

УДК: 616.98:579.86-053.4-058:614.4-031:[616.211:616.321]-022.7-022.36

Л.І. Чернишова<sup>1</sup>, А.М. Гільфанова<sup>1</sup>, А.В. Бондаренко<sup>1</sup>,  
С.А. Якимович<sup>1,2</sup>, О.В. Рабош<sup>2</sup>, В.В. Яновська<sup>3</sup>, Т.Г. Глушкевич<sup>3</sup>

## Розподіл серотипів *Streptococcus pneumoniae* при назофарингеальному носійстві у здорових дітей віком від 6 місяців до 5 років в Україні

<sup>1</sup>Кафедра дитячих інфекційних хвороб та дитячої імунології НМАПО імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна<sup>2</sup>Київська міська дитяча клінічна лікарня №1, Україна<sup>3</sup>Бактеріологічна лабораторія ДЗ «Український центр контролю та моніторингу захворювань МОЗ України», м. Київ, Україна

**Мета:** вивчення рівня назофарингеального носійства пневмокока у дітей віком від 6 місяців до 5 років в Україні, розподілу серотипів *S. pneumoniae*, у тому числі за віком, його чутливості до антимікробних препаратів та можливий вплив ранньої соціальної активності на частоту носійства та розподіл серотипів.

**Матеріали і методи.** Обстежено 1000 здорових дітей віком від 6 місяців до 4 років 11 місяців 30 днів. Зразки слизу з носоглотки брались одноразово методом глибокого трансназального мазка. Для ідентифікації *S. pneumoniae* використовувались класичні бактеріологічні методи та ПЛР у реальному часі. Серотипування проводилось за допомогою мультиплексної ПЛР до серотипів: 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Чутливість до антимікробних препаратів визначалась диско-дифузійним методом.

**Результати.** Загальна частота носійства пневмокока серед дітей віком від 6 місяців до 5 років становить 50,4%: у «домашніх» дітей — 37,3%, у дітей, що відвідують дошкільні навчальні заклади з денним перебуванням, — 60,9%, у дітей із закладів з цілодобовим перебуванням — 95,6%. Соціальна активність сибсів має істотне значення для дітей, що не відвідують дошкільні навчальні заклади. Серед виділених штамів пневмокока 88,9% належать до капсульних, з яких ідентифіковано 14 різних серотипів: 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Домінують серотипи 19F (26,1%), 6A/B (18,2%), 14 (11,4%) і 23F (5,7%). Резистентність до антимікробних препаратів: оксациліну — 38%, еритроміцину — 32%, азитроміцину — 14%, ципрофлоксацину — 52%, левофлоксацину — 13%, хлорамфеніколу — 9%, ко-тримоксазолу — 55%. Близько третини (34%) штамів пневмокока є мультирезистентними.

**Висновки.** Носозлотка кожної другої здорової дитини від 6 місяців до 5 років колонізована пневмококом. Соціальна активність дітей та їхніх сибсів істотно впливає на рівень назофарингеального носійства пневмокока. Штами пневмококів, виділених з носоглотки, відзначаються високою резистентністю до антимікробних препаратів. В Україні ще до впровадження вакцинації пневмококовими кон'югованими вакцинами зустрічається серотип 19A, що має високий потенціал розвитку резистентності до антибіотиків.

**Ключові слова:** пневмокок, діти, назофарингеальне носійство, резистентність до антимікробних препаратів, серотип.

### Вступ

*Streptococcus pneumoniae* є однією з головних причин таких інвазивних захворювань, як пневмонія, гнійний менінгіт, бактеріємія, а також гострого середнього отиту, синуситу та інших захворювань різної локалізації у всіх вікових групах по всьому світі (Dagan, 2009; T. Farha, A.H. Thomson, 2005; CDC, 2010). Першим кроком у розвитку бактеріального захворювання є назофарингеальне носійство, і пневмококова інфекція практично не виникне без попередньої колонізації носоглотки збудником (Taketo Otsuka, 2013). Крім того, носійство пневмокока вважається важливим джерелом горизонтального поширення цього збудника в суспільстві, що передається здебільшого повітряно-краплинним шляхом (ВООЗ, 2012). Висока частота пневмококової колонізації, що коливається в межах від 27% у розвинених країнах до 85% у країнах, що розвиваються, і високий індекс скупченості притаманні маленьким дітям. Ця група вважається основним резервуаром та найбільш важливим вектором для горизонтального розповсюдження пневмококів у суспільстві (G. Tzanakaki, 2007; G.J. Tugrell et al., 2009; J.M. Stančil, 2009; C. Soley, 2009; A. Kadioglu, 2008; ВООЗ, 2012).

*S. pneumoniae* — це грампозитивний диплокок, що має полісахаридну капсулу, яка є основою для серотипування. На даний час ідентифіковано 93 окремі серотипи. Різні серотипи *S. pneumoniae* мають різні можливості для спри-

чинення хвороби (I.H. Park, 2007; K.L. Sleeman, 2006). Серотиповий розподіл при носоглотковому носійстві варіює залежно від країни, вікової групи, походження, типу когорти (A.V. Brueggemann, 2004). Найбільш розповсюдженими в глобальному масштабі серотипами є 1, 5, 6A, 6B, 14, 19F та 23F, що відповідальні за більшість інвазивних пневмококових захворювань у всіх регіонах (Jonathan Cohen, 2010). Деякі серотипи, такі як 6B, 9V, 14, 19A, 19F та 23F, з більшою ймовірністю, ніж інші, пов'язані зі стійкістю до ліків (ВООЗ, 2012).

Імунізація є найбільш надійним та ефективним засобом профілактики. Вакцини для попередження пневмококової інфекції використовуються понад 30 років (ВООЗ, 2012). На сьогодні існує два типи вакцин проти пневмококової інфекції: 1) полісахаридні некон'юговані вакцини; 2) полісахаридні кон'юговані вакцини (ПКВ). У нашій країні відсутня універсальна вакцинація пневмококовою вакциною, хоча вакцини доступні на приватному ринку. ВООЗ рекомендує включення ПКВ у програми імунізації дітей у всьому світі, особливо в країнах з високою дитячою смертністю. Сучасні ПКВ забезпечують додаткові можливості управління пневмококовими захворюваннями.

На сьогодні в Україні існують обмежені дані щодо поширеності носійства, а дані про розподіл серотипів пневмокока в дитячій популяції відсутні.

**Метою** дослідження стало вивчення рівня назофарингеального носійства пневмокока у дітей віком від 6 місяців до 5 років в Україні, розподілу серотипів *S. pneumoniae*, у тому числі за віком, його чутливості до антимікробних препаратів та можливий вплив ранньої соціальної активності на частоту носійства та розподіл серотипів.

### Матеріал і методи дослідження

**Дизайн дослідження.** Для досягнення поставленої мети обстежено 1000 дітей, які відповідали наступним критеріям включення: вік від 6 місяців до 4 років 11 місяців 30 днів (або 60 місяців) на день скринінгу; були здоровими, тобто не мали на момент обстеження ознак гострого респіраторного захворювання та/або інших гострих захворювань (станів) та/або загострення хронічного захворювання (хвороби); за оцінками дослідника, не знаходились в інкубаційному періоді гострих інфекційних захворювань; батьки або законний представник підписали «Форму інформованої згоди» на участь у дослідженні їхньої дитини. Критеріями виключення були: симптоми гострої респіраторної інфекції, інші інфекції, які можуть призвести до появи лихоманки, лікування антибіотиками впродовж місяця до включення в дослідження, історія вакцинації будь-якою пневмококовою вакциною, відмова батьків або законного представника від участі дитини у дослідженні або відмова підписати «Форму інформованої згоди».

Під спостереженням знаходились 471 дівчинка та 529 хлопчиків. За віком діти розподілились наступним чином: від 6 до 12 місяців – 195 дітей, 13–24 місяці – 200, 25–36 місяців – 200, 37–48 місяців – 201, 49–60 місяців – 204 дитини.

Медіана віку становила 30 місяців, причому вік 50% дітей знаходився у проміжку від 13 до 46 місяців (Q1 і Q3).

Клінічні дослідження проводились у період з березня 2013 по березень 2014 року на базі трьох дитячих поліклінік м. Києва, восьми дошкільних навчальних закладів м. Києва та Київської області, у трьох з яких можливе цілодобове перебування дітей.

Протокол дослідження пройшов етичну експертизу та отримав схвальний висновок. Дослідження проводилося відповідно до усіх вимог Належної клінічної практики (GCP) та з особливою увагою до вимог конфіденційності.

У кожній залученій у дослідження дитини збирались паспортні дані, дані анамнезу (факт доношеності, алергологічний, спадковий, епідеміологічний та вакцинальний анамнези, перенесені захворювання/операції, наявні хронічні захворювання, інформація про грудне вигодовування та особливості розвитку дитини), уточнювались дані про захворювання, які, ймовірно, міг викликати пневмокок (гострий середній отит, пневмонія, бактеріальний менінгіт, сепсис), з'ясувались санітарно-гігієнічні умови проживання, соціальна активність дитини, демографічні характеристики та небезпечна поведінка членів сім'ї (куріння). Обстеження дітей проводилось за загальноприйнятою методикою клінічного дослідження, що включало з'ясування скарг, збір анамнезу, об'єктивне фізикальне обстеження з використанням огляду, пальпації, перкусії, аускультатії за всіма органами та системами, термо- та антропометрію.

**Забір матеріалу для мікробіологічного дослідження.** Зразки слизу з носоглотки у всіх дітей бралися протягом одного скринінгового візиту навченим педіатром або педіатричною медичною сестрою методом глибокого трансназального мазка за допомогою гнучкого стерильного тампона, який негайно занурювався в рідке транспорт-

не середовище Еймса (ESwab COPAN E484, Італія), або двох стерильних ватних тампонів на тонкій алюмінієвій основі, один з яких (для бактеріологічного дослідження) поміщався у транспортне середовище Еймса (NUOVA ARTASA, Італія), а інший (для ПЛР-дослідження) – у транспортне середовище для зберігання та транспортування респіраторних мазків (АмпліСенс®, ФДУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду, Росія). Протягом 24 годин зразки слизу доставлялись до лабораторії (Бактеріологічна лабораторія Центру з контролю та моніторингу захворювань МОЗ України, м. Київ, Україна) з дотриманням температурних вимог.

**Мікробіологічне дослідження.** Для культивування *S. pneumoniae* використовували кров'яний (КА) і «шоколадний» агар (ША), основою для яких слугували триптиказо-соевий агар (Biomérieux, Франція). Для приготування ША використовували сухий гемоглобін (Oxoid, Англія), для КА – 5% кров. Посіви підлягали інкубації у термостаті з підвищеним вмістом CO<sub>2</sub> в атмосфері (5–10%) за температури 37°C протягом 18–24 годин. З цією метою використовували анаеростат та газогенераторні пакети (Weston Dickinson, США). Пневмокок ідентифікували на основі морфологічних та культуральних властивостей. Відбирались характерні колонії: невеликі, сіруваті, із зеленуватою зоною альфа-гемолізу навколо. Підозрілі колонії відсівали на КА та проводили тест на чутливість до оптохіну (PLIVA-Lachema, Чехія) і, у разі їх чутливості, продовжували ідентифікацію за допомогою тест-систем STREPTOtest-16 (Erba Lachema, Чехія). Для подальшого серотипування з пневмокок-позитивних культур готували суспензії у фізіологічному розчині та виділяли ДНК за допомогою набору реактивів «ДНК-сорб-АМ» (АмпліСенс®, ФДУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду, Росія).

У випадку отримання негативного результату бактеріологічного дослідження, проводилось виділення ДНК з первинного матеріалу за допомогою набору реактивів «ДНК-сорб-АМ» з подальшим проведенням ПЛР у реальному часі за допомогою набору реактивів *Neisseria meningitidis/H. influenzae/S. pneumoniae*-FL (АмпліСенс®, ФДУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду, Росія). Для ампліфікації використовували термоциклер з детекцією у реальному часі RotorGene (Corbett Research, Австралія).

Позитивні зразки типували методом ПЛР з електрофоретичною детекцією в агарозному гелі. Для ампліфікації використовували реакційну суміш «ПЦР-смесь-2 red» з трифосфатами («АмпліСенс»®), ФДУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду, Росія) та праймери до 15 серотипів *S. pneumoniae* («Синтол», Росія): 1, 3, 4, 5, 6А, 6В, 6С, 7F, 9V, 14, 18С, 19А, 19F, 20, 23F. Для ампліфікації використовували термоциклер Light Cycler (Corbett Research, Австралія). Умови ампліфікації: гарячий старт – 95°C – 15 хв (1 цикл); 94°C – 30 с, 54°C – 90 с, 72°C – 60 с (35 циклів); 72°C – 10 хв (1 цикл).

Чутливість до антимікробних препаратів визначалась диско-дифузійним методом на середовищі Мюллер–Хінтона (Biomérieux, Франція) з додаванням 5% дефібринованої крові. Використовували диски з антимікробними препаратами (Oxoid, США): еритроміцин (15 мкг), азитроміцин (15 мкг), левофлоксацин (5 мкг), ципрофлоксацин (5 мкг), ко-тримоксазол (1,25/23,75 мкг), хлорамфенікол (30 мкг). Процедура постановки дослідів, облік та інтерпретацію результатів здійснювали згідно з наказом МОЗ України від 05.04.2007 №167. Рутинний скринінг на чутливість до пеніциліну проводився диском з 1 мкг окса-

циліну (Oxoid, США). Штами *S.pneumoniae* із зоною затримки росту 20 мм і більше розцінювались як чутливі до пеніциліну та всіх β-лактамних антибіотиків. Штами пневмокока, що були резистентними (стійкими) або проміжними (помірно стійкими) до трьох чи більше класів антибіотиків, вважались мультирезистентними.

**Статистичний аналіз.** Аналізувалась вибірка обсягом 1000 спостережень. Використовувались наступні методи статистичного аналізу: перевірка нормальності розподілу кількісних ознак за допомогою графічного методу з використанням гістограм; порівняння поширеності назофарингеального носійства пневмокока у двох незалежних вибірках з використанням параметричного критерію Z; з метою аналізу впливу різних медико-соціальних факторів на частоту колонізації носоглотки пневмококом використовувались таблиці спряженості та критерій  $\chi^2$  Пірсона. Кількісна оцінка вірогідності колонізації носоглотки залежно від різних факторів ризику проводилась за допомогою показника відносного ризику (RR). Вибіркові параметри, що наводяться далі в статті, мають такі позначення: M — середнє, n — обсяг аналізованої підгрупи, Me — медіана, Q1 та Q3 — нижній і верхній квартилі (25 і 75 процентилі), 95%ДІ — довірчий інтервал для вірогідності 95%, Z — критерій Z,  $\chi^2(v)$  — критерій ксі-квадрат для v ступенів свободи, p — досягнутий рівень значущості. Критичне значення рівня значущості приймалося рівним 5%. Отримані у процесі дослідження дані були оброблені методом математичної статистики за допомогою стандартних пакетів програм Microsoft Excel та IBM SPSS Statistics 20.

**Результати дослідження та їх обговорення**

З 1000 зібраних зразків отримано 504 ізоляти *S.pneumoniae*, відповідно рівень носоглоткового носійства становив 50,4% (95%ДІ: 47,4; 53,4).

Частота колонізації носоглотки пневмококом залежно від соціальної активності дітей наведена на рисунку 1. Як видно з рисунку, контакти між дітьми у різних колективах сприяли колонізації носоглотки пневмококом. Серед дітей, що відвідували центри раннього розвитку/гуртки, частота колонізації на 11% була вищою порівняно з «домашніми» дітьми, хоча ця різниця виявилась неістотною (Z=0,99; p=0,16). Натомість діти, що відвідували дошкільні навчальні заклади з денним перебуванням, достовірно частіше були носіями пневмокока, ніж їхні однолітки, що виховувались вдома (Z=4,58; p<0,001). Найвища частота колонізації носоглотки пневмококом (95,6%) була виявлена у вихованців дошкільних навчальних закладів з цілодобовим перебуванням, вона істотно відрізнялась від тієї, яка реєструвалась у «домашніх» дітей (Z=15,29; p<0,001). Якщо дитина відвідувала будь-який дитячий колектив, то у неї у 1,8 разу підвищувався ризик колонізації носоглотки пневмококом (BP=1,8; 95% ДІ: 1,6–2,0). Найвищий ризик мали діти, що виховувались у дитячих колективах з цілодобовим перебуванням (BP=12,1; 95% ДІ: 4,0–36,6). Найімовірніше така відмінність пов'язана з тривалістю контакту між дітьми: у центрах раннього розвитку/гуртках — 30–90 хв (відповідає тривалості соціальних контактів «домашніх» дітей), у дошкільних навчальних закладах з денним перебуванням — до 12 годин, у закладах з можливим цілодобовим перебуванням — понад 24 години. Отже, соціальна активність дітей є значущим фактором, що впливає на частоту назофарингеального носійства пневмокока.

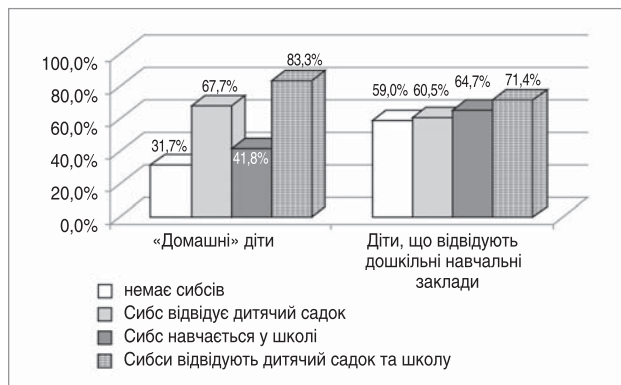
У ході аналізу мікросоціального оточення було з'ясовано, що 30,3% дітей мали старших соціально активних

сисів. Даний фактор істотно вплинув на назофарингеальну колонізацію пневмококом ( $\chi^2(3)=23,5$ ; p<0,0001). Дані про рівень колонізації носоглотки пневмококом у дітей залежно від соціальної активності сисів наведені на рисунку 2. Як видно з гістограми, соціальна активність сисів мала істотне значення для дітей, що не відвідували дошкільні навчальні заклади ( $\chi^2(3)=25,9$ ; p<0,0001). Проте, якщо дитина сама навчалась у дошкільному закладі, то соціальна активність її братів та сестер суттєво не впливала на рівень колонізації носоглотки пневмококом ( $\chi^2(3)=3,05$ ; p=0,384). «Домашні» діти, сисби яких відвідували дошкільні навчальні заклади, істотно частіше були носіями пневмокока порівняно з тими, сисби яких були школярами ( $\chi^2(1)=6,25$ ; p<0,014). Поширеність носійства пневмокока у «домашніх» дітей без сисів була найнижчою і становила 31,7%, а у дітей з багатодітних сімей, де водночас кілька дітей відвідували навчальні заклади, — найвищою і становила в середньому 78,9%.

Для вивчення розподілу серотипів було протиповано 297 штампів пневмокока. З них 264 (88,9%) штами належали до капсульних, а 33 (11,1%) — до безкапсульних (нетипованих) пневмококів. Серед капсульних *S.pneumoniae* було ідентифіковано 14 різних серотипів, серед яких домінували 19F (26,1%), 6A/B (18,2%), 14 (11,4%) і 23F (5,7%) (рис. 3). Серотип 1 не зустрічався при носоглотковому



**Рис. 1.** Частота колонізації носоглотки пневмококом залежно від соціальної активності дітей



**Рис. 2.** Рівень колонізації носоглотки пневмококом у дітей залежно від соціальної активності сисів



Рис. 3. Розподіл серотипів пневмококів у здорових дітей віком до 5 років при назофарингеальному носійстві

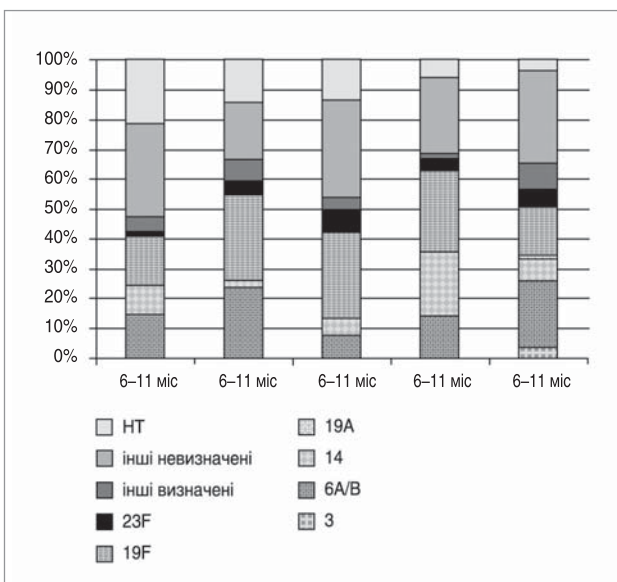


Рис. 4. Розподіл серотипів пневмококів у здорових дітей віком від 6 місяців до 5 років залежно від віку

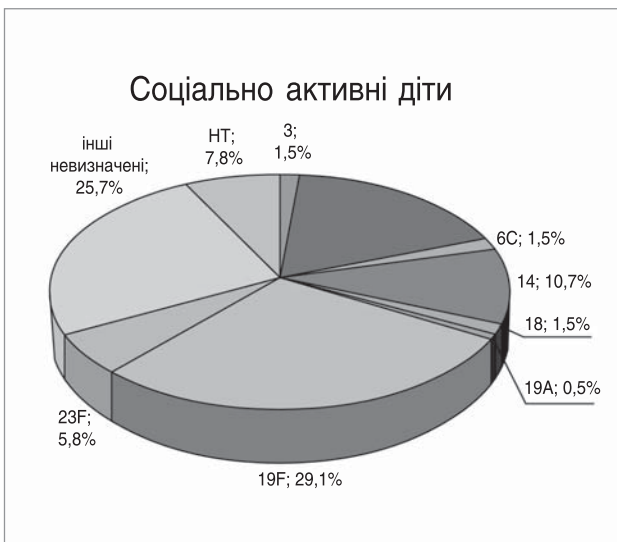


Рис.5. Розподіл серотипів пневмококів у здорових соціально активних дітей віком від 6 місяців до 5 років



Рис.6. Розподіл серотипів пневмококів у здорових дітей від 6 місяців до 5 років, що виховуються вдома



Рис. 7. Чутливість пневмококів до антимікробних препаратів

носійстві у здорових дітей до 5 років. Ще 87 (33%) штампів не належали до 15 серотипів, до яких проводилось типування.

Розподіл серотипів пневмококів у здорових дітей віком від 6 місяців до 5 років залежно від віку наведено на рисунку 4. У дітей до року домінували пневмококи з невизначеними серотипами (32%) та нетиповані штами (22%), серед капсульних пневмококів з визначеним серотипом переважали 19F (17%) та 6A/B (15%). З віком частка нетипованих пневмококів зменшувалась і у чотирирічних дітей становила 4%. Натомість пневмококи з невизначеним серотипом приблизно однаково часто колонізували носоглотку дітей різних вікових груп. Серотипи 3 та 19F були виділені лише у дітей віком 48–60 місяців. Отже, вік впливає на розподіл серотипів пневмококів, виділених з носоглотки.

Розподіл серотипів пневмококів у здорових дітей віком від 6 місяців до 5 років залежно від соціальної активності наведений на рисунках 5 та 6.

Носоглотка кожної третьої дитини, що відвідувала дитячий колектив, була колонізована пневмококами серотипу 19F. Також у цієї групи дітей переважали серотипи 6A/B (18,4%), 14 (10,7%) та 23F (5,8%). Такі серотипи, як 3, 6C та 19A, виявлялися лише у соціально активних дітей. Натомість у дітей, що виховувалися вдома, переважали штами з невизначеним серотипом та нетиповані пневмококи (37% та 19% відповідно). Домінував серотип 6A/B (11%), серотип 19F посідав друге місце за частотою, хоча й зустрічався утричі рідше, ніж

Резистентність штамів пневмокока, виділених з носоглотки, до антимікробних препаратів залежно від серотипу

Серотип	Кількість культур	Кількість резистентних штамів до антимікробних препаратів							
		Оксацилін	Еритроміцин	Азітроміцин	Ципрофлоксацин	Левофлоксацин	Хлорамфенікол	Ко-тримоксазол	Мульти-резистентність
6A/B	32	41%	34%	9%	75%	6%	9%	63%	25%
6C	3	0%	0%	0%	33%	0%	0%	66%	0%
14	10	50%	10%	10%	30%	40%	10%	70%	60%
18	5	40%	40%	0%	60%	0%	0%	20%	20%
19F	48	58%	52%	19%	56%	8%	15%	54%	48%
23F	11	18%	9%	0%	36%	0%	0%	64%	9%
НТ	16	50%	56%	31%	56%	25%	13%	50%	44%
Інші з 15 серотипів	4	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Інші, не 15 серотипів	54	20%	17%	11%	52%	17%	7%	56%	20%
Всього	183	38%	32%	14%	52%	13%	9%	55%	34%

у соціально активних дітей. У «домашніх» дітей ідентифікувались серотипи 4, 5, 7A/F, 9V/A, 20, які не визначались у носоглотці дітей, що відвідували дитячі колективи.

Серед 264 ізолятів, придатних для типування, 65,5% були серотипами, що входять до складу 13-валентної пневмокової кон'югованої вакцини (ПКВ13). Серед соціально активних дітей рівень колонізації носоглотки пневмококом з «вакцинальним» серотипом був достовірно вищим ( $\chi^2_{(1)}=10,3$ ;  $p=0,001$ ), ніж у дітей, що виховувались у домашніх умовах, і становив 64,4% та 44,4% відповідно.

Відомо, що «вакцинальні» серотипи пневмокока асоціюються з високою антибіоткорезистентністю, тому ми проаналізували рівень резистентності пневмококів до найбільш актуальних антимікробних препаратів (рис. 7).

Близько третини штамів пневмокока були резистентні до пеніциліну. Це означає, що у разі реалізації носоглоткового носійства пневмокока у захворювання лише двоє з трьох дітей зможуть отримувати  $\beta$ -лактамі антибіотики без додаткового визначення мінімальної інгібіторної концентрації (МІК) та з очікуваним позитивним ефектом.

Як видно з гістограми, азітроміцин зберігав високу активність проти пневмокока. Тому даний антибіотик може розглядатись як препарат вибору для лікування пневмокової інфекції. Проте у кожному шостому випадку його застосування може не дати бажаного клінічного ефекту.

Враховуючи високі показники резистентності, такі антибактеріальні препарати, як еритроміцин, ципрофлоксацин та ко-тримоксазол, не повинні застосовуватись, як системно, так і місцево, у разі розвитку бактеріальної інфекції (кон'юнктивіту, аденоїдиту), ймовірно спричиненої пневмококом.

Як препарати резерву при лікуванні пневмокової інфекції у дітей, викликаної мультирезистентними штамми, за життєвими показаннями можуть застосовуватись хлорамфенікол та левофлоксацин, оскільки близько 90% штамів пневмококів зберігають до них чутливість.

Помічено, що резистентність пневмокока до певного антимікробного препарату корелювала з його серотипом. Як видно з таблиці, за резистентність до оксациліну відповідали серотипи 19F, 14, 6A/B та 18; до еритроміцину – 19F, 18 та 6A/B; азітроміцину – 19F, 14 та 6A/B; ципрофлоксацину – 6A/B, 18, 19F та 23F; левофлоксацину – 14;

хлорамфеніколу – 19F, 14 та 6A/B; ко-тримоксазолу – 14, 6A/B/C, 23F та 19F. Тобто найбільш резистентними до антимікробних препаратів виявились штамми серотипів 14, 19F та 6A/B. Слід зазначити, що великий внесок в антибіоткорезистентність робили безкапсульні (нетиповані) пневмококи, 44% з яких були мультирезистентними. Саме штамми безкапсульних пневмококів характеризувались найвищим рівнем стійкості до макролідів (еритроміцину – 56%, азітроміцину – 31%) та до резервних антибіотиків (левофлоксацину – 25%, хлорамфеніколу – 13%). Близько третини (34%) штамів пневмокока виявились мультирезистентними.

Частота виділення резистентних штамів пневмокока не залежала від соціальної активності дітей.

### Висновки

1. Рівень носійства пневмокока серед дітей віком від 6 місяців до 5 років становить 50,4%.
2. Соціальна активність дітей істотно впливає на частоту назофарингеального носійства пневмокока. Так, у «домашніх» дітей вона становить 37,3%, у дітей, що відвідують дошкільні навчальні заклади з денним перебуванням, – 60,9%, у дітей з колективів, де практикується цілодобове перебування, – 95,6%.
3. Відвідування сибсом дитячого колективу суттєво підвищує ризик колонізації носоглотки пневмококом у дітей, що не відвідують дошкільні навчальні заклади.
4. Серед виділених штамів пневмокока 88,9% належать до капсульних, з яких ідентифіковано 14 різних серотипів: 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Домінують серотипи 19F (26,1%), 6A/B (18,2%), 14 (11,4%) і 23F (5,7%).
5. Серотиповий репертуар пневмококів змінюється з віком: частка нетипованих пневмококів знижується (з 22% до 4%), а пневмококів із серотипами, що входять до складу 13-валентної ПКВ, – зростає (з 46,7% до 63,3%).
6. Розподіл серотипів пневмокока, виділеного у здорових дітей віком від 6 місяців до 5 років, залежить від соціальної активності. У «домашніх» дітей найчастіше визначаються пневмококи з невизначеними серотипами (37%) та нетиповані (19%). Серед капсульних пневмококів з ви-

значением серотипом преобладают серотипы 6A/B (11%), 19F (10%), 14 (9%) та 18 (6%). У соціально активних дітей домінують серотипи 19F (29%), 6A/B (18%), 14 (11%) та 23F (6%); 26% штамів належить до невизначених серотипів.

7. Штами пневмококів, виділені з носоглотки, відзначаються високою резистентністю до антимікробних препаратів: оксациліну (38%), еритроміцину (32%), азитроміцину (14%), ципрофлоксацину (52%), левофлоксацину (13%), хлорамфеніколу (9%), ко-тримоксазолу

(55%). Близько третини (34%) штамів пневмокока є мультирезистентними.

8. В Україні ще до впровадження вакцинації пневмококовими кон'югованими вакцинами зустрічається серотип 19A, що має високий потенціал розвитку резистентності до антибіотиків.

**Автори висловлюють подяку фармацевтичній компанії «Файзер» за фінансову підтримку у проведенні досліджень.**

## ЛІТЕРАТУРА

1. Capsular serotype-specific attack rates and duration of carriage of *Streptococcus pneumoniae* in a population of children / Sleeman K. L., Griffiths D., Shackley F. [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2006. — Vol. 194 (5). — P. 682—688.
2. CDC. Prevention of Pneumococcal Disease Among Infants and Children — Use of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine and 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) // *MMWR.* — 2010. — Vol. 59 (No. RR-11) [Electronic resource]. — Assess mode : <http://www.cdc.gov>
3. Dagan R. New insights on pneumococcal disease: What we have learned over the past decade / R. Dagan // *Vaccine.* — 2009. — Vol. 27. — P. 3—5.
4. Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae* / Park I. H., Pritchard D. G., Cartee R. [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2007. — Vol. 45 (4). — P. 1225—1233.
5. Farha T. The burden of pneumonia in children in the developed world / T. Farha T., A. H. Thomson // *Paediatr Respir Rev.* — 2005. — Vol. 6(2). — P. 76—82.
6. Global serotype distribution among *S. pneumoniae* isolates causing otitis media in children: potential implications for pneumococcal conjugate vaccines / Rodgers G. L., Arguedas A., Cohen R., Dagan R. // *Vaccine.* — 2009. — Vol. 27. — C. 3802—3810.
7. Individual Risk Factors Associated With Nasopharyngeal Colonization With *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*: A Japanese Birth Cohort Study / Taketo Otsuka, Bin Chang [et al.] // *The Pediatric Infectious Disease Journal.* — 2013. — Vol. 32, №7. — P. 709—714.
8. Potential Impact of Accelerating the Primary Dose of Pneumococcal Conjugate Vaccine in Infants / Stancil J. M., Peters T. R., Givner L. B., Poehling K. A. // *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* — 2009. — Vol. 163 (5). — P. 422—425.
9. Serotypes and antimicrobial susceptibilities of invasive *Streptococcus pneumoniae* pre- and post-seven valent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Alberta, Canada, 2000—2006 / Tyrrell G. J., Lovgren M., Chui N. [et al.] // *Vaccine.* — 2009. — Vol. 27. — P. 3553—3560.
10. Soley C. Understanding the link between pneumococcal serotypes and invasive disease / C. Soley, A. Arguedas // *Vaccine.* — 2009. — Vol. 27. — P. 19—21.
11. Systematic Evaluation of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease among Children Under Five: The Pneumococcal Global Serotype Project / Jonathan Cohen, Hope L. Johnson, Maria Deloria-Knoll [et al.] // *PLoS Medicine.* — 2010. — Vol. 7 (10). — P. 1000348 DOI: 10.1371/journal.pmed.1000348
12. Temporal and geographic stability of the serogroup-specific invasive disease potential of *Streptococcus pneumoniae* in children / Brueggemann A. B., Peto T. E., Crook D. W. [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 190 (7). — P. 1203—1211.
13. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease / Kadioglu A., Weiser J. N., Paton J. C., Andrew P. W. // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2008. — Vol. 6 (4). — P. 288—301.
14. Tzanakaki G. Aetiology of bacterial meningitis and resistance to antibiotics of causative pathogens in Europe and in the Mediterranean region / G. Tzanakaki, P. Mastrantonio // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2007. — Vol. 29 (6). — P. 621—629.
15. World Health Organization and UNICEF. Global immunization data. October 2012. Available at: [http://www.who.int/immunization\\_monitoring/Global\\_Immunization\\_Data.pdf](http://www.who.int/immunization_monitoring/Global_Immunization_Data.pdf). p.2. Accessed February 4, 2013.
16. World Health Organization. Pneumococcal vaccines WHO position paper — 2012 // *Weekly epidemiological record.* — 2012. — Vol. 87, № 14. — P. 129—144.

### Распределение серотипов *Streptococcus pneumoniae*

#### при назофарингеальном носительстве у здоровых детей в возрасте от 6 месяцев до 5 лет в Украине

Л.И. Чернышева<sup>1</sup>, А.М. Гильфанова<sup>1</sup>, А.В. Бондаренко<sup>1</sup>, С.А. Якимович<sup>1,2</sup>, О.В. Рабош<sup>2</sup>, В.В. Яновская<sup>3</sup>, Т.Г. Глушкевич<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра детских инфекционных болезней и детской иммунологии НМАПО имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина

<sup>2</sup>Киевская городская детская клиническая больница № 1, Украина

<sup>3</sup>Бактериологическая лаборатория ГУ «Украинский центр контроля и мониторинга заболеваний Минздрава Украины», г. Киев, Украина

**Цель:** изучение уровня назофарингеального носительства пневмококка у детей в возрасте от 6 месяцев до 5 лет на Украине, распределения серотипов *S. pneumoniae*, в том числе по возрасту, его чувствительности к антимикробным препаратам и возможного влияния ранней социальной активности на частоту носительства и распределение серотипов.

**Пациенты и методы.** Обследовано 1000 здоровых детей в возрасте от 6 месяцев до 4 лет 11 месяцев 30 дней. Образцы слизи из носоглотки брались однократно методом глубокого трансназального мазка. Для идентификации *S. pneumoniae* использовались классические бактериологические методы и ПЦР в реальном времени. Серотипирование проводилось с помощью мультиплексной ПЦР к серотипам 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Чувствительность к антимикробным препаратам определялась диско-диффузионным методом.

**Результаты.** Общая частота носительства пневмококка среди детей в возрасте от 6 месяцев до 5 лет составляет 50,4%: у «домашних» детей — 37,3%, у детей, посещающих дошкольные учебные заведения дневного пребывания, — 60,9%, у детей из учреждений с круглосуточным пребыванием — 95,6%. Социальная активность sibсов имеет существенное значение для детей, не посещающих дошкольные учебные заведения. Среди выделенных штаммов пневмококка 88,9% относятся к капсульным, из которых идентифицировано 14 различных серотипов: 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Доминируют серотипы 19F (26,1%), 6A/B (18,2%), 14 (11,4%) и 23F (5,7%). Резистентность к антимикробным препаратам: оксациллину — 38%, эритромицину — 32%, азитромицину — 14%, ципрофлоксацину — 52%, левофлоксацину — 13%, хлорамфенколу — 9%, ко-тримоксазолу — 55%. Около трети (34%) штаммов пневмококка являются мультирезистентными.

**Выводы.** Носоглотка каждого второго здорового ребенка от 6 месяцев до 5 лет колонизирована пневмококком. Социальная активность детей и их сибсов существенно влияет на уровень назофарингеального носительства пневмококка. Штаммы пневмококков, выделенные из носоглотки, отличаются высокой резистентностью к антимикробным препаратам. В Украине еще до внедрения вакцинации пневмококковыми конъюгированными вакцинами встречается серотип 19А, обладающий высоким потенциалом развития антибиотикоустойчивости.

**Ключевые слова:** пневмококк, дети, назофарингеальное носительство, резистентность к антимикробным препаратам, серотипы.

### Distribution of serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal carriage in healthy children aged 6 months to 5 years in Ukraine

L.I. Chernyshova<sup>1</sup>, A.M. Giffanova<sup>1</sup>, A.V. Bondarenko<sup>1</sup>, S.A. Yakimovitch<sup>1, 2</sup>, O.V. Rabosh<sup>2</sup>, V.V. Yanovska<sup>3</sup>, T.G. Glushkevich<sup>3</sup>

<sup>1</sup>P.L. Shupic National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev, Ukraine

<sup>2</sup>Kievskaya City Children's Clinical Hospital № 1, Ukraine

<sup>3</sup>Bacteriological laboratory SI «Ukrainian Center of Control and Monitoring of Diseases of the Ministry of Health Care of Ukraine», Kiev

**Objective:** To demonstrate *S.pneumoniae* serotypes distribution in Ukrainian children 6 months — 5 years old. To demonstrate sensitivity to antibiotics of *S.pneumoniae* serotypes circulating among young children. To evaluate age distribution of serotypes in children under 5 years old. To estimate possible influence of early social activities (early contacts or start of kindergarten) in children under 5 years old on *S.pneumoniae* carriage and serotypes distribution.

**Materials and Methods.** Examined in 1000 healthy children from 6 months to 4 years 11 months 30 days. Samples of mucus from the nasopharynx were taken once by deep transnasally smear. For identification of *S. pneumoniae* used classical bacteriological methods and real-time PCR. Serotyping was performed using the multiplex PCR to serotypes 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 6C, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Sensitivity to antimicrobial agents was determined by disc — diffusion method.

**Results.** The overall incidence of pneumococcal carriage among children aged 6 months to 5 years is 50.4% : from 'home' children — 37.3%, of children attending pre- schools with day care — 60.9% , in children with institutions with non-stop stay — 95.6% . Social activity siblings is essential for children who do not attend pre-schools . Among the selected strains of pneumococcus are 88.9 % of the capsule , of which 14 different serotypes were identified : 3, 4, 5 , 6A, 6B, 6C, 7, 9, 14, 18C, 19A, 19F, 20, 23F. Dominated serotypes 19F (26,1%), 6A / B (18,2%), 14 (11,4%) and 23F (5,7%). Antimicrobial resistance : oxacillin (38 %) , erythromycin (32 %) , azithromycin (14 %) , ciprofloxacin (52 %) , levofloxacin ( 13%), chloramphenicol (9%), co- trimoxazole (55 %). About one-third (34% ) strains of pneumococcus is a multi -resistant .

**Conclusions.** Every second nasopharynx of healthy children aged 6 months to 5 years colonized by pneumococcus. Social activity of children and their siblings significantly affect the level of pneumococcal nasopharyngeal carriage. Strains of pneumococci isolated from the nasopharynx , are highly resistant to antimicrobial agents. There is serotype 19A (which has a high potential for development of antibiotic resistance) occurs in Ukraine, even before the introduction of pneumococcal conjugate vaccine in National Immunization Program.

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*, children, nasopharyngeal carriage, antimicrobial resistance, serotypes.

#### Сведения об авторах:

**Чернишова Людмила Ивановна** — д.мед.н., проф., зав. каф. детских инфекционных болезней и детской иммунологии НМАПО

им. П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-26-98

**Гильфанова Анна Михайловна** — аспирант каф. детских инфекционных болезней и детской иммунологии НМАПО

им. П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-26-98

**Бондаренко Анастасия Валериевна** — к.мед.н., доц. каф. детских инфекционных болезней и детской иммунологии НМАПО

им. П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-26-98

**Якимович Светлана Анатолієвна** — зав. консультативной поликлиники Киевской городской детской клинической больницы №1; ассистент каф. детских инфекционных болезней и детской иммунологии НМАПО им. П.Л. Шупика. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30; тел. (044) 412-26-98

**Рабаш Олеся Владимировна** — зав. Киевского городского детского центра клинической иммунологии Киевской городской детской клинической больницы №1, г. Киев. Адрес: г. Киев, ул. Богатырская, 30.

**Яновская Валентина Владимировна** — к.мед.н, зав. Референс-центра молекулярной диагностики инфекционных болезней МЗ Украины, ГЗ «Украинский центр контроля и мониторинга заболеваний МЗ Украины», г. Киев.

**Глушкевич Татьяна Георгиевна** — зав. бактериологической лаборатор ГЗ «Украинский центр контроля и мониторинга заболеваний МЗ Украины», г. Киев.

Статья поступила в редакцию 12.04.2014 г.