колонизации (10^5 – 10^6 КОЕ/мл). В составе ассоциации также высевались *Moraxella catarrhalis* (39,3%) и *Hemophilus influenzae* (36,8%), реже присутствовала совместная колонизация с *Moraxella nonliquefaciens* (23%) и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (21,2%). Были выявлены бактериальные ассоциации *S. pneumoniae* с другими патогенами: *K. pneumoniae* (9,3%) и грибами рода *Candida* (5,5%).

Микробиологический пейзаж слизистых оболочек детей, свободных от носительства *S. pneumoniae*, был представлен в основном коагулазонегативными стафилококками (*S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*).

Для оценки видового разнообразия с учётом наиболее значимых и редких видов бактерий использовали индекс Шеннона — индекс разнообразия (1,7), который показал увеличение роли транзитной микрофлоры — грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*

Скрининг чувствительности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам показал следующие результаты: устойчивостью к оксациллину обладали 20,7% штаммов (n=48), к эритромицину и клиндамицину — 45,9% (n=113) и 20% (n=48) соответственно. Фенотипическая устойчивость к ко-тримоксазолу (сульфаметоксазолу + триметоприму) выявлена у 18,4% (n=45) штаммов. Данные исследования показали, что мультирезистентность штаммов (резистентность к трём и более антибиотикам) обнаружена у 48 (19,6%) изолятов. Резистентностью к трём группам антимикробных препаратов (оксациллин + эритромицин + ко-тримоксазол) обладали 14 штаммов. Количество мультирези-

стентных изолятов к комбинации оксациллин + эритромицин + клиндамицин составило 34.

Исследование чувствительности выделенных культур *S. pneumoniae* к бактериофагам показало, что 97,2% штаммов были чувствительными к стрептококковому бактериофагу, 75% штаммов — к пиобактериофагу, причём у всех антибиотикорезистентных штаммов сохранялась чувствительность к стрептококковому бактериофагу. Как известно, стрептококковый бактериофаг обладает способностью специфически лизировать бактерии *Streptococcus*, а пиобактериофаг вызывает специфический лизис следующих бактерий: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, энтеропатогенных *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*. Оба эти препарата можно применять в составе комплексной терапии при лечении заболеваний уха, горла, носа, верхних дыхательных путей и лёгких.

Также не исключена роль назофарингеального носительства *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* совместно с *Streptococcus pneumoniae* в развитии рекуррентных инфекций респираторного тракта. *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* относятся к ESKAPE-патогенам, обладающим по сравнению с другими представителями микрофлоры верхних дыхательных путей выраженной склонностью к формированию резистентности, что особенно неблагоприятно для детей, регулярно получающих антимикробную терапию на фоне частых респираторных инфекций.

С учётом данной гипотезы была оценена антибиотико- и фагочувствительность к наиболее часто используемым препаратам с антибактериальным действием. Оценка профиля резистентности назофарингеальных штаммов *Klebsiella pneumoniae* (n=23) показала, что наиболее активными антиклебсиеллёзными препаратами служат фуразолидон и гентамицин (84,8% чувствительных изолятов). Доля чувствительных к ципрофлоксацину изолятов составила 78,3%, к цефтриаксону и цефиксиму — по 78,3% культур, к хлорамфениколу — 71,7%, к тетрациклину — 69,6% штаммов. Количество полирезистентных штаммов составило 14% (n=9).

Определение литической активности бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae* с использованием спот-теста: к бактериофагу клебсиелл поливалентному очищенному чувствительны 39,1%, к пиобактериофагу поливалентному «Секстафаг» — 45,7% изолятов.

Для количественной оценки литической активности бактериофагов в отношении культур,

¹БОЕ — бляшкообразующие единицы.

²КОЕ — колониобразующие единицы.

Таблица 1. Литическая активность клебсиеллёзного фага в отношении назофарингеальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

Номер штамма	Возбудитель	Спот-тест	Бактериофаг клебсиеллы поливалентный очищенный	
			Титр по Грациа, БОЕ/мл (по разведениям)	
269	<i>K. pneumoniae</i>	++	47×10^{-5}	3×10^{-6}
135	<i>K. pneumoniae</i>	++	67×10^{-5}	7×10^{-6}
145	<i>K. pneumoniae</i>	+	5×10^{-5}	1×10^{-6}
151	<i>K. pneumoniae</i>	+/-	5×10^{-5}	0×10^{-6}
285	<i>K. pneumoniae</i>	+	46×10^{-5}	4×10^{-6}
282	<i>K. pneumoniae</i>	++	94×10^{-5}	9×10^{-6}
347	<i>K. pneumoniae</i>	++	87×10^{-5}	9×10^{-6}
621	<i>K. pneumoniae</i>	+	18×10^{-5}	1×10^{-6}

**Рис. 1.** Количество негативных колоний в 1 мл бактериофага при различных разведениях

к которым была выявлена умеренная чувствительность (++) , использовали метод Грациа (n=8). Данный метод позволяет регистрировать количество негативных колоний (стерильных пятен), образовавшихся в агаризованной питательной среде в результате инкубирования взвеси бактериофага при его культивировании с тестируемыми изолятами. Учитывали результаты путём подсчёта БОЕ, засеянных наиболее высокими разведениями (рис. 1).

При обнаружении на секторе чашки негативных колоний культуру оценивают как чувствительную. Получены следующие результаты: на фоне равномерного роста *Klebsiella pneumoniae* видны зоны полного отсутствия роста (полный лизис). Каждая бляшка образовалась в результате действия одной частицы фага. Титр испытуемого бактериофага (количество активных частиц фага) варьировал от 9×10^{-6} до 5×10^{-5} БОЕ/мл (табл. 1).

Определение профиля резистентности к антимикробным препаратам назофарингеальных штаммов *Staphylococcus aureus* (n=113) показало следующие результаты: все штаммы были чувствительны к фузидиевой кислоте, чувствительность к мупироцину составила

75,2%. К хлорамфениколу были чувствительны 71,6% штаммов, к фторхинолонам (ципрофлоксацину) — 64,6%, к макролидам (эритромицину) — 61,6% изолятов *Staphylococcus aureus*. Результаты ранжирования антистафилококковой активности химиопрепаратов в отношении назофарингеальных *Staphylococcus aureus* по мере снижения эффективности: фузидиевая кислота > мупироцин > хлорамфеникол > цiproфлоксацин > эритромицин.

Фаговые препараты проявили достаточно высокую антибактериальную активность: стафилококковый бактериофаг оказывал литическое действие в отношении 71,6% изолятов, пиобактериофаг — в отношении 63,7% испытуемых культур золотистого стафилококка. Необходимо отметить, что бактериофаги лизировали и штаммы *Staphylococcus aureus* с множественной устойчивостью к антимикробным препаратам.

Обсуждение. Таким образом, микробиоценоз носоглотки детей-носителей пневмококков представлен варибельным многокомпонентным сообществом условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Анализ носительства патогенов, обладающих инвазивными свойствами, необходим для разработки методов профи-

лактики заболеваний респираторного тракта с учётом ассоциативного характера назофарингеальной микробиоты. Результаты исследования свидетельствуют, что штаммы условно-патогенных бактерий, колонизирующие носоглотку детей с рекуррентными рецидивирующими инфекциями, достаточно эффективно лизируются бактериофаговыми препаратами, следовательно, бактериофаги можно применять в качестве альтернативных антибактериальных препаратов для фаготерапии и фагопрофилактики. Преимущество комбинированного применения химиопрепаратов и бактериофагов заключается в том, что бактерии не имеют общих механизмов устойчивости к антимикробным средствам и бактериофагам, поэтому их можно использовать для успешной эрадикации антибиотикорезистентных патогенов.

Исследования, направленные на изучение назофарингеального носительства указанных возбудителей и их взаимосвязь, позволят в каждом конкретном случае провести целенаправленную профилактику и лечение инфекционных процессов с учётом региональных особенностей, в частности вызванных ассоциациями и монокультурами бактерий.

ВЫВОДЫ

1. Микробиоценоз носоглотки детей-носителей пневмококков представлен вариабельной полимикробной ассоциацией.

2. Носоглоточные штаммы эффективно лизируются бактериофагами. Моно- и поливалентные бактериофаги можно применять в качестве альтернативы антибактериальному лечению у детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* с рекуррентными респираторными инфекциями.

3. Необходимо проведение мониторинга устойчивости назофарингеальных бактерий к бактериофагам с целью актуализации фагового состава.

Участие авторов. Л.Т.Б. — руководитель работы, участвовала в сборе материала, анализировала данные; О.Ф.Т. участвовала в сборе материала, проводила исследования; Т.А.Ч. участвовала в сборе материала, проводила исследования; Н.С.К. проводил исследования; К.Н.С. проводил исследования; Г.Ш.И. анализировала данные.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания №АААА-А16-116041110143-3, выполняемой в соответствии с отраслевой научно-исследовательской программой Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и бла-

гополучия человека «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» (на 2016–2020 гг.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. García-Rodríguez J.A., Fresnadillo Martínez M.J. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002; 50 (suppl. S2): 59–73. DOI: 10.1093/jac/dkf506.

2. Pericone C.D., Overweg K., Hermans P.W.M., Jeffrey N. Weiser inhibitory and bactericidal effects of hydrogen peroxide production by *Streptococcus pneumoniae* on other inhabitants of the upper respiratory tract. *Infection and Immunity.* 2000; 68 (7) 3990–3997. DOI: 10.1128/IAI.68.7.3990-3997.2000.

3. Dunne E.M., Murad C., Sudigdoadi S. et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* in Indonesian children: A cross-sectional study. *PLoS One.* 2018; 13 (4): e0195098. DOI: 10.1371/journal.pone.0195098.

4. Andrade D.C., Borges I.C., Bouzas M.L. et al. Antibody responses against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in children with acute respiratory infection with or without nasopharyngeal bacterial carriage. *Infect. Dis. (Lond.)*. 2018; 50 (9): 705–713. DOI: 10.1080/23744235.2018.1463451.

5. Camelo-Castillo A., Henares D., Brotons P. et al. Nasopharyngeal microbiota in children with invasive pneumococcal disease: Identification of bacteria with potential disease-promoting and protective effects. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 11. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00011.

6. Dunne E.M., Smith-Vaughan H.C., Robins-Browne R.M. et al. Nasopharyngeal microbial interactions in the era of pneumococcal conjugate vaccination. *Vaccine.* 2013; 31 (19): 2333–2342. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.03.024.

7. Валиева Р.И., Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф. и др. Микробиота носоглотки у детей-носителей *S. pneumoniae* с частыми респираторными инфекциями. Сборник научных трудов «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения» Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 100-летию ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (11–12 сентября 2019 г., г. Нижний Новгород). 2019; 257–259. [Valiyeva R.I., Bayazitova L.T., Tyupkina O.F. et al. Nasopharynx microbiota at children carriers of *S. pneumoniae* with frequent respiratory infections. In «Nauchnoe obespechenie protivoepidemicheskoy zashchity naseleniya: aktual'nye problemy i resheniya» Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoy 100-letiyu FBUN NNIEM im. akademika I.N. Blokhinoy Rospotrebnadzora (11–12 sentyabrya 2019, Nizhniy Novgorod). 2019; 257–259. (In Russ.)]

8. Cherazard R., Epstein M., Doan T.L. et al. Antimicrobial resistant *Streptococcus pneumoniae*: Prevalence, mechanisms, and clinical implications. *Am. J. Therap.* 2017; 24: 361–369. DOI: 10.1097/ MJT.0000000000000551.

9. Hackel M., Lascols C., Bouchillon S. et al. Serotype prevalence and antibiotic resistance in *Streptococcus pneu-*

moniae clinical isolates among global populations. *Vaccine*. 2013; 31: 4881–4887. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.07.054.

10. Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А. и др. Внебольничные пневмонии пневмококковой природы и микробиологические аспекты назофарингеального носительства *Streptococcus pneumoniae* у детей в Республике Татарстан. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7 (3): 271–278. [Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A. et al. Community-acquired pneumonia pneumococcal etiology and microbiological aspects of nasopharyngeal carriage in children in the Republic of Tatarstan. *Russian*

journal of infection and immunity. 2017; 7 (3): 271–278. (In Russ.)] DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-271-278.

11. МР 4.2.0114-16. *Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии*. М. 2017. <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293743/4293743035.htm> (дата обращения: 02.04.2020). [МР 4.2.0114-16. *Laboratornaya diagnostika vnebol'nichnoy pnevmonii pnevmokokkovoy etiologii*. (Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia.) М. 2017. <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293743/4293743035.htm> (access date: 02.04.2020). (In Russ.)]