

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ И СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Федеральное бюджетное учреждение науки

**«Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии имени академика И.Н. Блохиной»**

**БАКТЕРИАЛЬНЫЕ И ВИРУСНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ
ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ**

Монография

Нижний Новгород, 2025

УДК 616.24-002-07-053.2:616-022.7(579.61)

ББК: 28.4+28.3

Б19

Бактериальные и вирусные возбудители внебольничной пневмонии у детей. Монография / Махова М.А., Бруснигина Н.Ф. – Нижний Новгород: Изд-во «Дятловы Горы», 205 с.

В монографии представлены метаанализ современных данных литературы и результаты собственных исследований по проблеме внебольничных пневмоний, описаны особенности этиологической структуры пневмонии у детей разных возрастных групп в период распространения новой коронавирусной инфекции, охарактеризованы биологические (фенотипические и генетические) свойства патогенов, включая чувствительность к антибактериальным препаратам, рассмотрены вопросы лабораторной диагностики, особое внимание уделено молекулярно-генетическим методам исследований и определению их места в системе эпидемиологического надзора за внебольничными пневмониями.

Монография предназначена для специалистов органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, врачей-бактериологов, эпидемиологов, инфекционистов, пульмонологов, специалистов клинико-диагностической службы, преподавателей и студентов медицинских и биологических вузов.

Рецензенты:

Новопольцева Е.Г. – заведующий кафедрой факультетской и поликлинической педиатрии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, д-р мед. наук, профессор

Соловьева И.В. – ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией микробиома и средств его коррекции ФБУН «ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, д-р биол. наук, доцент

ISBN 978-5-90522-775-2

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
Глава 1. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ	8
Глава 2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПАТОГЕНЫ В ЭТИОЛОГИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ	18
2.1 Характеристика отдельных представителей бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии.....	21
2.1.1 «Классические» бактериальные возбудители	21
2.1.1.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	22
2.1.1.2 <i>Haemophilus influenzae</i>	28
2.1.1.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	30
2.1.1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.1.1.5 <i>Moraxella catarrhalis</i>	35
2.1.1.6 <i>Escherichia coli</i>	36
2.1.2 «Атипичные» бактериальные возбудители пневмонии.....	41
2.1.2.1 <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	41
2.1.2.2 Хламидии.....	52
2.1.2.2.1 <i>Chlamydophila pneumoniae</i>	56
2.1.2.2.2 <i>Chlamydophila psittaci</i>	62
2.1.2.2.3 <i>Legionella pneumophila</i>	64
Глава 3. ВИРУСНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ПНЕВМОНИИ.....	68
3.1 Вирусы гриппа (Ортомиксовирусы).....	71
3.2 Вирусы парагриппа (Парамиксовирусы).....	74
3.3 Пневмовирусы.....	76
3.4 Бокавирус.....	79
3.5 Аденовирусы.....	81

3.6 Коронавирусы.....	82
3.7 Риновирусы.....	88
3.8 Герпесвирусы.....	89
Глава 4. МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ.....	97
4.1 «Классические» микробиологические и иммунологические методы.....	97
4.2 Молекулярно-генетические методы.....	107
4.2.1 Методы амплификации нуклеиновых кислот.....	110
4.2.2 Методы секвенирования ДНК.....	122
4.2.3 Метод микрочипов.....	128
Глава 5. РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ.....	132
Глава 6. МНОГОЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ.....	139
6.1 Результаты применения молекулярно-генетических методов для этиологической диагностики внебольничной пневмонии у детей.....	140
6.2 Молекулярно-генетические технологии в геномном мониторинге <i>S. pneumoniae</i>	145
6.3 Молекулярные методы в изучении распространенности детерминант резистентности <i>M. pneumoniae</i> к макролидам.....	160
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	162
Список использованных источников.....	165
Список сокращений и обозначений.....	204

ВВЕДЕНИЕ

Внебольничные пневмонии (ВП) представляют одну из актуальных проблем современного здравоохранения, что обусловлено стабильно высоким уровнем заболеваемости, имеющим тенденцию к дальнейшему росту показателей среди совокупного и детского населения Российской Федерации, а также экономическим и социальным ущербом, наносимым этой инфекцией. Возрастающие темпы роста заболеваемости внебольничными пневмониями, широкий спектр как традиционных, так и «атипичных» возбудителей ВП, генетическая изменчивость патогенов, сложность этиологической структуры и многофакторность развития эпидемического процесса при ВП требуют разработки и внедрения новых подходов в решении диагностических, клинических и эпидемиологических задач.

Появление в декабре 2019 г. и распространение в 2020–2021 гг. внебольничных пневмоний, вызванных новым коронавирусом (SARS-CoV-2), поставило перед специалистами в области охраны здравоохранения трудные задачи, связанные с быстрой диагностикой и клиническим ведением больных этой инфекцией. Все вышеперечисленное свидетельствует о том, что исследования, направленные на молекулярно-генетический мониторинг бактериальных и вирусных возбудителей ВП у детей, в период повышенного риска развития пандемии являются чрезвычайно актуальными.

Несмотря на современное развитие медицины, этиологическая диагностика, лечение, регистрация пневмоний до настоящего времени представляет определенные трудности [1–6]. К пневмониям достаточно часто подходят не как к инфекционным заболеваниям, вызываемым широким спектром возбудителей, а как к синдромному заболеванию без этиологической расшифровки, хотя именно этиологический диагноз определяет прогноз течения болезни, рациональную антибактериальную терапию и соответствует этиологическому принципу классификации пневмоний по МКБ-10. Данные об этиологии значительно варьируют у

разных авторов и в различные периоды исследований: *Streptococcus pneumoniae* (1,3–86,3%), *Chlamydophila pneumoniae* (2,5–8%), *Mycoplasma pneumoniae* (8–30%), *Haemophilus influenzae* (0,1–41,2%), *Staphylococcus* spp. (0–10,5%), *Klebsiella pneumoniae* (0–10,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (0–10,5%) [7–10]. Ряд исследователей отмечают роль ассоциаций микроорганизмов в этиологии ВП – от 2,3 до 65,8% [11–13]. Этиологическая расшифровка пневмоний – одна из существенных проблем диагностики в связи с отсутствием стандартов исследования клинического материала, использованием различных субстратов и методов исследований, сложностью интерпретации результатов, связанной при отборе образцов с риском контаминации клинического материала (мокроты) микрофлорой ротоглотки и верхних дыхательных путей, недостаточной чувствительностью классических бактериологических методов исследований и другими факторами. Соответственно и антибактериальная терапия носит преимущественно эмпирический характер.

Несмотря на большую эпидемиологическую и медицинскую значимость пневмоний, до 2013 года в РФ не существовало нормативных документов по эпидемиологическому надзору и контролю за внебольничными пневмониями, не проводился полноценный эпидемиологический анализ с оценкой реальной эпидемиологической ситуации и тенденций ее развития. Впервые в 2013 г. были разработаны, утверждены и введены в действие Главным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко МУ 3.1.2.3047-12 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями». В декабре 2023 г. были утверждены Главным санитарным врачом РФ А.Ю. Поповой и введены в действие актуализированные методические указания МУ 3.1.2/4.2.3973-23 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями», регламентирующие алгоритм проведения лабораторной диагностики ВП.

Вместе с тем остается целый ряд теоретических, методических и организационных проблем в диагностике, профилактике и терапии внебольничных пневмоний, нуждающихся в решении.

В данной монографии представлены современные данные литературы и результаты многолетних масштабных исследований, выполненных на базе лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН «ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной», о распространенности и роли бактериальных и вирусных возбудителей в развитии внебольничной пневмонии в предпандемический и в период пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19), рассмотрены биологические свойства возбудителей, включая чувствительность к антибактериальным препаратам, описаны особенности этиологической структуры ВП у детей разных возрастных групп в эпоху пандемии COVID-19, рассмотрены вопросы лабораторной диагностики, особое внимание уделено молекулярно-генетическим методам исследований и определению их места в системе санитарно-эпидемиологического контроля за внебольничной пневмонией.

Выражаем надежду на то, что представленные в монографии материалы будут интересны и полезны нашим коллегам в их повседневной работе.

Глава 1 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Внебольничные пневмонии (ВП) являются одной из актуальных проблем современной медицины во всем мире. Это связано с высокой распространенностью этого заболевания как среди детей, так и среди взрослого населения планеты, частой необходимостью в госпитализации пациента, высоким риском рецидивирования с переходом в хроническую патологию бронхолегочной системы, а также высокими показателями летальности [1–3].

Внебольничной пневмонией считают заболевание, возникшее во внебольничных условиях (вне стационара или позднее 4 недель после выписки из него) или диагностируемое в первые 8 часов с момента госпитализации, а также развивающееся у пациента, не находившегося в домах сестринского ухода длительного медицинского наблюдения более 14 суток [1].

В соответствии с определением ВОЗ «внебольничная пневмония у детей – это острое инфекционное заболевание различной преимущественно бактериальной этиологии, развившееся вне стационара или в первые 48–72 часа пребывания ребенка в стационаре, сопровождаемое лихорадкой и симптомами поражения нижних дыхательных путей (одышка, кашель, физикальные данные) при наличии инфильтративных изменений на рентгенограмме». По данным ВОЗ, пневмония является важнейшей отдельно взятой причиной смертности детей во всем мире.

ВП распространены повсеместно. До пандемии коронавирусной инфекции заболеваемость ВП в мире в среднем составляла 10–12 случаев на 1000 населения в год, смертность в развитых странах регистрировалась на уровне 50–60 случаев на 100 тыс. населения. Летальность от ВП соответствовала 5,0–9,0%, а в старших возрастных группах – 46,0%. В

Российской Федерации до 2020 г. ежегодно регистрировалось около 500 случаев ВП в год среди взрослого населения и более 600 тыс. случаев ВП у детей [4–6, 14], при этом в структуре летальных исходов от болезней органов дыхания пневмония составляет до 30,0% [1–3, 15].

Следует отметить, что, несмотря на большую эпидемиологическую и медицинскую значимость пневмоний, система эпидемиологического надзора и система контроля в том виде, в котором она традиционно существует за другими инфекциями, при пневмониях начала формироваться в последние 15 лет. Так, официальная регистрация пневмоний по форме № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» введена в РФ лишь с 2011 г. Регистрация случаев ВП с этого времени проводится по нескольким нозологическим формам: внебольничная пневмония, бактериальная пневмония, пневмококковая пневмония, вирусная пневмония.

За период с 2011 г. по 2023 г. наблюдается тенденция к ежегодному росту заболеваемости (Рисунок 1). Так, в 2011 г. заболеваемость внебольничной пневмонией составила 315,1; в 2012 г. – 345,0; в 2013 г. – 389,2; в 2014 г. – 349,5; в 2015 г. – 337,1; в 2016 г. – 418,02; в 2017 г. – 412,3; в 2018 г. – 491,7; в 2019 г. – 518,9; в 2020 г. – 1856,18; в 2021 г. – 1148,43; в 2022 г. – 444,68; в 2023 г. – 498,02 случаев на 100 тыс. населения.

Заслуживают внимания высокая заболеваемость ВП в 2020 г. , которая возросла по сравнению с предыдущим годом более чем в 3,5 раза, показатель составил 1856,2 случая на 100 тыс. населения при среднемноголетней заболеваемости 397,4 (2011–2020 гг.). При этом более чем в 100 раз относительно предыдущего года увеличилась заболеваемость пневмонией вирусной этиологии, показатель составил 783,08 на 100 тыс. населения против 7,2 на 100 тыс. населения в 2019 г. [16].



Рисунок 1 – Динамика заболеваемости внебольничными пневмониями совокупного и детского населения в Российской Федерации в 2011–2023 гг. (на 100 тыс.)

Данная ситуация объясняется тем, что в 2020 г. случаи внебольничных пневмоний, обусловленные новой коронавирусной инфекцией, учитывались в форме федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» совместно с внебольничными пневмониями вирусной этиологии. С 2021 г. случаи пневмонии, вызванные новым коронавирусом, регистрируются отдельно.

В Нижегородской области в период с 2011г. по 2019 г. заболеваемость ВП стабильно превышала среднероссийские показатели заболеваемости ВП, исключение составил 2020 г., когда заболеваемость была ниже на 40,7% (Рисунок 2).

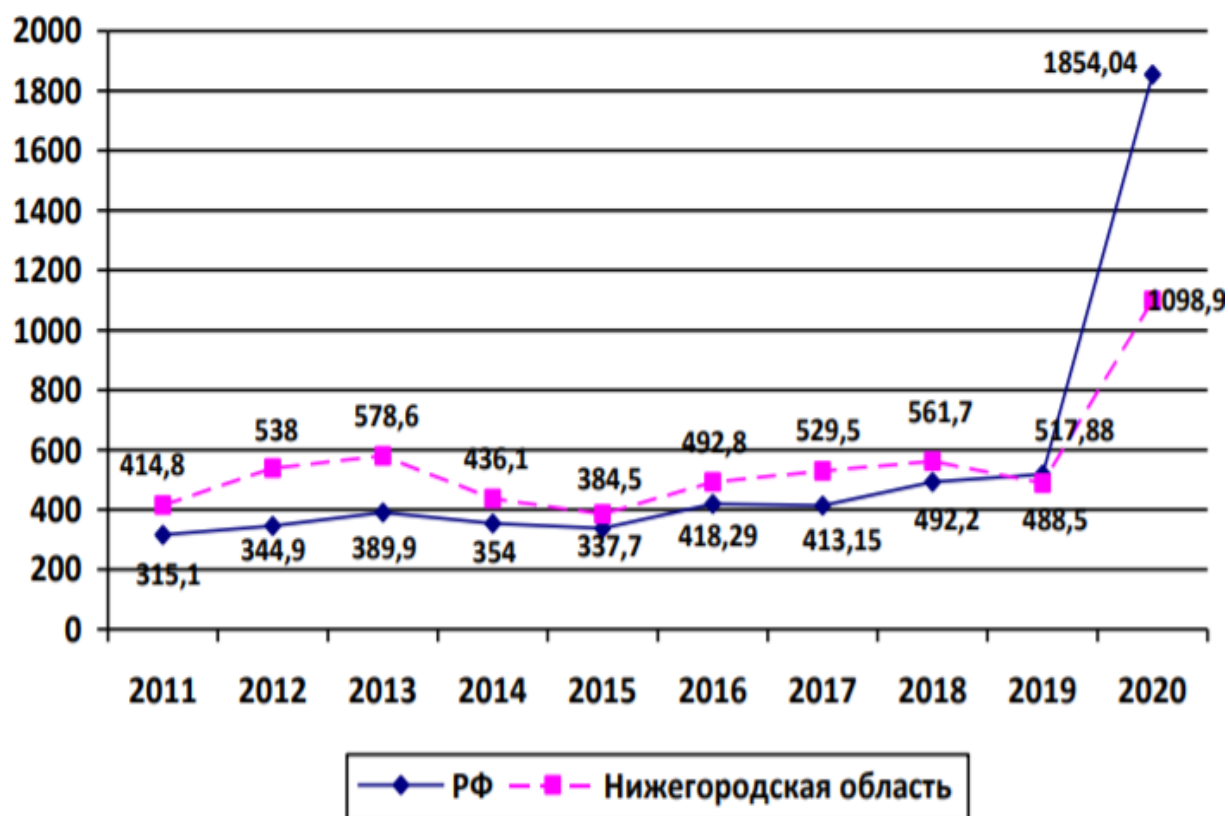


Рисунок 2– Динамические изменения показателей заболеваемости ВП в Нижегородской области (2011–2020 гг.)

Показатель смертности при ВП в РФ в 2011–2014 гг. составлял 2,9–3,9 на 100 тыс. населения (у детей в возрасте до 14 лет – 0,3–0,4 на 100 тыс. контингента). В структуре младенческой смертности заболевания органов дыхания стоят на третьем месте (около 7,0%), из которых 74,0% приходится на пневмонии [4–6, 14].

Наименьшие показатели летальности от ВП (1–3%) зафиксированы у лиц молодого и среднего возраста без сопутствующих заболеваний, при тяжелой ВП летальность достигает 10%. В группе больных старше 60 лет с серьезной сопутствующей патологией (онкология, сахарный диабет, алкоголизм и др.) показатели летальности выше в 3–5 раз в сравнении с пациентами молодого возраста и варьируют от 15,0 до 50,0% [17].

Зарегистрированное число летальных случаев от ВП в 2020 г. увеличилось почти в 12 раз по сравнению с 2019 г. (65232 и 5484 случаев соответственно среди совокупного населения), что составило 44,45 на 100

тыс. населения, и связано в значительной мере с новой коронавирусной инфекцией [16].

Пневмония относится к наиболее частым и серьезным заболеваниям легких у детей. При этом наиболее высокий уровень заболеваемости и летальности отмечается у новорожденных и детей первых лет жизни [4–6, 14]. Эксперты ВОЗ подчеркивают, что основными предотвратимыми причинами летальных исходов при пневмонии являются поздняя верификация диагноза и отсутствие своевременной этиотропной терапии.

В 2011–2019 гг. в России заболеваемость ВП среди детей в возрасте до 14 лет регистрировалась на уровне 600–750 случаев на 100 тыс. детей. В 2020 г. доля детского населения в заболеваемости внебольничными пневмониями по сравнению с 2019 г. снизилась более чем в 5 раз и составила 6,6%. Максимальный показатель заболеваемости ВП наблюдался в возрастной группе от 0 до 1 года (1 075,83 на 100 тыс.) [16].

В 2023 г. заболеваемость ВП в Российской Федерации увеличилась как по сравнению с предыдущим годом, так и в сравнении со среднемноголетним показателем (СМП), заболеваемость ВП в 2023 г. составила 498,02 на 100 тыс. населения. Темп прироста заболеваемости относительно 2022 г. составил 22,0 %, среднемноголетняя заболеваемость – превышена на 25,0 % (СМП – 398,41 на 100 тыс. населения) [18].

Анализ заболеваемости ВП детского населения в 2023 г. продемонстрировал прирост на 80,7% по сравнению с предыдущим годом (показатель заболеваемости в 2022 г. – 444,7 на 100 тыс.) и составила 803,6 на 100 тыс., что выше СМП (687,99) на 16,8%. Установлено неравномерное распределение заболеваемости ВП по субъектам Российской Федерации (от 93,6 до 1001,2 на 100 тыс. населения) с тенденцией к увеличению относительно предыдущего СМП в ряде регионов страны [18].

В этиологическую структуру лабораторно-подтвержденных случаев ВП в 2023 г. наибольший вклад внесли пневмонии, вызванные бактериальными агентами (77,43 на 100 тыс. населения). В 2023 г. отмечено значительное

снижение заболеваемости вирусными пневмониями в 2,3 раза (показатель в 2022 г. – 62,4 на 100 тыс. населения, в 2023 г. – 26,98 на 100 тыс. населения). В 2023 г. зарегистрировано 96 очагов групповой заболеваемости пневмонией, с числом пострадавших – 1172 человека, из них детей – 1153. В этиологии очагов ВП преобладали *M. pneumoniae* (65 очагов), микст-инфекции (27 очагов) и зарегистрированы единичные вспышки, обусловленные *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* [18, 19].

В 2023 г. на территории Нижегородской области согласно официальным данным Управления Роспотребнадзора по Нижегородской области заболеваемость ВП у детей составила 374,99 случая на 100 тыс. населения, из них бактериальной природы – 29,59 0/0000, хламидиозной – 0,2 0/0000, микоплазменной – 14,6 0/0000, вирусной – 12,92 0/0000 [20]. Следует отметить, что в 2023 г. в Нижегородской области зарегистрировано снижение заболеваемости ВП (на 13,5%) во всех возрастных группах, что обусловлено, развернутой кампанией вакцинации против гриппа, новой коронавирусной, пневмококковой и гемофильной инфекций и распространением новых геновариантов вируса SARS-COV-2 (Omicron), поражающего верхние дыхательные пути и не приводящего к развитию пневмонии [20].

Заболеваемость ВП у детей разных возрастных групп в Нижегородской области представлена на рисунке 3.

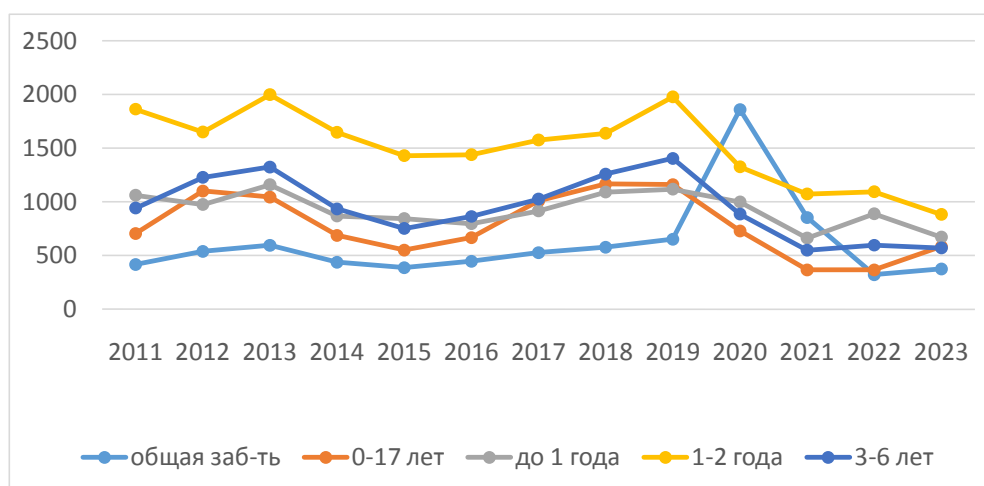


Рисунок 3 – Заболеваемость ВП у детей разных возрастных групп в 2011–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

Результаты сравнительного анализа заболеваемости ВП детей разных возрастных групп свидетельствуют о том, что наиболее пораженными являются дети от 1 до 2 лет.

Заболеваемость бактериальными пневмониями детей разных возрастных групп в Нижегородской области представлена на рисунке 4.

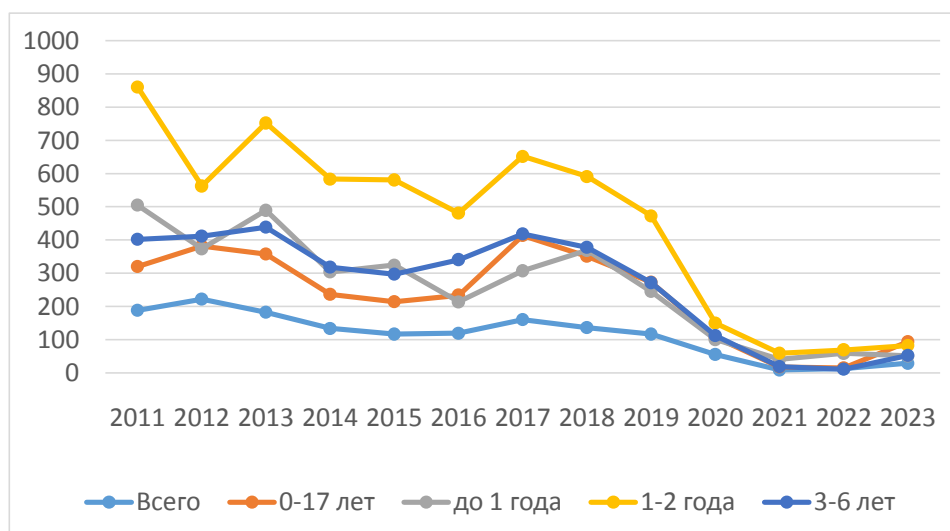


Рисунок 4 – Заболеваемость бактериальными пневмониями у детей в 2011–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

На рисунке 5 представлена динамика заболеваемости пневмококковыми пневмониями у детей Нижегородского региона в 2011-2023 гг. Так, максимальные показатели заболеваемости пневмококковыми пневмониями зарегистрированы в период с 2012 по 2017 гг. у детей в возрастной группе от 1 года до 2 лет; в 2018-2020 гг. у детей от 3 до 6 лет; в 2021 г. и 2022 г. у детей до года; а в 2023 г. отмечено снижение заболеваемости ВП во всех возрастных группах.

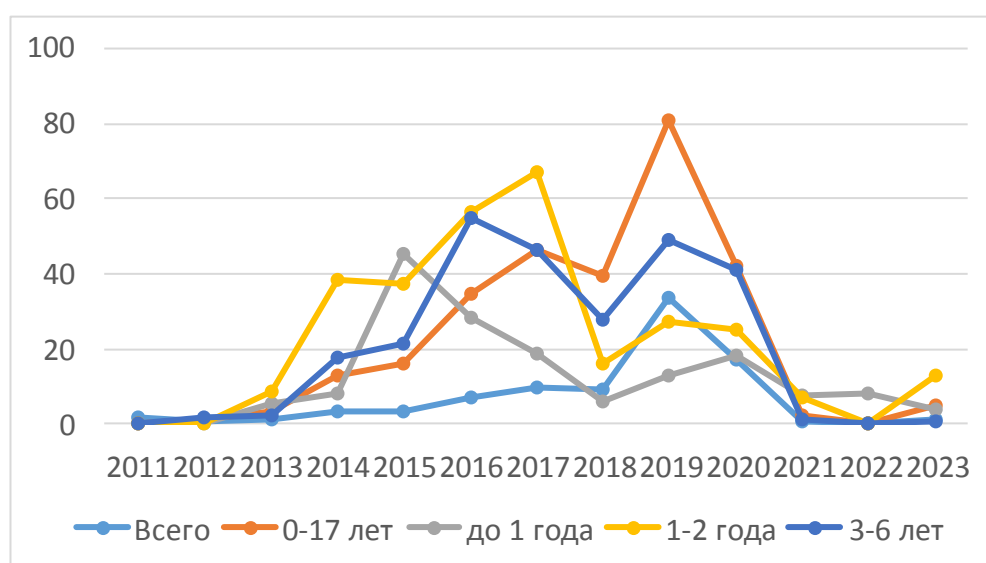


Рисунок 5 – Заболеваемость пневмококковыми пневмониями у детей в 2011–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

На рисунке 6 представлена динамика заболеваемости вирусными пневмониями детей Нижегородского региона в 2011-2023 гг. Диаграмма свидетельствует о преимущественном поражении вирусными пневмониями детей в возрасте до 1 года.

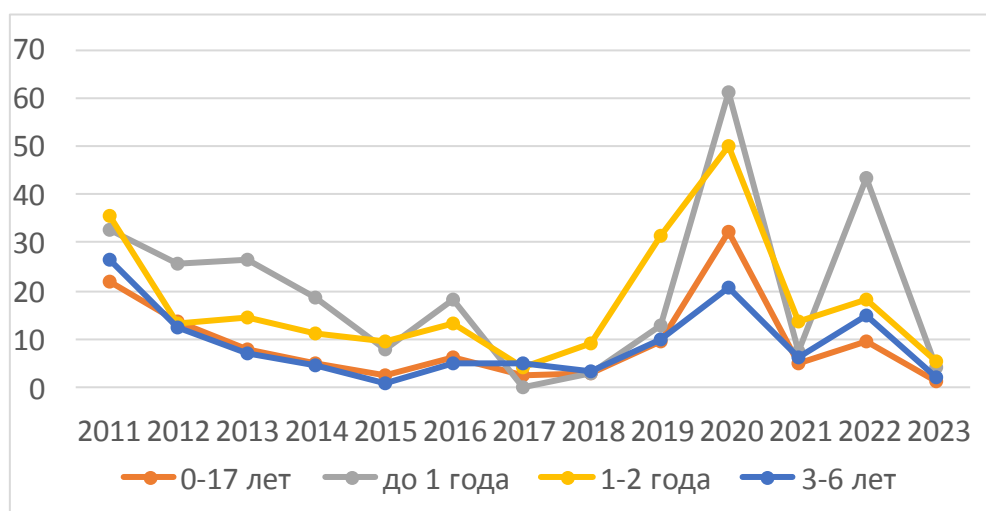


Рисунок 6 – Заболеваемость вирусными пневмониями у детей в 2011–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

Следует отметить, что с 2021 г. самостоятельной регистрации подлежат пневмонии, обусловленные *Chlamydomphila pneumoniae* (Рисунок 7) и *Mycoplasma pneumoniae* (Рисунок 8).

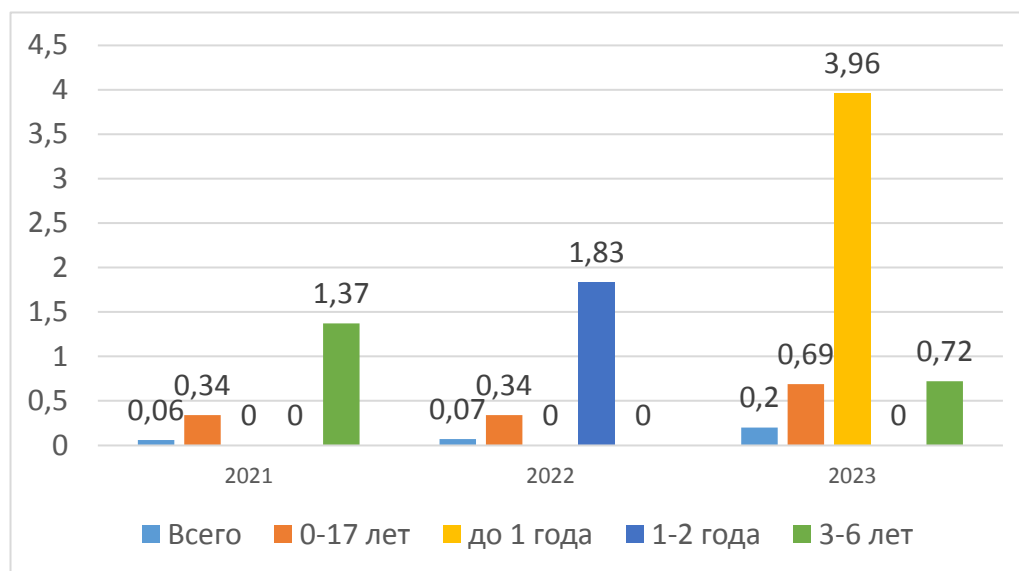


Рисунок 7 – Заболеваемость ВП, обусловленная *Chlamydomphila pneumoniae*, у детей в 2021–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

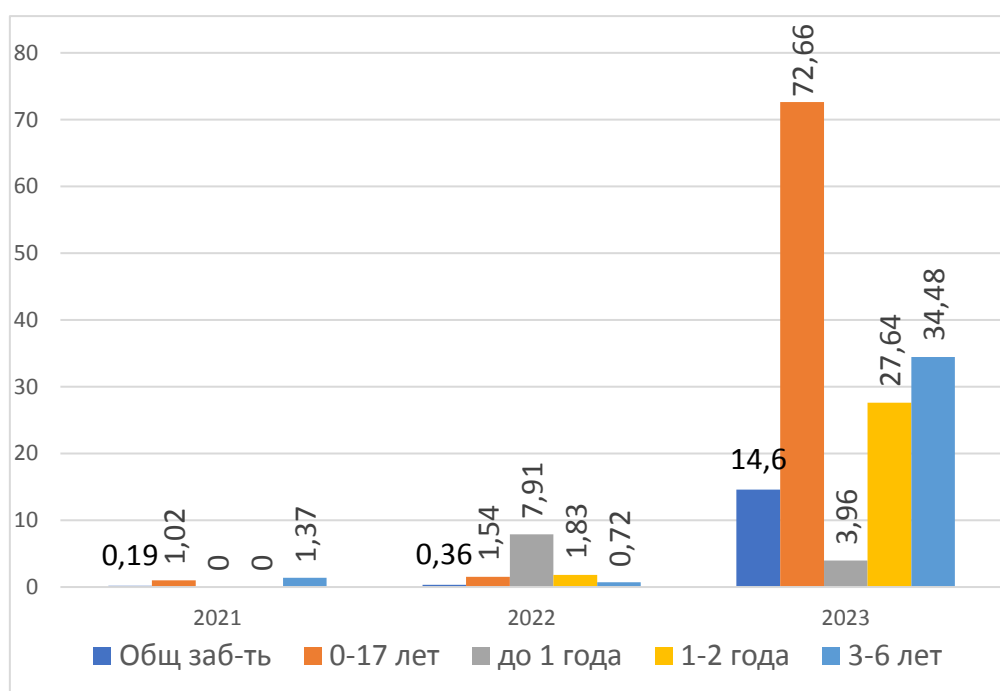


Рисунок 8 – Заболеваемость ВП, ассоциированная с *M. pneumoniae*, у детей в 2021–2023 гг. в Нижегородском регионе, в 0/0000

Таким образом, учитывая эпидемиологическую ситуацию по ВП на современном этапе, обусловленную видовым разнообразием этиопатогенов, появлением и распространением нового коронавируса SARS-CoV-2, высокой вероятностью сочетанного инфицирования пациентов с пневмонией, мониторинг бактериальных и вирусных возбудителей респираторных инфекций, в том числе внебольничной пневмонии, представляется важной задачей эпидемиологического надзора и контроля за инфекциями органов дыхания.

Глава 2. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПАТОГЕНЫ В ЭТИОЛОГИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

Внебольничная пневмония является полиэтиологичным заболеванием. Перечень потенциальных возбудителей ВП включает более 100 видов микроорганизмов, включая бактерии, вирусы, грибы. Но в большинстве случаев этиология ВП связана с меньшим числом патогенов: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*. и респираторными вирусами [21–23].

Следует отметить, что этиология пневмоний у детей часто связана с нормальной микрофлорой, колонизирующей верхние отделы дыхательных путей. Из многочисленных микроорганизмов лишь некоторые, обладающие повышенной вирулентностью, способны при попадании в нижние отделы дыхательных путей вызывать воспалительную реакцию. К числу таких возбудителей следует отнести, в первую очередь, пневмококк (*S. pneumoniae*) – 30–50% случаев заболеваний [1, 24–25].

Существенную роль в этиологии ВП играют так называемые «атипичные» микроорганизмы, на долю которых в сумме приходится от 8 до 30% случаев заболеваний: *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *L. pneumophila* [1, 26]. К редким возбудителям ВП, частота выявления которых составляет 3–5%, относятся: *H. influenzae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, а также другие энтеробактерии [27]. В очень редких случаях этиологическим агентом ВП может быть *Pseudomonas aeruginosa* (у больных муковисцидозом).

В таблице 1 представлена частота выделения различных возбудителей ВП по данным исследователей разных стран мира. Ряд авторов отмечают, что нередко у пациентов с ВП выявляется смешанная или ко-инфекция. Так, например, у каждого второго больного ВП пневмококковой этиологии удается обнаружить признаки активной микоплазменной или хламидийной инфекции [1]. Частота встречаемости ассоциаций микроорганизмов при ВП, по данным разных авторов, варьирует от 2,3 до 65,8% [28]. В литературе

имеются данные о самых разнообразных ассоциациях: пневмококковой инфекции с гемофильной, хламидийной, микоплазменной, легионеллезной, стафилококковой, синегнойной, стрептококковой, кишечной, кандидозной [29]. В связи с тем, что исследователи для индикации и идентификации этиопатогенов используют различные биологические субстраты и лабораторные методы, результаты являются разнородными.

Таблица 1 – Частота выделения различных инфекционных агентов у больных внебольничной пневмонией [28]

Страна	Частота выявления (%)					
	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>M. pneumoniae</i>	<i>C. pneumoniae</i>	<i>Legionella</i>	<i>S. aureus</i>
Россия	30,5–46,5	4,5–13,7	12,5	-	4,8	0,5–2,1
США	20–60	3–10	1–6	4–6	2–8	3–5
Великобритания	60–75	4–5	5–18	1,9	2–5	1–5
КНР	11,7	8,7	22,3	5,3	2,9	–
Швейцария	12,6	6,0	7,5	-	4,4	1,6
Нидерланды	11,3	10,7	12,0	3,0	2,5	3,8

Важно учитывать и тот факт, является ли один из возбудителей в такой ассоциации ко-патогеном, который облегчает проникновение в легкие другого микроорганизма, или каждый из них может быть отнесен к патогенам, находящимся в сложных взаимоотношениях (аддитивность, синергизм, антагонизм). Одновременное сосуществование нескольких инфекций, по мнению ряда авторов, может оказаться необходимым для противодействия эффективно функционирующей системе мукоцилиарного клиренса дыхательных путей [29]. В этой связи приводятся данные, подтверждающие цитопатическое действие *M. pneumoniae* на мерцательный эпителий слизистой оболочки бронхов и способность *Chlamydia* spp. блокировать двигательную активность ресничек респираторного тракта. Важным является и то обстоятельство, что среди населения весьма распространено бессимптомное носительство (это относится к

Chlamydophila pneumoniae). Наличие некоторых видов бактерий в респираторном тракте, по мнению ряда авторов, не приводит к развитию бронхолегочного воспаления, и обнаружение их в мокроте свидетельствует о контаминации материала верхних отделов дыхательных путей, а не об этиологической значимости этих микробов. К таким микроорганизмам относятся *Streptococcus viridians*, *Staphylococcus epidermidis* и другие коагулазанегативные стафилококки, *Enterococcus* spp., *Neisseria* spp. [30].

Пейзаж возбудителей ВП может различаться в зависимости от возраста больных, тяжести заболевания, наличия сопутствующей патологии. У пациентов, госпитализированных в терапевтические отделения, в этиологии ВП преобладают пневмококки, а на долю *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* суммарно приходится около 25,0%. Напротив, в этиологии тяжелых пневмоний, требующих лечения в отделении интенсивной терапии, возрастает роль *Legionella* spp., а также *S. aureus* и энтеробактерий [1]. Основные бактерии, вызывающие ВП у детей в различном возрасте представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные бактериальные возбудители ВП у детей разных возрастных групп [31]

Возбудители	Возрастная группа			
	Новорожденные	1–3 мес.	4 мес. – 4 года	5–18 лет
<i>S. pneumoniae</i>	+	+++	+++	+++
<i>H. influenzae</i>	+	+	+	±
<i>S. pyogenes</i>	–	+	+	+
<i>S. aureus</i>	++	++	+	+
<i>S. agalactiae</i>	+++	+	–	–
<i>E. coli</i>	++	+	–	–
<i>M. pneumoniae</i>	–	+	++	++++
<i>C. pneumoniae</i>	–	+	+	++
<i>L. pneumophila</i>	+	+	+	+
<i>C. trachomatis</i>	+	++	–	–
<i>B. pertussis</i>	±	++	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	+	++	++	+++

++++ очень часто, +++ часто, ++ относительно нечасто, + редко, ± очень редко, – нет.

Летальность при ВП различной этиологии представлена в таблице 3. Наиболее высокая летальность наблюдается при ВП, обусловленной *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *Legionella* spp., *S. pneumoniae*.

Таблица 3 – Летальность при внебольничной пневмонии [1]

Возбудитель ВП	Летальность, %
<i>S. pneumoniae</i>	12,3
<i>H. influenzae</i>	7,4
<i>M. pneumoniae</i>	1,4
<i>C. pneumoniae</i>	9,8
<i>Legionella</i> spp.	14,7
<i>S. aureus</i>	31,8
<i>K. pneumoniae</i>	35,7

2.1 Характеристика отдельных представителей бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии

2.1.1 «Классические» бактериальные возбудители внебольничной пневмонии

Представленные в научной литературе данные о пейзаже и частоте выявления бактериальных возбудителей ВП у детей разных возрастных групп различаются. Однако, все исследователи признают лидирующую роль *S. pneumoniae* в этиологии ВП у детей [30, 32, 33]. По данным ряда исследователей, у детей в возрасте от 3 месяцев до 5 лет ВП чаще всего обусловлена пневмококком (в 70,0 – 88,0 % случаев), *H. influenzae* типа *b* выявляется реже (до 10% случаев) [31, 32]. У новорожденных и детей до 3 месяцев основными возбудителями ВП бактериальной природы являются *S. agalactiae* (β-гемолитический стрептококк группы В), *E. coli*, *S. aureus*. Бактериальные пневмонии чаще всего развиваются у детей первого года жизни с привычной аспирацией пищи (с рефлюксом и/или дисфагией), а

также при первой манифестации муковисцидоза и иммунодефицита. По мере взросления ребенка в этиологической структуре ВП увеличивается доля *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. У детей до 2 лет пневмония, вызванная *H. influenzae* типа b, составляет 5,0 – 10,0%. У детей старше 5 лет сохраняется этиологическое и клиническое значение *S. pneumoniae*, на долю которого приходится 35,0 – 40,0 % всех случаев [4].

Таким образом, из бактериальных возбудителей в этиологии ВП у детей доминирует *S. pneumoniae*. Однако, в случаях тяжелого течения пневмонии возрастает доленое участие *S. aureus*, *H. influenzae*, бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [33]. Согласно данным глобального исследования (данные из 192 стран) большинство случаев смерти от ВП у детей связаны с бактериями *S. pneumoniae* и *H. influenzae* [30].

2.1.1.1 *Streptococcus pneumoniae*

Пневмококк – неподвижный ланцетовидный диплококк длиной 0,5-1,25 мкм. Впервые пневмококк был выделен Пастером в 1881 г. Этиологическую роль пневмококка в развитии пневмонии у человека доказали К. Френкель и А. Вейксельбаум. В мазках клинического материала пневмококки располагаются парами, каждая пара окружена толстой капсулой.

Бактерии вида *S. pneumoniae* – грамположительные, каталазо- и оксидазо-негативные факультативно-анаэробные микроорганизмы, в норме являются компонентом микробиоты верхних дыхательных путей человека [34]. Согласно современной классификации стрептококков, основанной на сравнении последовательностей гена 16S рРНК, пневмококки принадлежат к домену *Bacteria*, филуму (отделу) *Firmicutes*, классу *Bacilli*, порядку *Lactobacillales*, семейству *Streptococcaceae*, роду *Streptococcus*, виду *S.pneumoniae* [35].

Таксономическое положение основных бактериальных возбудителей ВП представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Систематическое положение основных бактериальных возбудителей ВП

Вид	Род	Семейство	Порядок	Класс	Филум	Домен
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillota</i>	<i>Bacteria</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Caryophanales</i>			
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Pasteurellales</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadota</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacterales</i>			
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia</i>					
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Pseudomonadales</i>			
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Legionella</i>	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionellales</i>			
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma</i>	<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasmatales</i>	<i>Mollicutes</i>	<i>Mycoplasmataota</i>	
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Chlamydophila</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiia</i>	<i>Chlamydiota</i>	
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Chlamydia</i>					

На мясо-пептонном агаре пневмококки образуют нежные полупрозрачные колонии диаметром около 1 мм, иногда они могут быть плоскими с углублением в центре. При культивировании пневмококков на 5% кровяном агаре наблюдается зона α -гемолиза вокруг колонии (в виде зеленоватой обесцвеченной зоны).

Строение клеточной стенки стрептококков типично для грамположительных бактерий. Её основой является пептидогликан со встроенными углеводами, тейхоевыми кислотами, липопротеинами и поверхностными белками. Для пневмококков дополнительно характерно наличие мощной полисахаридной капсулы, которая выполняет защитную функцию, препятствуя опсонизации и последующему фагоцитозу. Существует не менее 91 различных капсульных типов пневмококков, но большинство (более 90%) инвазивных заболеваний вызывается 23 сероварами.

К зеленым стрептококкам в настоящее время относятся группы *mutans*, *anginosus*, *bovis* и *mitis*. Фенотипически и филогенетически *S. pneumoniae* относят к кластеру *mitis* [37, 38]. Примечательно, что *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudopneumoniae* генетически наиболее близки между собой, проведение их дифференциации на основании анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК затруднительно (идентичность достигает более 99,0 %), поэтому необходимо учитывать нуклеотидные последовательности других консервативных генов [39, 40]. На рисунке 9 представлены филогенетические взаимосвязи 34 видов представителей рода *Streptococcus*, по данным сравнения гена 16S рРНК [39].

Пневмококки относятся к категории прихотливых микроорганизмов, поэтому их культивирование осуществляют на питательных средах, содержащих 5 – 7% крови (дефибринированная баранья кровь) или лошадиной сыворотки для реализации потребности в нативном белке животного происхождения, фолиевой кислоте и аминном азоте [36]. Изоляты *S. pneumoniae* характеризуются чувствительностью к оптохину

(этилгидрокупреину) и растворяются солями желчных кислот [37]. Для достижения высокой специфичности при идентификации пневмококков используются также среды, содержащие антибиотики (колистин и налидиксовую кислоту, или 5% гентамицин) для подавления роста сапрофитной флоры. При стереомикроскопии бактериальная культура пневмококков характеризуется мягкой «творожистой» консистенцией [36].

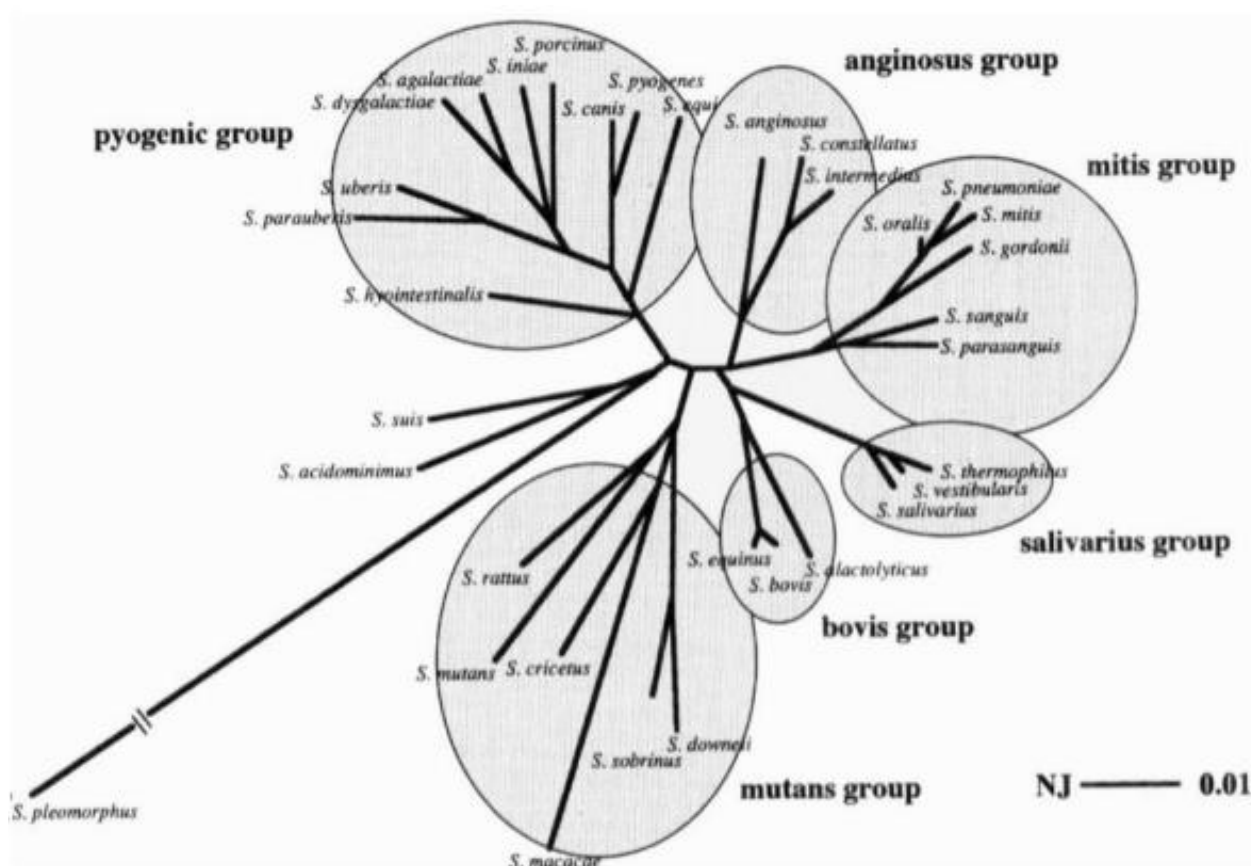


Рисунок 9 – Генетическое разнообразие представителей рода *Streptococcus* на основе сравнительного анализа гена 16S-рРНК [39]

Геном пневмококков содержит приблизительно 2,1 млн пар нуклеотидов (п.н.) в составе нуклеоида и дополнительно может иметь внехромосомные генетические элементы (плазмиды), за счет этого величина генома варьирует от 5 до 10%. [41, 42]. Для *S. pneumoniae* характерно низкое содержание ГЦ пар – 34–46% [42, 43].

Продemonстрированная в 1928 году Ф. Гриффитом возможность горизонтального переноса генетических элементов (путем конъюгации и трансформации) в пределах вида и/или рода (между близкородственными стрептококками группы *viridans*) обеспечивает высокую гетерогенность популяции пневмококков, определяет пластичность генома, а также играет большую роль в процессах приобретения детерминант антибиотикорезистентности.

Одним из основных отличительных признаков *S. pneumoniae* является антигенная структура полисахаридной капсулы. Для серотиповой идентификации микроорганизма используют «золотой стандарт» – реакцию набухания капсулы [44], впервые описанную Нейфельдом в 1902 году, реализуемую посредством последовательного тестирования изолятов с групповыми и факторными антисыворотками (против более 90 серотипов) [45, 46] и/или реакцию латексной агглютинации. Реакция набухания капсулы является трудоемкой, требует дорогих реагентов и является сложной для интерпретации [47], в связи с этим альтернативным вариантом является определение серотипа с использованием молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование), позволяющих детектировать гены синтеза полисахаридной капсулы (*cps*-локус) [48, 49].

По данным мультицентрового исследования, проведенного в 18 городах России, и основанного на анализе 223 штаммов пневмококка, наиболее часто ВП у детей до 5 лет обусловлена серотипом 19 (в 33,6 % случаев). Важное клиническое значение также имеют серотипы 6 (15,8%), 23 (8,9%) и 14 (7,2%). Другие серотипы пневмококка выделялись редко: менее, чем в 5% случаев [30].

Основной экологической нишей при колонизации пневмококками организма человека является слизистая оболочка носоглотки, колонизация которой наиболее часто протекает бессимптомно [50, 51, 52]. Частота и уровень носительства *S. pneumoniae* в популяции имеет самый высокий уровень (30 – 60%) у детей к двум-трем годам жизни ребенка и снижается

до <10% у взрослых [50]. Поскольку пневмококки колонизируют, в основном, верхние дыхательные пути, носительство является важным фактором при горизонтальной передаче патогена другим лицам [56]. Инфицирование пневмококком обычно происходит воздушно-капельным путем. Элиминация микроорганизма происходит в ответ на сформированный серотипоспецифический иммунный ответ на капсульные антигены пневмококка, а также на некоторые поверхностные белки [57].

Пневмококки относятся к условно патогенным микроорганизмам, способным на протяжении всей жизни обитать в организме человека, не вызывая никакого беспокойства. Но при определенных условиях бактерии начинают активно размножаться, вызывая развитие инфекционных процессов (синузитов, отитов, бронхитов, пневмоний) [58].

Учитывая значительный вклад пневмококковой инфекции в заболеваемость ВП у детей, во многих странах мира и в Российской Федерации иммунизация населения от пневмококковой инфекции внесена в Национальный календарь прививок.

Согласно позиции ВОЗ, вакцинация является единственным способом, который существенно влияет на заболеваемость и смертность от пневмококковой инфекции. Доказано, что максимальный защитный эффект достигается при рутинной вакцинации всех детей в возрасте до 2-х лет, а не только пациентов групп риска [59].

В настоящее время в мире выпускаются вакцины двух типов: полисахаридные (пневмококковая полисахаридная 23-валентная вакцина, ППВ) и конъюгированные (пневмококковые конъюгированные вакцины 10- и 13-валентные, ПКВ-10, ПКВ-13). Доказана более низкая эффективность полисахаридных вакцин в отличие от конъюгированных у детей до 2-х лет из-за незрелости иммунной системы [59, 60].

2.1.1.2 *Haemophilus influenzae*

Одним из основных возбудителей ВП у человека является *H. influenzae* (гемофильная палочка, палочка Афанасьева-Пфейффера). Гемофильная палочка относится к домену *Bacteria*, филуму (отделу) *Pseudomonadota*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Pasteurellales*, к семейству *Pasteurellaceae*, роду *Haemophilus*, виду *H. influenzae* [61].

H. influenzae – это мелкие полиморфные неспорообразующие грамотрицательные коккобациллы диаметром до 1 мкм. Они являются факультативными анаэробами. Их культивирование требует наличия в питательных средах факторов роста X (гемина) и/или V (никотинамидадениндинуклеотида) [62].

Бактерии вида *H. influenzae* способны образовывать защитную полисахаридную капсулу из полирибозилрибитолфосфата, то есть имеют в качестве мономера пентозу (рибозу) в отличие от других видов, содержащих гексозу, что, вероятно, и определяет более высокую вирулентность. Бескапсульные штаммы обозначаются как нетипируемые (NTHi). Капсула позволяет бактериальной клетке длительно выживать в организме человека, уклоняясь от иммунной системы, а также от действия антибактериальных препаратов.

Существует шесть различных антигенных серотипов инкапсулированного *H. influenzae*, обозначенных a, b, c, d, e, f на основе их капсульного полисахарида, и нетипируемые штаммы, серотип которых не определяется с помощью обычной реакции типоспецифической агглютинации антисыворотками. Различные серотипы и NTHi различаются по патогенному потенциалу. Капсула *H. influenzae* типа b является наиболее важным фактором патогенности, так как защищает микроорганизм от фагоцитоза, опсонизации и комплементопосредованного лизиса. Штаммы данного серотипа отличаются от других наличием восьми генов, ответственных за образование фимбрий, которые способствуют улучшению адгезивных и пенетрантных свойств. В отличие от других серотипов *H.*

influenzae типа b способна проникать в кровеносное русло. Гемофильная палочка оказалась первым микроорганизмом с полностью расшифрованным геномом в 1995 г. Геном штамма *H. influenzae* Rd содержит 1 830137 пар оснований [63].

Источником гемофильной инфекции является больной клинически выраженной формой заболевания (от ОРЗ до воспаления легких, менингитов и сепсиса), или здоровый носитель гемофильной палочки. В очагах гемофильной инфекции у детей частота носительства может достигать 70%. Бактерии *H. influenzae* можно выделить из носоглотки у 90% здоровых людей, причём на вирулентный тип b приходится около 5% от всех выделенных штаммов. Здоровое носительство может продолжаться от нескольких дней до нескольких месяцев. Носительство сохраняется даже при высоком титре специфических антител и даже при назначении высоких доз антибиотиков.

Группы риска по восприимчивости к гемофильной инфекции:

1. Возрастная группа детей с 6 мес. до 5 лет. (До 6 мес. в силу «материнской защиты» дети заболевают редко. Дети старше пяти лет и взрослые болеют редко.).
2. Дети, находящиеся на искусственном вскармливании.
3. Дети, находящиеся в закрытых учреждениях (дома ребенка, детские дома).
4. Лица с иммунодефицитными состояниями (онкологические больные, ВИЧ-инфицированные, реципиенты органов и др.).
5. Лица, перенесшие удаление селезенки.

Входными воротами инфекции служит слизистая оболочка носоглотки, на которой возбудитель может находиться длительное время. Дальнейшее развитие процесса во многом зависит от местной реакции слизистой респираторного тракта, где происходит размножение палочки, ее накопление и проникновение в кровь (бактериемия). В дальнейшем инфекция распространяется по органам и тканям (легкие, придаточные пазухи носа,

костная система, центральная нервная система, и другие) с возможностью развития сепсиса.

Гемофильная палочка является одной из частых причин пневмонии у детей, особенно у детей до 5 лет. Пневмония, обусловленная гемофильной палочкой, может быть очаговой или крупозной, часто осложняется плевритом – до 70% случаев у детей. Течение пневмонии затяжное, может быть волнообразным, трудно поддается лечению. Пневмонию могут вызывать как капсулированные, так и некапсулированные (нетипируемые) штаммы *H. influenzae*.

Оптимальной защитой от гемофильной палочки на сегодня считается своевременная вакцинация против инфекции. В странах Запада вакцинация внесена в Национальный календарь прививок уже более 30 лет, в России – с 2011 г. Вакцинация обеспечивает практически 100% защиту от развития гемофильной инфекции. Внесение в программы иммунизации младенцев конъюгированных вакцин против *H. influenzae* типа b привело к резкому снижению инвазивных Hib-инфекций во всех странах, где они применялись, благодаря сочетанию прямой и непрямой (коллективной) защиты [64]. Полисахаридно-белковые конъюгированные вакцины обладают способностью снижать носоглоточное носительство вакцинного серотипа/серогруппы, что обеспечивает основу защиты общества. Вакцинация против *H. influenzae* типа b не влияет на носительство других серотипов *H. influenzae* или NTНi, которые также могут, хотя и реже, вызывать инвазивные инфекции, включая пневмонию. Специфическая профилактика позволила добиться значительного снижения заболеваемости в России и ряде европейских стран [63].

2.1.1.3 *Klebsiella pneumoniae*

В настоящее время бактерии вида *K.pneumoniae* доминируют в этиологической структуре бактериемий и пневмоний, что диктует необходимость комплексного изучения их биологических свойств, включая

оценку их антибиотикорезистентности, определение факторов патогенности, чувствительности к бактериофагам и дезинфектантам.

K. pneumoniae – грамотрицательные бактерии, в соответствии с современной классификацией принадлежат к домену *Bacteria*, филуму (отделу) *Pseudomonadota*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Enterobacterales*, к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Klebsiella*, виду *K. pneumoniae*. Клетки клебсиелл в окрашенных мазках по Граму имеют вид коротких толстых палочек размером $(0,3-1,0) \times (0,6-6,0)$ мкм, которые располагаются одиночно, парами или цепочками, неподвижные. *K. pneumoniae* хорошо растут на простых питательных средах в широком температурном диапазоне от 12°C до 43°C. Различают S- и R-формы колоний на плотных питательных средах. На плотных питательных средах клебсиеллы образуют крупные слизистые выпуклые, мутные колонии диаметром 2-3 мм. На среде Эндо вырастают колонии клебсиелл красного цвета, на среде Плоскирева – светло-розового цвета, на среде Левина – сине-розового цвета. Ферментативные свойства клебсиелл отличаются разнообразием. Подавляющее большинство штаммов *K. pneumoniae* ферментируют D-глюкозу с образованием кислоты и газа (известны не образующие газ штаммы), сбраживают лактозу, сахарозу, L-арабинозу, мальтозу, D-маннозу, мелибиозу, L-раффинозу, салицин, трегалозу, целлобиозу, утилизируют калия цианид (KCN) и восстанавливают нитраты без образования сероводорода (H_2S); не способны синтезировать фенилаланиндезаминазу и не гидролизуют желатин [65].

K. pneumoniae устойчивы к неблагоприятным климатическим условиям: клебсиеллы были обнаружены в составе цианобактериальных матов Антарктики [66]. *K. pneumoniae* входят в состав микробиоты кожи, носоглотки и желудочно-кишечного тракта человека, а также широко распространены в окружающей среде [67, 68].

K. pneumoniae является эпидемически значимым патогеном, способным вызывать у человека различные по степени тяжести инфекции кровотока,

дыхательной и нервной систем, урогенитального тракта и опорно-двигательного аппарата, часто приводящие к тяжелым осложнениям [69–71]. Частота выявления *K. pneumoniae* при внутрибольничных пневмониях составляет 11,8%, при внебольничных пневмониях – 3,0–5,0% в Северной Америке, Европе и Австралии; 15,0 % – в Азии и Африке [72].

K.pneumoniae является уникальным микроорганизмом, способным быстро и легко приобретать гены устойчивости к антибактериальным препаратам. В настоящее время штаммы *K.pneumoniae* условно делят на «классические» (сКР, classical *K.pneumoniae*) и «гипервирулентные» (hvКР, hypervirulent *K.pneumoniae*). Большинство инфекций, обусловленные сКр-штаммами, проявляют себя как оппортунистические, а гипервирулентные hvКр-штаммы вызывают тяжёлые внебольничные инфекции не только у иммунокомпрометированных лиц, но и у здоровых людей [65].

В Российской Федерации, как и во всем мире, *K. pneumoniae* являются одним из актуальных возбудителей внутри- и внебольничных инфекций. Многоцентровые исследования показывают, что повсеместно нарастает уровень антибиотикорезистентности госпитальных штаммов клебсиелл, что связано с эпидемическим распространением генов бета-лактамаз, в том числе карбапенемаз [65, 73]. Высокая эпидемиологическая опасность широкого распространения генов резистентности к полимиксидам (*mcr*) и, как следствие, существенное сокращение возможности использования антибактериальных препаратов в отношении панрезистентных штаммов *K. pneumoniae*, обуславливают приоритетность микробиологического мониторинга.

2.1.1.4 *Staphylococcus aureus*

Бактерии рода *Staphylococcus spp.*, с одной стороны, являются одними из самых распространенных возбудителей инфекционных заболеваний, а с другой, входят в состав нормальной микрофлоры кожи и слизистых

практически у всех людей [74]. К настоящему времени описано более 40 видов бактерий рода *Staphylococcus*. Среди коагулазопозитивных стафилококков (*S.aureus*, *S.intermedius*, *S.delphini*, *S.schleiferi*, *S.hyicus*) важную роль в патологии человека играет только *Staphylococcus aureus*.

S. aureus – грамположительные кокки, неподвижные, спор не образуют. В соответствии с современной классификацией вид *Staphylococcus aureus* относится к домену *Bacteria*, филуму *Bacillota*, классу *Bacilli*, порядку *Caryophanales*, семейству *Staphylococcaceae*, роду *Staphylococcus*. Золотистый стафилококк способен вырабатывать устойчивость к антибиотикам и антисептикам, не теряет активности при высушивании, 12 часов может находиться под прямыми солнечными лучами, в течение 10 минут выдерживает температуру 100° С, не погибает в этиловом спирте и перекиси водорода. *S. aureus* каталазоположительный, ферментирует углеводы с образованием кислоты, расщепляет манит, восстанавливает нитраты в нитриты, разлагают мочевины, образуют лецитиназу.

Приблизительно 25,0–40,0% населения являются постоянными носителями этой бактерии, которая может сохраняться на кожных покровах и слизистых оболочках верхних дыхательных путей [74]. *S. aureus* способен вызывать широкий диапазон заболеваний, начиная с лёгких кожных инфекций: акне, фурункул, флегмона, абсцесс – до смертельно опасных заболеваний: пневмония, менингит, остеомиелит, эндокардит, инфекционно-токсический шок и сепсис [75, 76].

При длительной персистенции *S. aureus* на слизистых оболочках носа человека происходит постоянное обсеменение окружающей среды, что особенно опасно в организованных детских коллективах [77].

В связи с этим наиболее опасны бактерионосители *S. aureus*, которые по роду своей деятельности, контактируют с большим количеством людей (например, медицинские работники, сотрудники пищевых производств и др.).

У детей частота встречаемости *S. aureus* существенно колеблется – от 3,0–4,0 до 62,0% [78, 79]. Отмечено, что у носителей золотистого

стафилококка пневмококк выделяется в два раза реже по сравнению с переносителями [80].

Штаммы *S. aureus* обладают разнообразными генетическими факторами патогенности, благодаря которым *S. aureus* нередко вызывают развитие инфекционного процесса [81, 82].

В случаях, когда золотистый стафилококк становится причиной бактериальной пневмонии, развитие болезни происходит в результате попадания возбудителя в легкие гематогенным, аспирационным и/или ингаляционным путями. К предрасполагающим факторам развития стафилококковой пневмонии относятся длительное пребывание на искусственной вентиляции легких, интубация трахеи, нерационально подобранная антибактериальная терапия, применение иммуносупрессивных препаратов. Известно, что стафилококки способны вырабатывать токсины и ферменты, оказывающие повреждающее воздействие на легочную ткань с последующей её деструкцией и некротическим поражением [81, 82].

Стафилококковая пневмония характеризуется крайне тяжелым течением, наличием выраженных клинических проявлений и имеет высокий уровень летальности. По данным исследователей, показатель летальности при этом заболевании составляет от 30,0 до 70,0 % [83]. Наиболее часто стафилококковая пневмония встречается у детей в возрасте до пяти лет, а также у иммунокомпрометированных пациентов. Прогноз всегда серьезный. При отсутствии этиотропного лечения вероятность летального исхода крайне высока. К возможным осложнениям относятся гнойное поражение плевры, дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность, воспаление перикарда, оболочки головного мозга, формирование гнойных очагов в различных органах.. Значительный подъем уровня заболеваемости стафилококковыми пневмониями отмечается в холодное время года.

В зависимости от чувствительности к антибиотикам, различают метициллинчувствительный *S. aureus* (MSSA) и метициллинрезистентный *S. aureus* (MRSA). В последние десятилетия наблюдается возрастание числа

антибиотикорезистентных штаммов *S. aureus*. Во всем мире отмечается тенденция увеличения показателей заболеваемости, ассоциированной с MRSA. Анализ молекулярно-генетических характеристик *S. aureus* может служить основой для разработки эффективных мер профилактики и лечения госпитальных инфекций, вызываемых золотистым стафилококком [83].

2.1.1.5 *Moraxella catarrhalis*

Moraxella (Branhamella) catarrhalis – грамотрицательные, неподвижные, оксидазоположительные, аэробные диплококки, ранее считавшиеся условно-патогенными представителями нормальной микрофлоры носоглотки. Вид *Moraxella catarrhalis* относится к домену *Bacteria*, филуму (отделу) *Pseudomonadota*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Pseudomonadales*, к семейству *Moraxellaceae*, роду *Moraxella*. Впервые моракселы были выделены офтальмологом, швейцарцем Victor Морак, в честь которого получили свое название в 1896г. Культивируют моракселлы на кровяном или шоколадном агаре при 37° С в условиях аэробной инкубации. Культура *Moraxella catarrhalis* образует серо-белые полусферические колонии диаметром 1 мм. Для *M.catarrhalis* характерны положительные тесты на наличие оксидазы, липазы, бутират-эстеразы и бета-лактамазы, отсутствие способности окислять глюкозу, отсутствие пигментообразования. К факторам патогенности моракселл следует отнести наличие эндотоксина и фимбрий, способствующих прикреплению клеток к поверхности слизистой, колонизации и возникновению воспалительного процесса. Полная последовательность генома штамма *M.catarrhalis* CCUG 353 типа депонирована и опубликована в Японском банке данных ДНК, Европейском архиве нуклеотидов и Генбанке.

В настоящее время *M. catarrhalis* является этиологически значимым возбудителем инфекций верхних и нижних дыхательных путей у детей и взрослых, а также у лиц с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Степень колонизации *M. catarrhalis* верхних дыхательных путей

зависит от возраста пациента. По данным ряда авторов частота носительства *M. catarrhalis* у детей достигает 75,0%, тогда как у взрослых составляет всего 1,0–3,0% [84].

В настоящее время большинство клинических изолятов (более чем 90,0%) *M. catarrhalis* продуцируют β -лактамазы, что подчеркивает патогенный потенциал этого микроорганизма [85].

По данным литературы, *M. catarrhalis* также может вызывать у детей синуситы, трахеиты, бронхиты, пневмонии и, редко, конъюнктивиты и кератиты [86]. Причастность *M. catarrhalis* к инфекциям нижних отделов дыхательных путей подтверждают случаи выделения чистой культуры этих бактерий из крови, респираторных секретов, отобранных при помощи бронхоскопии у новорожденных и детей разных возрастов, особенно у детей с ослабленной иммунной системой [87].

Пневмонии, вызванные *M. catarrhalis*, как правило, характеризуются легким течением и отличаются от бронхитов только наличием инфильтратов в легких [88].

2.1.1.6 *Escherichia coli*

Вид *E. coli* – объединяет группу грамотрицательных палочковидных бактерий, среди которых существует большое число разновидностей, отличающихся по принадлежности к филогенетическим, клональным и серологическим группам, ферментативным и морфологическим свойствам, продукции колицинов, энтеро- и цитотоксинов, чувствительности к антибактериальным препаратам и бактериофагам, наличию генов вирулентности, определяющих патогенетические особенности заболеваний человека [89–92]. В соответствии с современной классификацией вид *Escherichia coli* относится к домену *Bacteria*, филуму (отделу) *Pseudomonadota*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку *Enterobacterales*, к семейству *Enterobacteriaceae*, роду *Escherichia*.

E. coli широко распространены в природе, являются облигатными микроорганизмами нормобиоты кишечника человека. *E. coli* являются индикатором фекального загрязнения, поскольку при выделении с фекалиями в окружающую среду сохраняют жизнеспособность без изменения своих биологических свойств [93].

Комменсальные *E. coli* – представители микробиоты кишечника человека играют важную роль в обеспечении колонизационной резистентности, иммуностимулирующей, витаминообразующей и ферментативной функций организма человека, а также обладают антимутагенным, антиканцерогенными свойствами [94]. Количественные и качественные изменения популяции *E. coli* в микробиоте кишечника человека могут приводить к развитию дисбиотических состояний [95].

Патогенность *E. coli* не является видовым признаком. Реализация патогенного потенциала и способность вызывать патологические процессы в организме человека ограничены генетическими детерминантами вирулентности конкретного штамма [96].

По морфологическим, ферментативным и культуральным свойствам патогенные и непатогенные разновидности эшерихий не отличаются друг от друга, поэтому поиск патогенных штаммов эшерихий основан на обнаружении факторов патогенности; адгезинов, колицинов, токсинов, гемолизинов и т. д. На плотных питательных средах (мясопептонный агар) бактерии образуют выпуклые непрозрачные колонии с ровным (S-формы) или волнообразным (R- формы) краем диаметром 3-5 мм. На селективно-дифференциальных средах колонии эшерихий принимают цвет, соответствующий окраске среды. На агаре Эндо лактоза-положительные эшерихии образуют темно-красные колонии с металлическим блеском, лактоза-отрицательные – бледно-розовые или бесцветные с темным центром. На среде Левина бактерии формируют темно-синие колонии с металлическим блеском, на среде Плоскирева – бледно-розовые или бесцветные полупрозрачные колонии, на кровяном агаре могут

демонстрировать гемолиз, обусловленный наличием альфа и бета-гемолизина..

Ферментативные свойства эшерихий отличаются большим разнообразием: как правило, типичные *E. coli* ферментируют глюкозу, лактозу, манит, рамнозу, сахарозу, арабинозу, дульцит, салицин, сорбит, образуют индол, не разжижают желатину, обладают лизиндекарбоксилазой и орнитиндекарбоксилазой, не расщепляют мочевины, не утилизируют цитрат Симмонса, дают положительную реакцию с метилротом и отрицательную Фогес-Проскауэра.

Высокая пластичность генома *E. coli* создает потенциал для появления штаммов, способных вызывать у человека широкий спектр заболеваний кишечной и внекишечной локализации. Известно, что патогенные штаммы произошли от комменсальных в результате горизонтального приобретения хромосомных и внехромосомных генов и оперонов. Пангеном *E. coli* состоит из консервативного ядра, представленного около 2200 генами, которые содержат жизненно важную генетическую информацию, и гибкого генофонда, включающего мобильные генетические элементы (бактериофаги, плазмиды, транспозоны, интегроны) более 13000 уникальных генов, чем объясняется высокий потенциал разнообразия заболеваний, вызываемых *E. coli* [97]. Приобретение нового генетического материала способствует быстрой эволюции и адаптации вида *E. coli* к новым и сложным экосистемам [98].

Патогенные для человека *E. coli* классифицируют на две большие группы «патотипы»: кишечные (diarrheagenic *E. coli*, DEC) и внекишечные (extraintestinal *E. coli*, ExPEC). Патотипы DEC и ExPEC различаются наличием генетических детерминант, которые кодируют экспрессию определенных факторов вирулентности и ассоциированы с патогенетическими и клиническими особенностями заболеваний. Штаммы ExPEC являются частью микробиоты кишечника здоровых людей, не вызывая диарейные заболевания. Патогенные *E. coli* вызывают заболевания в

определенном биотопе/системе за счет различных комбинаций факторов вирулентности. Тканевой тропизм связан с избирательным взаимодействием адгезинов *E. coli* с рецепторами эпителиальных клеток различных органов или систем [89].

Начиная с 1940-х годов F. Kaufmann, основываясь на антигенном разнообразии штаммов *E. coli*, предложил использовать О-антигены в качестве биомаркеров при классификации *E. coli*. Позже в 1977 г. была предложена комплексная схема серотипирования *E. coli* трехполиморфных антигенов: 164 варианта липополисахаридных О-антигенов клеточной стенки, 53 жгутиковых Н-антигенов и 100 капсульных К-антигенов. По мере изучения *E. coli* схема серотипирования постоянно пополняется новыми серотипами. В настоящее время определены 188 О- и 11 «неофициально» используемых ОХ-антигенов [99]. По сочетанию О- или ОК-антигенов *E. coli* разделяют на серологические группы (серогруппы), по содержанию ОН- или ОКН-антигенов – серологические варианты (серовары). В результате комбинаций ОКН-антигенов число возможных сероваров превышает 100 000 [100]. Количество часто встречающихся сероваров патогенных *E. coli* ограничено числом 200. Тем не менее постоянно появляются штаммы, которые не типизируются существующими сыворотками к известным О-, Н- и К-антигенам.

Много лет господствовало представление о том, что патогенность *E. coli* связана исключительно с принадлежностью к определенным О-антигенным группам. Однако, О-антигенная характеристика не во всех случаях четко коррелирует с наличием факторов вирулентности, определяющих принадлежность штамма к DEC, ExPEC и авирулентным *E. coli* [89].

Патотипы *E. coli*, вызывающие заболевания внекишечной локализации, имеют сложную филогенетическую структуру и характеризуются значительной пластичностью генома, широким спектром факторов вирулентности, включая адгезины, токсины, инвазины, факторы

приобретения железа, липополисахариды и капсулы, которые кодируют гены, расположенные на островах патогенности (PAI), плаزمидах и других мобильных генетических элементах. Штаммы ExPEC филогенетически отличаются от комменсальных *E. coli* и DEC. Они могут вызывать гнойно-септические инфекции мочевыводящих путей, брюшной полости, мягких тканей, менингит, пневмонии, бактериемию и др. [89, 101].

В госпитальных условиях ExPEC с потенциально патогенным набором генов вирулентности и резистентности к антимикробным препаратам (АМП) способствуют развитию инфекций, связанных с медицинской помощью (ИСМП). Предполагаемое ежегодное число случаев заболеваний ИСМП, пневмонией и сепсисом составляет от 6,7 до 8,6 млн. На основании экономических показателей заболеваемости, а также потенциальной летальности ExPEC являются важными глобально распространенными патогенами [102].

Общепризнано, что кишечник человека является основным резервуаром штаммов ExPEC, они входят в состав микробиоты здоровых людей, где сосуществуют с комменсальными *E. coli*, от которых отличаются наличием генов вирулентности и, как правило, принадлежностью к филогенетической группе B2 [103].

Штаммы ExPEC относятся к ограниченному числу O-групп: O1, O2, O4, O6, O7, O14, O15, O18, O21, O25, O75, O175 [31, 103, 161, 244, 285]. Они экспрессируют множество факторов вирулентности и не объединены общим механизмом патогенности. Факторы вирулентности ExPEC ассоциированы с возникновением различных внекишечных синдромов. Штаммы ExPEC человека и животных имеют общие факторы вирулентности [89].

Инфекции дыхательных путей, обусловленные *E. coli*, встречаются редко и зачастую связаны с инфекциями мочевыводящих путей, вызываемыми кишечной палочкой. У тяжелобольных пациентов пневмония, вызванная кишечной палочкой, может быть результатом микроаспирации секрета верхних дыхательных путей, ранее колонизированного этим

микроорганизмом. Следовательно, это причина нозокомиальной пневмонии. Однако пневмония, вызванная кишечной палочкой, также может быть внебольничной у пациентов с сопутствующими заболеваниями, такими как сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких и инфекция мочевыводящих путей, вызванная *E. coli*. Пневмония кишечной палочки обычно проявляется бронхопневмонией нижних долей и может осложняться эмпиемой. Бактериемия может предшествовать пневмонии и обычно, ее возникновение обусловлено другим очагом инфекции *E. coli* в мочевыводящих путях или желудочно-кишечном тракте.

Пневмонии, вызванные *E. coli*, возникают, в основном, как внутрибольничные, у детей, получавших ранее антибиотики, а также при заражении госпитальными полирезистентными штаммами. Внебольничные пневмонии этой этиологии вероятны у детей первых 2–3 месяцев жизни, чаще у недоношенных, лечившихся в отделениях 2-го этапа выхаживания. Кишечная флора преобладает у детей с привычной аспирацией пищи [104].

2.1.2 «Атипичные» бактериальные возбудители внебольничной пневмонии

Наиболее распространенными возбудителями «атипичной пневмонии» являются следующие бактерии: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Chlamydomphila psittaci*, *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Legionella pneumophila*.

2.1.2.1 *Mycoplasma pneumoniae*

Mycoplasma pneumoniae (*Mycoplasma pneumoniae*) – уникальная патогенная бактерия, лишенная клеточной стенки, наиболее известная как возбудитель респираторного микоплазмоза или микоплазменной пневмонии.

Микоплазмы – самые мелкие (как по размеру клеток, так и по размеру генома) самовоспроизводящиеся, способные к бесклеточному существованию организмы [105].

В соответствии с классификацией, предложенной Gupta R.S и соавт. в

2019 г. и основанной на данных полногеномного секвенирования, *M. pneumoniae* относится к роду *Mycoplasma*, семейству *Mycoplasma*, порядку *Mycoplasma*, классу *Mollicutes* [106, 107].

Клетка *M. pneumoniae* имеет длину 0,3–1 мкм и ширину 0,1–0,2 мкм, обладает подвижностью и полярностью. Содержит прокариотический нуклеоид, диффузно распределенный в виде нитей ДНК и РНК; рибосомы и трехслойную цитоплазматическую мембрану, толщиной 10 нм и состоящую из двух слоев – электронно-плотного и электронно-прозрачного, что обуславливает специфику таких морфологических и физиологических свойств микроорганизма как полиморфизм, пластичность, осмотическая неустойчивость к воздействию детергентов. *M. pneumoniae* имеют удлинённую форму с выступом на конце – органеллой прикрепления (Рисунок 10). Электронная микроскопия и анализ генома подтверждают отсутствие у *M. pneumoniae* флагелл и пилей [108].

Воспроизведение микроорганизма происходит путем бинарного деления, в процессе которого органелла прикрепления во время репликации и перед отделением нуклеоидов мигрирует на противоположный полюс клетки.

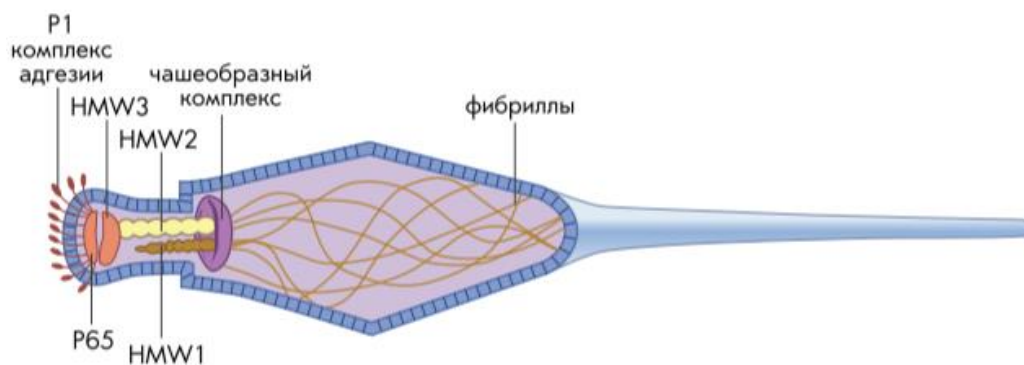


Рисунок 10– Строение органеллы прикрепления *M. pneumoniae* [109].

Почти 90% популяции клеток *M. pneumoniae* в культуре составляют одиночные грушевидные по форме клетки, а на долю 10% приходятся ветвящиеся полинуклеотидные тяжи. Объем клетки составляет менее 5% от

среднего объема клетки типичных бактерий, что не позволяет обнаруживать *M. pneumoniae* с помощью световой микроскопии, по этой же причине возбудитель не вызывает помутнения жидких питательных сред. Типичные колонии *M. pneumoniae* редко превышают 100 мкм в диаметре и требуют изучения их морфологии под стереомикроскопом.

M. pneumoniae располагает минимальным для клеток количеством генетического материала. ДНК представлена кольцевой двуспиральной структурой, содержащей 816 тыс. пар оснований, что составляет всего 1/6 генома *E. coli* [110]. Для генома микоплазм характерно низкое содержание гуанина и цитозина (Г+Ц) в ДНК, не более 38–40%.

Наряду с другими микоплазмами, *M. pneumoniae* обладает очень ограниченной метаболической и биосинтетической активностью, поэтому их культивируют на сложных питательных средах, обогащенных предшественниками нуклеиновых кислот, белков и липидов [111].

Микоплазмы не синтезируют пептидогликан клеточной стенки, так как в их геноме нет генов, ответственных за этот процесс. Отсутствие ригидной клеточной стенки обуславливает плеоморфизм клеток, что не позволяет отнести их ни к коккам, ни к палочкам. Это же свойство обеспечивает резистентность микоплазм к антибактериальным препаратам, подавляющим синтез клеточной стенки, прежде всего к пенициллину и другим β -лактамным препаратам [111].

Необходимые метаболиты микроорганизмы получают непосредственно из клеточных мембран организма-хозяина без затраты энергетических ресурсов, внедряясь или сливаясь с ними. Это свойство относит микоплазм к «мембранным паразитам» и наделяет их способностью к длительной персистенции в организме хозяина, позволяя таким образом «ускользнуть» от фагоцитоза [112]. Так, характерной особенностью *M. pneumoniae*, как и всех представителей рода *Mycoplasma*, является потребность в стеролах (холестерине и его производных). В отсутствие жесткой клеточной стенки стеролы являются необходимыми компонентами трехслойной клеточной

мембраны, обеспечивающей структурную поддержку этих хрупких микроорганизмов. В инфицированных тканях микоплазмы добывают стеролы непосредственно из клеточных мембран клетки-хозяина. Аналогично микроорганизм абсорбирует предшественники нуклеиновых кислот и не синтезирует пурины и пиримидины *de novo* [111].

Еще одним структурным компонентом, необходимым для внеклеточной выживаемости микоплазм, является белковый каркас, формирующий цитоскелет. К возможным функциям цитоскелета, помимо поддержания формы клетки, относят обеспечение полярности, связанной с прикреплением к субстрату и подвижностью, а также цитокинез, включая образование борозды деления и сегрегацию хромосом.

Спектр респираторных заболеваний, вызываемых *M. pneumoniae*, связан со способностью патогена к тесному взаимодействию с эпителиальной тканью дыхательных путей. Механическое прикрепление является предпосылкой для повреждения эпителия, что приводит к прекращению движения ресничек мерцательного эпителия и подавлению мукоцилиарного транспорта, апоптозу, локализованному повреждению респираторного эпителия и гиперактивации иммунного ответа [109]. Нарушение функций ресничек сохраняется до года. Процесс прикрепления и инвазии представлен на рисунке 11. При инвазии клетки микроорганизма персистируют в цитоплазме клеток хозяина и/или находятся в ассоциации с клеточным ядром. Внутриклеточная локализация способствует уходу от иммунного ответа хозяина и соответственно хроническому течению инфекции.

Прикрепление к поверхности клеток хозяина является важным этапом для выживания микроорганизма и патогенеза, а белки цитoadгезии считаются основными факторами вирулентности микоплазм. В цитoadгезии *M. pneumoniae* к клеткам организма-хозяина ключевая роль принадлежит поляризованной органелле прикрепления. Мембрана органеллы обогащена трансмембранным адгезином P1 и связывающими белками B (P90) и C (340) [113].

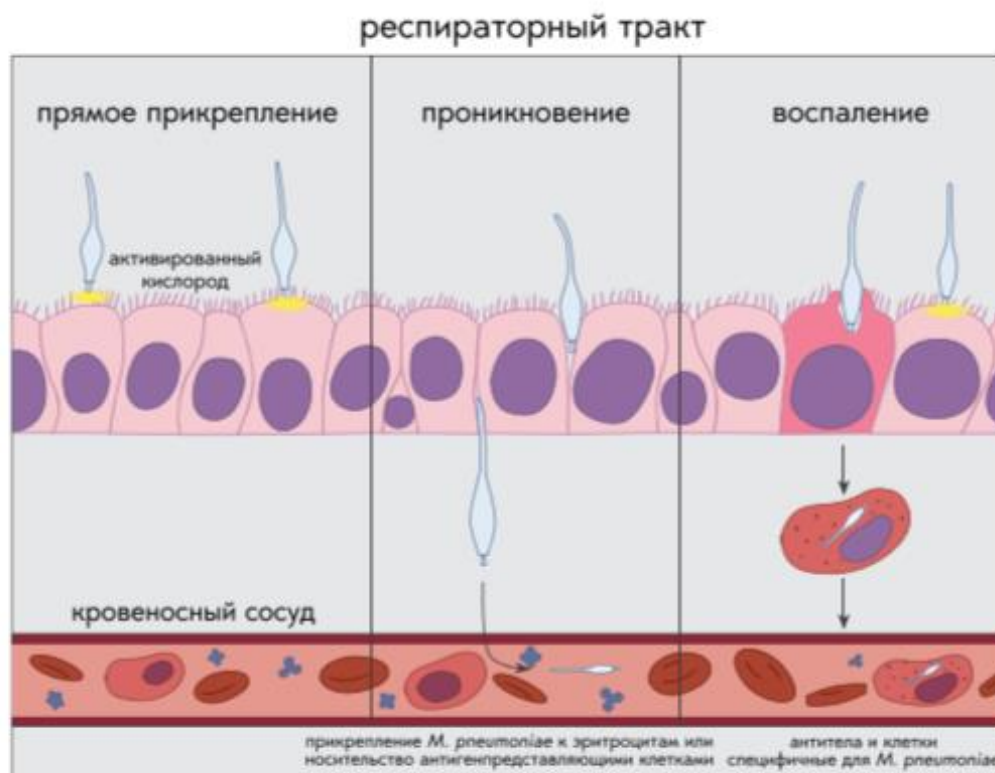


Рисунок 11 – Основные этапы инвазии *M. pneumoniae* в клетки дыхательного эпителия [109]

В основе структуры органеллы находится чашеобразный комплекс, который содержит белки P200, TopJ, P24, P28, P41 (HMW2-S) и взаимодействует с клеточной мембраной. Исследования показывают, что входящие в комплекс белки P41 и P24, необходимы для нормального взаимодействия между органеллой прикрепления и телом клетки. При отсутствии P41 органелла прикрепления во время скольжения отделяется от тела клетки, при этом белки P41 и P24 имеют решающее значение для правильного выбора времени и местоположения сборки органеллы прикрепления во время роста и развития клеток [109]. После прикрепления к основанию ресничек эпителиальной клетки микоплазмы способны активно перемещаться по поверхности клетки-хозяина. Этот феномен был назван скользящей подвижностью. Поскольку единственной наблюдаемой потерей функции в клетках этого патогена является трехкратное уменьшение скорости скольжения, можно предположить, что оптимальная скользящая

подвижность необходима для эффективного взаимодействия с клетками респираторного эпителия человека и их колонизации. Молекулярный механизм, лежащий в основе скользящей подвижности у *M. pneumoniae*, пока остается неясным, хотя было идентифицировано большое количество генов, потери которых влияют на морфологию колоний *M. pneumoniae* и скользящую подвижность [110].

Колонизируя слизистую оболочку респираторного тракта, микоплазмы продуцируют супероксидные анионы и перекись водорода, которые вызывают повреждения плазматической мембраны клетки-хозяина и определяют патогенность возбудителя. Супероксидный анион, продуцируемый *M. pneumoniae*, подавляет активность каталазы, снижая ферментативный распад внутриклеточных пероксидов, и делает клетку-хозяина более восприимчивой к окислительному повреждению. Гем-адсорбация и гемолиз эритроцитов у морской свинки, вызываемые этим микроорганизмом, также опосредованы пероксидами. Это свойство было положено в основу диагностического теста, позволяющего отличить *M. pneumoniae* от других комменсальных микоплазм, которые обычно встречаются в дыхательных путях человека, но подобным образом не адсорбируются. Поглощение микроорганизмом лактоферина в клетках организма-хозяина — еще один возможный механизм формирования локального повреждения путем образования реактивных гидроксильных радикалов в результате попадания комплексов железа в микроокружение, которое становится локально кислотным, и также индуцирует образование пероксида водорода (H_2O_2) и супероксид-анионов. В дополнение к прямому окислительному повреждению H_2O_2 может активировать тирозинкиназа-зависимые сигнальные пути, приводящие к aberrантной активации иммунной системы [109].

В пневмоцитах II типа, инфицированных *M. pneumoniae*, наблюдается увеличение концентрации интерлейкина-8 (IL-8), фактора некроза опухоли (TNF- α) и продукции интерлейкина-1 (бета) мРНК, что подтверждает

предположение о том, что в результате цитoadгезии микроорганизма к эпителиальным клеткам дыхательных путей человека происходит увеличение числа лимфоцитов и других воспалительных клеток, а также образование цитокинов, которые впоследствии индуцируют образование воспалительных инфильтратов. В клетках, колонизированных *M. pneumoniae*, в результате местного повреждения может развиваться ряд цитопатических эффектов: клетки эпителия могут потерять реснички; внутри цитоплазмы под действием вакуолизирующего цитокина возможно образование вакуолей; могут наблюдаться глубокие изменения клеточного метаболизма – снижение потребления кислорода; замедление углеродного обмена и поглощение аминокислот, что, в конечном итоге, приводит к оголению и повреждению эпителия. Некоторые клинические проявления микоплазменной инфекции, например, стойкий, непрекращающийся кашель, являются следствием описанных выше субклеточных процессов [114].

До недавнего времени считалось, что *M. pneumoniae* не продуцирует экзотоксины, однако обнаружение специфического CARDS-токсина (Community-Acquired Respiratory Distress Syndrome Toxin) изменило взгляды исследователей. Было обнаружено, что первоначально идентифицированный как поверхностно-активный белок А (SP-A), CARDS-токсин некоторой частью своей длины схожий с субъединицей S1 коклюшного токсина, обладает АДФ-рибозилтрансферазной активностью [115]. Его общая структура, выявленная с помощью рентгеновской кристаллографии, уникальна по сравнению с другими АДФ-рибозилирующими бактериальными токсинами. Подобные белки кодируются в геномах лишь некоторых других микоплазм, делая CARDS-токсин микоплазменно-специфической молекулой. Экспериментально было доказано, что CARDS-токсин усиливает вирулентность *M. pneumoniae*. При взаимодействии этого патогена с клетками организма-хозяина индуцируется транскрипция гена (MPN372), кодирующего CARDS-токсин, и повышаются уровни этого белка, поддерживая его роль во взаимодействии с клеткой хозяина. Искусственное

введение в организм экспериментальных животных очищенного рекомбинантного CARDS-токсина воспроизводит существенные особенности клинической картины респираторного микоплазмоза, включая увеличение производства цитокинов, эозинофилию и гиперреактивность дыхательных путей, очень напоминающих клиническую картину астмы. Подобно тому, как это происходит в клетках культуры тканей, обработанных CARDS-токсином, в инфицированных участках дыхательных путей животных обнаруживается повреждение реснитчатого эпителия. Положительная корреляция между продукцией CARDS-токсина и тяжестью заболевания *M. pneumoniae* свидетельствует о значимости этого токсина как детерминанты заболевания. Кроме того, у пациентов с положительным тестом на ДНК *M. pneumoniae* может наблюдаться положительная реакция на антитела к CARDS-токсину, что подтверждает его роль в патогенезе данного заболевания человека. Рекомбинантный CARDS-токсин также стимулирует вакуолизацию или патологическое изменение клеток бронхиального эпителия. В последнее время всё чаще обсуждается роль образования бактериальных биоплёнок и капсульных структур в патогенезе и персистенции микоплазменных инфекций. Считается, что в составе биоплёнок патогенные клетки сохраняются на протяжении длительного времени и могут являться причиной формирования очагов хронической инфекции, а также влиять на устойчивость патогена к иммунной защите организма-хозяина и антимикробным препаратам. Свойства капсул, описанных у *M. pneumoniae*, остаются недостаточно изученными, однако исследователи предполагают, что эти структуры способствуют адгезии бактериального патогена к клеткам-хозяевам и могут оказывать на них токсическое действие [116].

M. pneumoniae вызывает заболевания верхних и нижних дыхательных путей, включая внебольничную пневмонию, фарингит, трахеит, трахеобронхит. Пневмонии микоплазменной этиологии составляют около 4–8,0% от общего числа ВП, во время эпидемических подъемов это значение может увеличиваться до 20,0–40,0%, а в закрытых коллективах до 70,0%

[117]. Кроме того, некоторые внелегочные проявления и постинфекционные осложнения могут быть также ассоциированы с *M. pneumoniae*.

Возбудитель передается воздушно-капельным путем при контакте с больными манифестной или бессимптомной формой заболевания. Инкубационный период может составлять от 7 до 14 суток (в отдельных случаях до 23 дней), период контагиозности – от 5 дней до нескольких недель в зависимости от формы заболевания. Из-за особенностей строения и жизнедеятельности патогена для распространения заболевания необходим продолжительный тесный контакт, поэтому для микоплазменных инфекций характерны внутрисемейные случаи заболеваний, а также вспышки в организованных коллективах закрытого и полужакрытого типа, таких как школы, больницы, военные части, религиозные общины и учреждения для людей с ограниченными умственными возможностями. Наибольшая заболеваемость микоплазменными инфекциями отмечается у детей. У данной возрастной группы этот патоген вызывает до 40% случаев внебольничных пневмоний и является причиной госпитализации в 18% случаев. Согласно данным ряда исследований, полученным с использованием серологических, культуральных и молекулярных методов, пневмонии микоплазменной этиологии редко регистрируются у пациентов в возрасте до 5 лет и наиболее распространены среди школьников в возрасте до 15 лет с последующим спадом заболеваемости у взрослой популяции пациентов. Тем не менее инфицирование и развитие пневмонии возможно, как у взрослых, так и у детей в возрасте до 5 лет [109]. В совокупности эти исследования доказывают, что *M. pneumoniae* следует рассматривать как возможный этиологический агент ВП у лиц всех возрастов (с различной тяжестью заболевания).

Распространение и развитие микоплазменной инфекции носит эпидемический характер. Вспышки, которые могут охватывать широкие географические регионы, имеют тенденцию возникать каждые 3–7 лет и продолжаются в течение 1–3 лет. Предположительно, продолжительность

эпидемических вспышек связана с длительным инкубационным периодом, малой контагиозностью, относительно низкой скоростью передачи и способностью к длительной персистенции в респираторном тракте организма-хозяина. Согласно результатам ряда исследований, значительную роль в эпидемиологии заболеваний может играть изменение первичной структуры адгезина P1. Многолетние наблюдения показывают, что два наиболее часто выделяемых из клинических образцов подтипа *M. pneumoniae* имеют различия в последовательности повторяющихся элементов RepMP2/3 и RepMP4 в гене белка P1. Предполагается, что циклические эпидемии, имеющие тенденцию возникать каждые 3–5 лет, могут быть связаны с переходом от одного подтипа P1 к другому. Поскольку эти два основных подтипа являются иммунологически различными, доминирование одного из них может вызывать временный коллективный иммунитет, который защищает от инфицирования возбудителем этого варианта, позволяя второму проявиться. Действительно, было зарегистрировано чередование преобладания штаммов подтипа 1 и подтипа 2 в популяции. Однако, в литературе также представлены данные об одновременной циркуляции обоих вариантов [109].

Респираторные инфекции, вызванные *M. pneumoniae*, в некоторых случаях приводят к тяжелым осложнениям, среди которых можно отметить абсцессы лёгких, облитерирующие бронхолиты с последующей пневмонией, клеточный бронхолит, бронхоэктазы, плевральный выпот с эмпиемой, хронический интерстициальный фиброз и респираторный дистресс-синдром у взрослых. Случаи тяжелого течения микоплазменной пневмонии с летальным исходом были описаны, но на сегодня остаются крайне редкими. Смертельные случаи были зарегистрированы как среди здоровых молодых людей, так и среди пожилых людей с сопутствующими заболеваниями [109].

В настоящее время имеется много сообщений о легком, почти бессимптомном течении инфекции, в ряде случаев, диагностируемой только

рентгенологически. Чаще всего микоплазменная пневмония протекает как очаговая пневмония. Рентгенологические признаки атипичной пневмонии микоплазменной этиологии не отличаются от признаков вирусных инфекций нижних дыхательных путей и представляют собой картину по типу «матового стекла». Более выраженные рентгенологические изменения обычно встречаются в нижних долях лёгких. Односторонние плевральные выпоты более распространены у детей [109].

При микоплазмозе вентиляционная функция лёгких снижается, уменьшается энергетический резерв дыхательных мышц, объем лёгких и бронхиальная проходимость, а также значительно замедляется процесс очищения дыхательных путей от слизи и сопутствующей микробиоты. Снижение функций дыхательной системы и цилиарной активности мерцательного эпителия способствует инвазивности возбудителя, возможности экзогенной реинфекции и проникновению в ткань лёгкого других патогенных микроорганизмов. Таким образом, воздействие микоплазменной инфекции на функции респираторных путей может способствовать развитию смешанной инфекции микоплазменно-вирусной или микоплазменно-бактериальной, которая характеризуется, как правило, тяжелым течением с осложнениями.

Стоит отметить, что *M. pneumoniae* иногда может спровоцировать широкий спектр внелегочных патологий [118]. В первую очередь речь идет о поражении центральной нервной системы (ЦНС). Чаще всего у таких пациентов регистрируется энцефалит, менингоэнцефалит, полирадикулоневрит и асептический менингит. Часто манифестная респираторная инфекция предшествует симптомам поражения ЦНС. Предполагается, что осложнения могут возникнуть в результате прямого воздействия нейротоксина, вырабатываемого патогеном. Дерматологические проявления, включающие крапивницу, анафилактическую пурпуру, мультиформную экссудативную эритему и синдром Стивенса–Джонсона, также являются одними из наиболее распространенных и тяжелых

внелегочных осложнений и встречаются у 25,0% пациентов с инфекциями, вызванными *M. pneumoniae* [109].

Среди других неспецифических проявлений называют септический артрит, острый рабдомиолиз, конъюнктивит, ирит, увеит, гемолитическую анемию, почечную дисфункцию, а также нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта. В последние годы активно обсуждается участие этого патогена в патогенезе бронхиальной астмы. Вопрос, является ли *M. pneumoniae* главной причиной астмы, или же микоплазменная инфекция – всего лишь кофактор в её развитии, дискутируется [119, 120]. В литературе, посвященной лечению астмы, имеются данные об успешном применении макролидов у пациентов с подтвержденной *M. pneumoniae* – инфекцией [121].

При подозрении на микоплазменную пневмонию, лечение осуществляют тетрациклином, доксициклином, эритромицином, мидекамицином или азитромицином в течение 10–14 суток. Одновременно с этиотропными мероприятиями следует проводить патогенетическое лечение. При всех формах микоплазмозов прогноз благоприятный. Реконвалесценты после тяжелой формы микоплазмоза с пневмонией подлежат врачебному наблюдению в течение 3 месяцев. Специфической профилактики при респираторных микоплазмозах нет [122].

2.1.2.2 Хламидии

Хламидии – облигатные внутриклеточные микроорганизмы родов *Chlamydia* и *Chlamydophila*, относящиеся к домену *Bacteria*, филуму *Chlamydia*, классу *Chlamydia*, порядку *Chlamydiales*, семейству *Chlamydiaceae* [123].

Патогенными для человека являются следующие виды хламидий: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae* и *Chlamydophila psittaci*.

C. pneumoniae объединяет 4 биовара. Респираторные инфекции у

человека вызывает биовар TWAR.

C. psittaci вызывает различные заболевания у человека, животных и птиц, включает 13 сероваров. Основными хозяевами этого вида являются птицы. У человека этот возбудитель вызывает пситтакоз.

Один и тот же возбудитель может вызывать как острую, так и латентную инфекции с длительным носительством (персистенцией).

Хламидии представляют собой мелкие грамотрицательные бактерии шаровидной или овоидной формы размером 250–1500 нм, содержащие РНК, ДНК, клеточную стенку и рибосомы [124].

Геном хламидии имеет небольшой размер и составляет не более 22,0% генома кишечной палочки штамма K12. Он состоит из нуклеоида (бактериальной хромосомы) и плазмид. Большинство штаммов рода *Chlamydia* имеют плазмиду рСТ. Плазмиды хламидий несут «гены адаптации», многие из которых представляют транспозоны. Анализ генома позволил выделить 895 генов, которые кодируют различные белки. Сходство с ранее исследованными белками других бактерий помогло определить функциональное назначение 604 (68%) кодируемых белков. Следует отметить, что 35 белков (4%) имеют сходство с белками других бактерий. 255 (28%) белков отличаются от ранее изученных. Проведенный анализ аминокислотных последовательностей показал, что 256 (29%) белков хламидий в пределах одного генома группируются в 58 семейств. Сходное группирование белков имеет место у бактерий, обладающих геномом небольшого размера, таких как микоплазмы и *H. influenzae*.

Хламидии – облигатные внутриклеточно паразитирующие бактерии, не культивируются на искусственных питательных средах, используют для жизнедеятельности аденозинтрифосфат и ферментные системы клетки-хозяина. Спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют.

Внутри клетки хозяина хламидии не способны самостоятельно окислять глутамат и пируват, а также осуществлять фосфорилирование и активное окисление глюкозы. Они используют ферментные системы и АТФ

клетки хозяина, что обуславливает их метаболическую и энергетическую зависимость от клеток хозяина; в связи с этим, хламидии называют «энергетическими паразитами».

Клеточная стенка хламидий состоит из внутренней цитоплазматической и внешней мембран, разделенных периплазматическим пространством. Каждая мембрана двойная. В отличие от других грамотрицательных бактерий, клеточная стенка хламидий не имеет пептидогликанового слоя. В состав клеточной стенки входят пептиды и гликолипиды (аналоги липополисахаридов клеточной стенки грамотрицательных бактерий). Основными белками клеточной стенки хламидий являются белки внешней мембраны OMP2 (Outer membrane protein) и MOMP (Major Outer Membrane Protein). Белок OMP2 участвует в процессах прикрепления хламидий к эукариотическим клеткам. Белок MOMP выполняет функции как адгезина, так и порина [124]. Особенность всех хламидий – сложный цикл размножения (Рисунок 12). В нем участвуют две формы микроорганизма [125].

- Элементарные тельца хламидий – это форма хламидий, которые способны к внеклеточному существованию и передаются от человека к человеку. Они представляют собой мелкие сферические образования размером 0,2–0,4 мкм с толстой клеточной стенкой, окрашиваются по Романовскому–Гимзе в красный (розовый) цвет, метаболически не активны, не способны к делению, не чувствительны к антибиотикам. Элементарные тельца способны к адгезии на эпителиальных клетках с помощью хламидийных мембранных протеинов MOMP и POMP (Polymorphic Membrane Protein). Хламидии в форме элементарных телец прикрепляются к клеткам макроорганизма (обычно к цилиндрическому или переходному эпителию). Через 8 часов после проникновения путем эндоцитоза внутрь эукариотической клетки элементарные тельца трансформируются в ретикулярные тельца хламидий.

- Ретикулярные (сетчатые) тельца являются внутриклеточной

(вегетативной) формой хламидий. Они крупнее элементарных тельц в несколько раз, их размер достигает 0,8–1,5 мкм, имеют тонкую клеточную стенку, окрашиваются по Романовскому–Гимзе в голубой или фиолетовый цвет, метаболически активны, способны к бинарному делению, чувствительны к антибиотикам. Это форма хламидий паразитирует в клетке и размножается. Располагаясь внутри вакуоли, занимающей большую часть зараженной клетки, ретикулярные тельца делятся, образуя множество особей. Микроколонии хламидий внутри вакуолей известны как «хламидийные включения». Хламидийные включения не сливаются с лизосомами вплоть до последней стадии цикла размножения. Спустя 24 часа ретикулярные тельца хламидий начинают уплотняться, окружаясь клеточной стенкой, и превращаются в элементарные тельца хламидий. Затем вакуоль разрывается, элементарные тельца хламидий освобождаются из зараженной клетки, и хламидии проникают в соседние клетки. Полный цикл развития хламидий занимает 48–72 часа.

Внутри клеток делящиеся ретикулярные тельца формируют околядерные скопления – тельца включений, которые окутаны оболочкой (мантией), от чего и происходит название хламидий. В последнее время выделяют еще одну форму хламидий – так называемые аберрантные тельца или латентную форму. Эти тельца представляют собой внутриклеточную неразмножающуюся (некультивируемую) форму, отвечающую за персистенцию возбудителя. Они лишены МOMP и секретируют в большом количестве стрессовые протеины (Chsp60 – heat shock proteins *pesifiquedes chlamidiae*, белки теплового шока массой 60 кД).

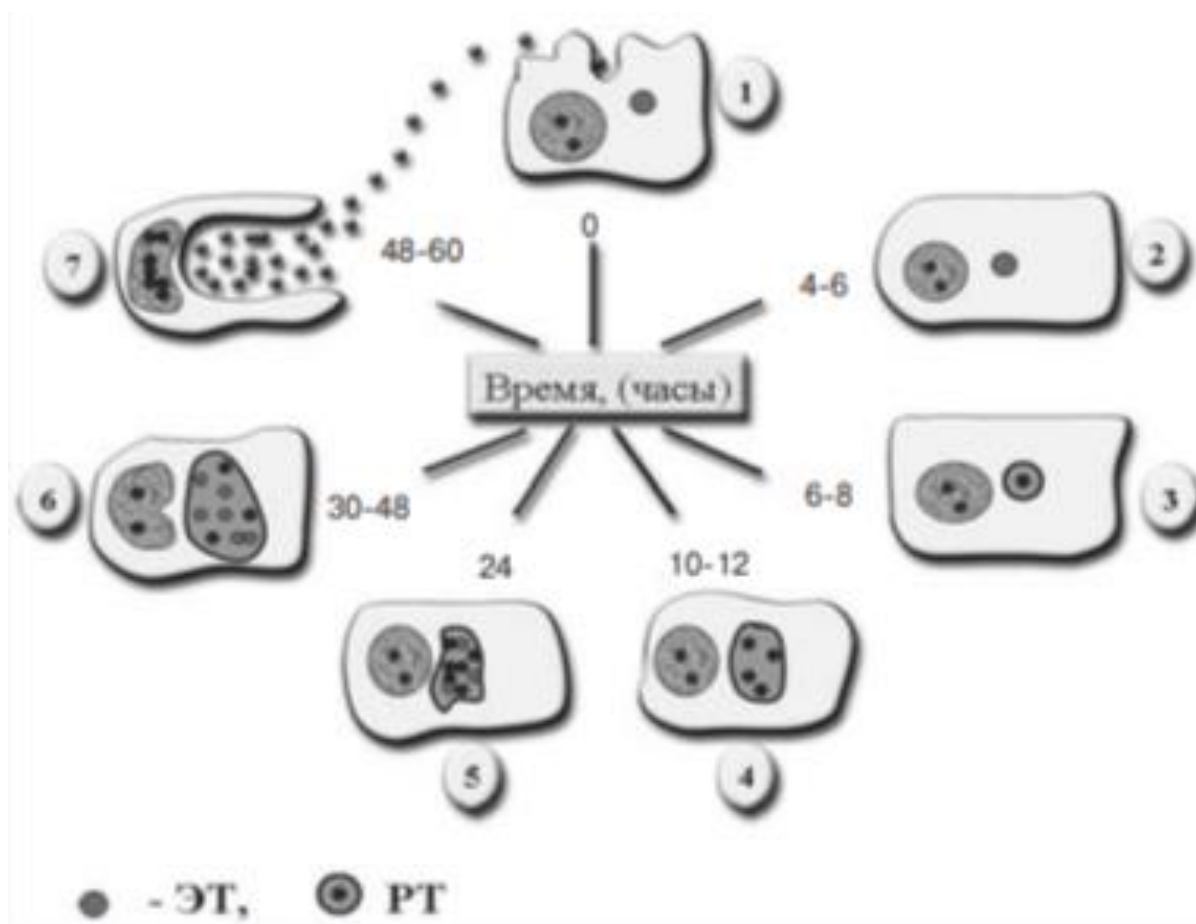


Рисунок 12 – Схема цикла развития хламидий [125]

Хламидии обладают гемагглютинирующей и токсической активностью, относительно устойчивы к факторам внешней среды, при комнатной температуре, а также в транспортной среде сохраняются в течение нескольких суток, повторное замораживание и оттаивание действует на них губительно; дезинфицирующие растворы убивают их в течение 3 часов. Хламидии чувствительны к действию антибиотиков тетрациклинового ряда, макролидам и фторхинолонам [126].

2.1.2.2.1 *Chlamydomphila pneumoniae*

Chlamydomphila pneumoniae (ранее *Chlamydia pneumoniae*), также ранее известная как возбудитель тайваньской острой респираторной инфекции – TWAR (TW – Taiwan, AR – acute respiratory), – распространённый возбудитель острых инфекций верхних дыхательных путей и пневмонии у

взрослых и детей (частота выявления варьирует от 1,0 % до 30,0% у взрослых и от 4,0% до 6,0% у детей) [127]. В 1989 J.T. Grayston предложил видовое название – *Chlamydia pneumoniae*, подчеркивающее важность данного вида хламидий в патологии легких человека [111].

Таксономическую самостоятельность *C. pneumoniae* подчеркивает наличие видоспецифического антигена и слабое генетическое родство (всего 10,0% гомологии ДНК) с другими хламидиями.

C. pneumoniae, как и другие виды хламидий, обладают тропизмом к клеткам столбчатого цилиндрического эпителия слизистых оболочек человека, в частности, к эпителию бронхиол, бронхов, альвеолярным макрофагам, моноцитам, эндотелиальным клеткам сосудов. Экспериментально установлена способность *C. pneumoniae* индуцировать цилиостаз ресничек мерцательного бронхиального эпителия [128].

Попав в респираторный тракт, *C. pneumoniae* внедряется в клетку-хозяина путем эндоцитоза элементарных телец. В одних случаях, тканевые макрофаги фагоцитируют хламидии с помощью псевдоподий, в других – чувствительные клетки инвагинируют участок плазмалеммы с адсорбированным элементарным тельцем в цитоплазму с образованием фагоцитарной вакуоли. Характерной особенностью элементарных телец является способность стимулировать их эндоцитоз чувствительной клеткой и ингибировать слияние лизосом с фагосомой, содержащей хламидии. Проникшие в клетку фагоцитированные элементарные тельца преобразуются в ретикулярные тельца, которые по морфологии несколько отличаются от подобных у других хламидий. Расширенное периплазматическое пространство придает элементарным тельцам возбудителя форму груши (Рисунок 13). Размножаясь путем бинарного деления, ретикулярные тельца преобразуются через переходные формы в элементарные тельца нового поколения, которые путем разрушения инфицированной клетки выходят из нее, поступают во внеклеточную среду и через 48–72 часа инфицируют новые клетки [127].

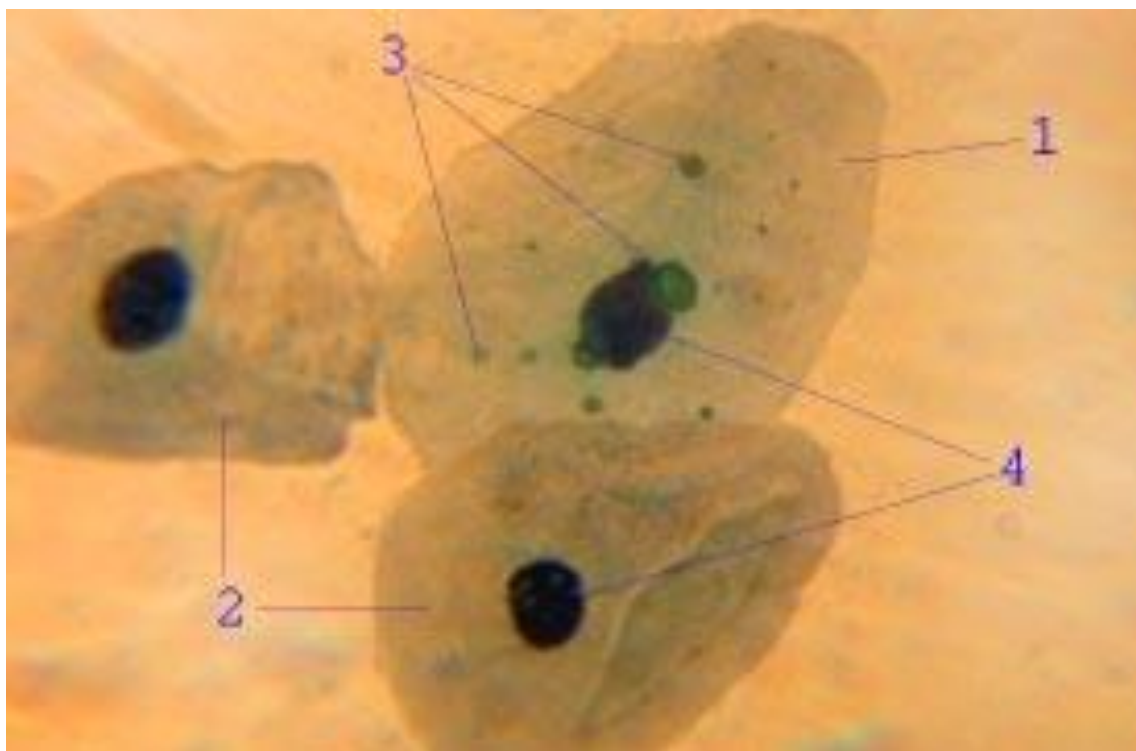


Рисунок 13– *Chlamydophila pneumoniae* в клетках эпителия:

1 – инфицированная клетка эпителия, 2 – неинфицированные клетки эпителия, 3 – *C. pneumoniae* в форме сетчатого тела в клетке, 4 – клеточные ядра [124]

Защитная реакция организма-хозяина на начальной стадии инфекции осуществляется при участии клеток моноцитарно-макрофагальной системы. Существуют данные об участии Т-системы в противоинфекционной защите от хламидий [128]. Низкая эндотоксическая активность хламидийного липополисахарида обуславливает скудную тканевую реакцию с формированием слабого ответа со стороны клеток хозяина, а, локализуясь в эпителиальных клетках, хламидийная инфекция индуцирует протективный иммунитет. Существенную роль в защите организма играет поликлональная активация В-лимфоцитов. После инфицирования последовательно образуются антитела классов IgM, IgG и IgA. В настоящее время установлено, что *C. pneumoniae* может вызывать нереспираторные поражения (менингоэнцефалит, синдром Гийена–Барре, реактивный артрит, миокардит).

Предполагают, что *C. pneumoniae* могут инфицировать мононуклеары

и тем самым диссеминировать из дыхательных путей в другие участки тела. Нахождение хламидий в альвеолярных макрофагах и/или клетках эндотелия сосудов также способствует их выходу в кровь с последующей циркуляцией. При этом структурные компоненты хламидий, в частности, полисахариды, индуцируют синтез цитокинов, что приводит к хроническому воспалению сосудистого эндотелия [127].

Под влиянием трансформирующих агентов (бета-лактамов антибиотиков и др.) в цитоплазме клеток появляются аномальные формы хламидий, морфологически сходные с L-формами, что было установлено на лабораторных моделях персистентной хламидийной инфекции. В таком состоянии микроорганизм становится менее чувствительным к антибиотикам. В связи с тем, что L-подобные формы образуются из неинфекционных форм – ретикулярных телец, то они не могут быть идентифицированы с помощью классических биологических тестов. При активации персистентной инфекции чувствительность к антибиотикам у этих форм восстанавливается [127].

C. pneumoniae является одним из главных возбудителей острых респираторных инфекций, в частности, бронхитов и легких форм пневмонии у человека. Как и все хламидийные инфекции, *C. pneumoniae*-инфекция имеет тенденцию к хронизации процесса, передается исключительно от больного или инфицированного человека (абсолютный антропоноз), заражение происходит воздушно-капельным и/или воздушно-пылевым путем. Не исключено, что эпидемически значимым источником служат бессимптомные носители [127].

Заболевания, ассоциированные с *C. pneumoniae*, широко распространены во всем мире. В разных странах 40,0–80,0% взрослого населения имеют специфические антитела, однако, они редко обнаруживаются у детей дошкольного возраста [111, 127].

C. pneumoniae занимает важное место в этиологической структуре внебольничных пневмоний. По оценкам разных исследователей, от 5,0 до

15,0% ВП вызывается хламидиями, а в период эпидемии эти показатели могут увеличиваться до 30,0% [31, 127]. Наиболее часто инфекция, обусловленная *C. pneumoniae*, встречается у взрослых (средний возраст составляет 52–55 лет). У детей развитие пневмонии отмечается примерно в 12,0% случаев хламидийной инфекции. *C. pneumoniae* чаще обнаруживается у детей старше 5 лет (до 76,0% случаев), но может вызывать инфекцию и у детей младшего возраста [129, 130].

C. pneumoniae-инфекция преимущественно имеет спорадический характер, но может вызывать эпидемические вспышки, не утрачивая способности к существованию в субклинической форме. По данным Бартлетт и соавт., *C. pneumoniae* является причиной 25,0% случаев респираторных заболеваний, включая до 10,0% случаев эндемических пневмоний [111]. Описаны эпидемические вспышки в организованных коллективах, случаи внутрисемейной передачи хламидийной инфекции [127]. Данные ряда исследований, проведенных за последние 10 лет, о частоте выявления *C. pneumoniae* у больных ВП представлены в таблице 5.

Инкубационный период при *C. pneumoniae*-инфекции составляет от 1 до 3-х недель, что существенно превышает период, характерный для многих других респираторных патогенов [131]. Патология легких, ассоциированная с *C. pneumoniae*, относится к «атипичным» пневмониям, и клинически не отличается от других инфекций подобного типа. Начало вялое, лейкоцитоза, как правило, нет, температура повышается умеренно, кашель непродуктивный, но даже при внешне бедной симптоматике хрипы в легких прослушиваются. Рентгенография грудной клетки обычно демонстрирует менее обширные инфильтраты, чем при типичной пневмонии.

Таблица 5 – Частота выявления *S. pneumoniae* у больных с ВП [28].

Страна	Возрастная группа (лет)	Количество обследованных	Количество инфицированных (%)	Метод(ы) диагностики
Нидерланды	1–88	159	5 (3,1%)	ИФА
	≥18	107	0	Традиционные методы, ПЦР
Швеция	взрослые	125 больных, 113 здоровых	Больные – 3 (2,4%) Здоровые- 0	МИФ, мультиплексная ПЦР
Германия	≥18	546	5 (0,9%)	МИФ, ПЦР
Италия	2–14	613	87 (14,1%)	МИФ, nested ПЦР
Швейцария	1–18	50	4 (8%)	МИФ, ПЦР, культуральный
США, Техас	6 нед. – 18 лет	154	14 (9%)	ИФА, МИФ
Китай, Гонконг	51–88	1193	55 (4,6%)	Четырехкратное увеличение титра IgG и/или положит. IgM
Чили	44-80	31	19%	Культуральный, ИФА
Россия, Барнаул	взрослые	214	26 (12,1%)	ИФА
США, Даллас	6 мес. – 16 лет	168	10 (6%)	ПЦР, культуральный

При анализе клинических случаев хламидийных пневмоний отмечено их легкое течение. Так же как микоплазменную, хламидийную пневмонию многие больные переносят на ногах. Однако выздоровление нередко идет медленно, кашель и слабость иногда сохраняются несколько недель и даже месяцев, и, несмотря на этиотропную антибиотикотерапию (тетрациклины, макролиды), возможно длительное бактерионосительство [127]. В редких случаях наблюдается тяжелое затяжное течение *S. pneumoniae*-пневмонии, описано образование каверн в обоих легких одновременно. *In vitro S. pneumoniae* обладает резистентностью к ряду представителей беталактамовых антибиотиков (пенициллины и цефалоспорины). Возбудитель чувствителен к эритромицину, кларитромицину, азитромицину (МПК 90 < 0,5 мкг/мл). Штаммы *S. pneumoniae* чувствительны к ряду новейших фторхинолоновых

препаратов IV поколения: грепафлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину, тровафлоксацину и др. (МПК90 < 0,5 мкг/мл). Наиболее активным из них является гемифлоксацин (МПК90 < 0,25 мг/мл) [131].

Специфическая профилактика при ВП, обусловленной *C. pneumoniae*, не разработана.

2.1.2.2 *Chlamydophila psittaci*

Chlamydophila psittaci (ранее *Chlamydia psittaci*) по основным биологическим свойствам, циклу развития не отличается от других хламидий. Возбудитель устойчив во внешней среде: сохраняет жизнеспособность при температуре 37 °С в течение 2 суток, при 4–6 °С – в течение недели, при минус 20-30 °С – до 10 месяцев. Кипячение убивает его в течение 5 минут, 5% раствор хлорамина, 3% раствор лизола уничтожают его в течение 3-х часов. *C. psittaci* имеет 13 сероваров и два типа антигенов (группоспецифические терморезистентные и видоспецифические термолабильные). В соответствии с классификацией вид *Chlamydophila psittaci* относится к домену *Bacteria*, филуму *Chlamydia*, классу *Chlamydia*, порядку *Chlamydiales*, семейству *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydophila*

В то время как штаммы *C. psittaci*, вызывающие инфекции у птиц, являются возбудителями орнитоза и ассоциированной с ним пневмонии у людей. У человека течение заболевания может проходить бессимптомно, или с гриппоподобным синдромом, описаны случаи развития миокардита, эндокардита или энцефалита [111].

Орнитоз – зоонозное природноочаговое заболевание с воздушно-капельным и воздушно-пылевым механизмом передачи. Резервуаром и источником заражения для человека являются домашние и дикие птицы. Возбудитель выделяется птицами с фекалиями и отделяемым из клюва. Возможен также и фекально-оральный механизм с пищевым путем передачи. В настоящее время возбудитель орнитоза выделен более чем у 150 видов птиц. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют домашние птицы

(особенно утки и индюшки), комнатные птицы (попугаи, волнистые попугайчики, канарейки и другие мелкие певчие птицы) и особенно городские голуби, зараженность которых колеблется от 30,0 до 80,0% [132].

Орнитоз регистрируется во всех странах, преимущественно у лиц, профессия которых связана с птицами, а также у содержащих комнатных птиц в домашних условиях. Частота заболеваний орнитозом на разных территориях неодинакова и зависит от распространения *C. psittaci* у птиц в данной местности. Заболевания могут приобретать характер эпидемических вспышек, но чаще регистрируется спорадическая заболеваемость. Показано, что 8,0% детей имеют антитела к *C. psittaci*, а среди членов семей, содержащих дома попугаев, антитела выявляются в 37,5%. Клинические симптомы возникают не у всех инфицированных, о чем свидетельствует значительная прослойка серопозитивных лиц среди групп риска по контакту с *C. psittaci*. Больные орнитозом опасности для окружающих не представляют [132].

Частота орнитозных пневмоний невелика – 1,0–3,0%, но достаточно стабильна. Инкубационный период при орнитозе колеблется от 5 до 30 дней. Инфекция может протекать в острой или хронической форме. Острая форма начинается с быстрого повышения температуры до высоких цифр. В дальнейшем, при развитии пневмонии одышка не выражена, однако, рентгенологически обнаруживаются очаги инфильтратов. Бактериемия в первые дни заболевания создает вероятность развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы (миокардит, эндокардит), (менингоэнцефалит) и др. Иногда болезнь принимает хроническое течение с ранними (через 2–4 недели) и поздними (через 3–6 месяцев) рецидивами. Это связано с возможностью *C. psittaci* длительно персистировать в респираторном тракте после клинического выздоровления [111].

Наиболее эффективными этиотропными препаратами являются антибиотики тетрациклинового ряда. Длительность курса антибиотикотерапии определяются тяжестью и течением заболевания [132].

Длительная антибиотикотерапия предупреждает рецидивы и переход болезни в хроническую форму. Преждевременная отмена антибиотиков и неадекватная терапия способствуют появлению рецидивов и хронизации процесса. При затянувшихся хронических формах орнитоза хорошие результаты дают дополнительные назначения вакцинотерапии. В качестве вакцины используется орнитозный аллерген. Прогноз при орнитозе благоприятный. Диспансерное наблюдение за переболевшими осуществляется в течение 2 лет. Специфической профилактики орнитоза не разработано.

2.1.2.2.3 *Legionella pneumophila*

Легионеллы – аэробные, грамотрицательные, подвижные (имеют жгутик, расположенный монотрихально) палочки размером 3х0,5-0,7 мкм, спор и капсул не образуют, на препаратах располагаются одиночно или небольшими скоплениями. В соответствии с современной классификацией вид *Legionella pneumophila* принадлежит домену - *Bacteria*, филуму - *Proteobacteria*, классу *Gammaproteobacteria*, порядку - *Legionellales*, семейству *Legionellaceae*, роду *Legionella*.

Legionella pneumophila растет на куриных эмбрионах или культуре клеток человека, и обогащенных питательных средах (казеиново-угольный агар, казеиново-дрожжевой агар), необходимыми факторами роста являются цистеин и железо. *L. pneumophila* не растет на простых питательных средах, на искусственных питательных средах развивается медленно, образуя округлые, выпуклые с легкой опалесценцией колонии, производит ферменты β-лактамазы, каталазу, вызывает гидролиз гиппурата. Легионеллы не ферментируют углеводы, разжижают желатин, не образуют уреазу, не восстанавливают нитраты, вариабельны в пробе на оксидазу. Отсутствие способности к ферментации углеводов у бактерий *Legionella spp.* не позволяет быстро и достоверно провести идентификацию легионелл до вида на основе биохимических тестов. Для идентификации используют латекс

агглютинацию с моновалентными и групповыми сыворотками, метод флюоресцирующих антител (МФА), метод полимеразной цепной реакции (ПЦР, ПЦР в реальном времени) с видоспецифичными праймерами.

Legionella pneumophila - возбудитель острых тяжелых пневмоний с высоким процентом летальных исходов 5–10% [132]. В природе распространены повсеместно в пресноводных водоемах, а также в искусственных водных системах (кондиционеры, градирни, компрессоры, водопроводные системы, увлажнители воздуха, оборудование для проведения респираторной терапии) [18, 22, 63, 174, 197, 199].

Геном *L. pneumophila* представлен кольцевой двуцепочечной молекулой ДНК. Известно, по крайней мере, три штамма с различиями в геноме: у *L. pneumophila* штамма *Paris* нуклеоид состоит из 3635495 п.н. и содержит 3224 гена, у *L. pneumophila* штамма *Lens* нуклеоид длиной 3405519 п.н. и содержит 3004 открытые рамки считывания и у штамма *Philadelphia* 1 нуклеоид длиной 3397754 п.н. и содержит в общем 2942 гена. Таким образом, геном *L. pneumophila* достаточно пластичен, что способствует эволюционным изменениям *L. pneumophila* как возбудителя легионеллёза [134].

Легионеллы являются факультативными внутриклеточными патогенами, в организме человека они размножаются в альвеолярных макрофагах, полиморфноядерных нейтрофилах и моноцитах крови, проникая в клетки путем фагоцитоза. У моноцитов *L. pneumophila* ингибирует супероксиддисмутазы, у клеток альвеолярного эпителия лёгких индуцирует синтез интерлейкина-8 эпителиоцитами легкого человека. Фактором патогенности также является способность к синтезу цитотоксических глюкозилтрансфераз. Внутриклеточная локализация *L. pneumophila* служит причиной неэффективности терапии легионеллезной пневмонии антибиотиками, накапливающимися преимущественно экстрацеллюлярно, в частности, β - лактамами [111].

L. pneumophila размножаются при температуре от 25 до 42 °C,

оптимальная температура для роста бактерий 35-37 °С. Большинство случаев легионеллеза связаны с антропогенными водными системами. Легионеллы не являются свободноживущими бактериями, а представляют собой внутриклеточных паразитов или комменсалов пресноводных и почвенных амёб. Обеспечивая легионеллам экологическую нишу и условия для репликации, амёбы также защищают их от вредных воздействий окружающей среды. Такие отношения повышают устойчивость легионелл к дезинфектантам, антибиотикам, кислотам, осмотическим и тепловым стрессам [135].

Широкое распространение искусственных водных систем привело к увеличению случаев заболевания легионеллезом в последние несколько десятилетий. Внебольничная пневмония развивается у 5,0–10,0% лиц, находящихся в зоне действия контаминированными легионеллами аэрозоля. В США от 8000 до 18000 человек ежегодно госпитализируются с болезнью легионеров, большинство из этих случаев – спорадические [136].

Механизм передачи легионелл – воздушно-капельный или аспирационный, основной фактор передачи – мелкодисперсный аэрозоль. Легионеллез не контагиозен, заражение от человека невозможно. Заболеваемость легионеллезом не имеет сезонности [135].

По оценкам различных специалистов, доля *L. pneumophila* как этиологического агента внебольничных пневмоний у госпитализированных пациентов составляет от 2,0 до 15,0% случаев [111].

Клинические проявления легионеллеза неспецифичны и варьируют в широких пределах – от симптомов легкого респираторного заболевания до тяжелых полиорганных поражений. Различают собственно болезнь легионеров, лихорадку Понтиак, лихорадку Форт-Брэгг (сопровождается кожными высыпаниями) [135].

Клинически невозможно отличить болезнь легионеров от пневмоний, вызванных другими возбудителями. Симптомы болезни легионеров включают лихорадку, непродуктивный кашель, головную боль, миалгии,

одышку, диарею, бред. Среди внебольничных пневмоний с атипичными этиологическими агентами, болезнь легионеров имеет самые серьезные особенности клинического течения, особенно если вовремя и правильно не поставлен диагноз и не начата адекватная терапия [111].

Диагностика легионеллезной инфекции носит комплексный характер и предусматривает оценку клинической картины заболевания с данными эпидемиологического анамнеза и результатами лабораторных исследований с использованием молекулярно-генетического метода (ПЦР), и иммунохроматографического анализа (ИХА).

Глава 3. ВИРУСНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ПНЕВМОНИИ

Внебольничную пневмонию помимо бактериальных возбудителей могут вызывать респираторные вирусы. Частой причиной вирусных пневмоний являются вирусы гриппа типов А и В, ортопневмовирус (ранее респираторно-синцитиальный вирус), аденовирус, вирус парагриппа, вирус кори. Иногда причиной становятся коронавирусы SARS-CoV, MERS-CoV, коронавирус SARS-CoV-2. В редких случаях этиологической причиной ВП являются вирусы ветряной оспы, краснухи, простого герпеса – у новорожденных; цитомегаловирус – у детей со сниженным иммунитетом; хантавирус [21, 23].

Вирусы имеют важное значение в этиологии ВП у детей раннего возраста. Они могут выступать в роли непосредственного возбудителя или ко-патогена при ВП бактериальной этиологии. В 2009–2013 гг. в разных странах мира было проведено 13 крупных исследований с участием более 7000 детей с ВП, в которых оценивалась этиологическая роль вирусов при ВП. По данным разных авторов, частота обнаружения вирусов варьировала от 17,9% до 73,5%, а в среднем, доля вирусов составила 41,3% [137–138].

В ряде работ показано, что с вирусами связано до 80,0% случаев ВП у детей в возрасте до 2 лет [139]. Этиологическая роль различных вирусов у детей с ВП представлена в таблице 6.

Впервые предположение о вирусной природе поражения легких было выдвинуто американским вирусологом Хобартом Анстет Рейманом в 1938 г., им же был предложен термин «вирусная пневмония». В 1960 г. роль вирусов в развитии пневмоний была экспериментально доказана, а нозологическая форма «вирусная пневмония» вошла в классификацию, разработанную академиком Н.С. Молчановым [140].

Различают первичную вирусную (возникает в результате непосредственного воздействия вируса на ткань лёгких) и вторичную бактериальную пневмонию, которая может сочетаться с первичным поражением легких или быть поздним осложнением респираторной вирусной

инфекции, в первую очередь, гриппа. Так, у взрослых, больных гриппом, в 10–15% случаев развиваются осложнения, из которых 80,0% приходится на пневмонию [140].

Таблица 6 –Частота выявления вирусов при ВП у детей [4]

Вирус	Частота выявления при ВП у детей (в %)
Респираторно-синцитиальный вирус	2,4–39,4
Риновирус	3–100%, чаще в ассоциации с другими вирусами
Вирус гриппа (А и В)	2,0–14,1
Вирус парагриппа (1-4 типов)	0,0–17,0
Аденовирус	0,0–18,0
Метапневмовирус	0,2–14,5
Бокавирус человека	0–18,4
Коронавирус человека	0,8–6,6

В последние десятилетия были открыты новые респираторные вирусы, способные поражать легкие, такие, как метапневмовирус человека, коронавирусы NL63 и HKU1, бокавирус человека, мимивирус, а также вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV), вирус птичьего гриппа типа А (H5N1), вирус пандемического гриппа типа А (H1N1) 09 и вирус SARS-CoV-2 (возбудитель COVID-19), вызывающих тяжелые клинические формы пневмоний.

Вирусные пневмонии относятся к наиболее распространенным заболеваниям, развиваются в любом возрасте, имеют особенности клинического течения в различных возрастных группах. Ежегодно во всем мире регистрируется около 200 миллионов случаев вирусной внебольничной пневмонии: 100 миллионов у детей и 100 миллионов – у взрослых [140].

Респираторные вирусы подразделяются на РНК- и ДНК-содержащие.

К РНК-содержащим пневмовирусам относятся:

- ортопневмовирус (респираторно-синцитиальный вирус) (*Human Respiratory syncytial virus*);
- метапневмовирус человека (*Human Metapneumovirus*);
- энтеровирус (*Enterovirus*);
- ортохантавирус (*Orthohantavirus*, ранее *Hantavirus*);
- вирус кори (*Measlesvirus*);
- вирусы парагриппа (*Human Parainfluenza virus* 1–4-го типов);
- коронавирусы – *Human Coronavirus* 229E, *Human Coronavirus* OC43, *Human Coronavirus* NL63, *Human Coronavirus* HKUI, *MERS-Cov*, *SARS-Cov*, *SARS-CoV-2*;

- риновирусы (*Rhinovirus*) видов А, В, С.

В группу ДНК-содержащих пневмовирусов входят

- аденовирусы (*Human mastadenovirus*, виды В, С, Е);
- парвовирусы – бокавирус человека (*Human bocavirus*);
- вирус ветряной оспы (*Varicella Zoster virus*);
- вирус Эпштейна–Барр (*Epstein–Barr virus – Human gammaherpesvirus* 4);
- вирус герпеса человека 6 и 7 типов (*Human herpes virus* 6,7);
- цитомегаловирус (*Cytomegalovirus – Human gammaherpesvirus* 5);
- мимивирус (*Acanthamoeba polyphaga mimivirus*);

Все вышеперечисленные вирусы могут быть причиной внебольничной пневмонии у человека в любом возрасте. Вирусы попадают в организм человека воздушно-капельным или контактно-бытовым путем.

Заболеваемость пневмонией, обусловленной респираторными вирусами, имеет выраженный сезонный характер и увеличивается в осенне-зимний период [141].

Тяжесть течения заболевания и частота летальных исходов намного выше у лиц из групп риска:

- дети первых трех лет жизни

- школьники младших классов;
- лица с сопутствующими заболеваниями сердца, легких и сахарным диабетом;
- лица, контактирующие с большим числом людей;
- пациенты из закрытых коллективов (школы-интернаты, социальные учреждения).
- лица старше 65 лет

У детей наиболее часто при ВП выявляются риновирус, метапневмовирус, бокавирус и вирус парагриппа. У детей в возрасте до трех лет вирусная пневмония часто обусловлена ортопневмовирусом (респираторно-синцитиальным вирусом).

Пневмония, обусловленная различными пневмовирусами, характеризуется общностью механизмов и путей передачи, патогенеза, клинических проявлений и стадий развития заболевания.

К лицам с высоким риском развития пневмоний вирусной природы относятся недоношенные дети с низким и экстремально низким весом при рождении; пациенты после трансплантации солидных органов; лица с онкологическими и системными заболеваниями, нуждающиеся в длительной иммуносупрессивной терапии; пациенты, принимающие гематологические и/или иммунологические лекарственные средства, ВИЧ-инфицированные [140]. Следует отметить, что широкое внедрение конъюгированных вакцин, в частности, против пневмококковой инфекции, привело к росту числа вирусных пневмоний [142, 143].

3.1 Вирусы гриппа (ортомиксовирусы)

Вирусы гриппа – группа РНК-содержащих сложноорганизованных вирусов, относятся к семейству *Orthomyxoviridae*, которое включает 5 родов: *Thogotovirus* (передаваемые клещами арбовирусы), *Isavirus* (вирус инфекционной анемии лосося) и три рода вирусов гриппа – *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* и *Influenzavirus C* [144].

Важную роль в патологии человека играют вирусы гриппа, среди которых наибольшим антигенным разнообразием и высокой эпидемической опасностью обладают вирусы гриппа А [137].

Вирион вируса гриппа имеет сферическую форму диаметром 80–120 нм, но встречаются и нитевидные формы. Вирион представляет собой нуклеокапсид, покрытый липопротеиновой оболочкой. Нуклеокапсид у вирусов гриппа окружен слоем белков М1, которые составляют внутренний слой липопротеиновой оболочки. Суперкапсид (липопротеиновая оболочка) включает трансмембранные белки (М2, NВ, ВМ2, СМ2) и несет на поверхности шипики длиной около 10 нм, образованные двумя белками гликопротеинами – гемагглютинином (НА) и нейраминидазой (НА). У вирусов гриппа С нейраминидаза отсутствует. На поверхности обоих гликопротеинов есть специальные области для связывания с рецепторами на чувствительных клетках. Для вирусов гриппа специфическими рецепторами являются соединения, содержащие сиаловую кислоту. Взаимодействие вирусов гриппа с клеткой начинается с того, что гемагглютинины связываются с рецепторами, затем нейраминидаза отщепляет от них сиаловую кислоту и вирус проникает в клетку путем эндоцитоза. Далее происходят слияние оболочки вируса с мембраной эндосомы, депротеинизация вируса и выход нуклеокапсида в цитоплазму, а затем в ядро клетки. В ядре клетки происходит транскрипция генов, в которой участвуют белки полимеразного комплекса [144].

Нуклеокапсид вирусов гриппа содержит одонитевую сегментированную минус-нитевую РНК (вирусы А и В имеют 8 сегментов, вирус С – 7) в комплексе с белком нуклеопротеином (NP). Сегментированная РНК вирусов предрасположена к генетическим рекомбинациям. При репликации генома вируса, которая проходит в ядре клеток, транскрибируется вся нить сегмента РНК. Сначала образуется плюс-нить, затем на матрице образуется минус-нить РНК для дочерних вирусов. Сборка нуклеокапсида происходит в ядре, куда к тому времени транспортируются

синтезированные капсидные белки (NP и белки полимеразного комплекса) [144].

Вирусы гриппа имеют внутренние и поверхностные антигены. Внутренние типоспецифические антигены представлены нуклеопротеином (NP-белком) и М-белками. Антитела к поверхностным антигенам обладают защитным свойством при гриппе. Структура поверхностных антигенов вирусов гриппа А постоянно изменяется. В настоящее время известны более 15 подтипов гемагглютиниона и 9 подтипов нейраминидазы, но от человека стабильно выделяются только Н1, Н2, Н3 и N1, N2. Вирус гриппа В более стабилен, но имеет несколько разновидностей. Наиболее стабильной антигенной структурой обладает вирус гриппа С. Изменчивость вирусов гриппа А, приводящая к образованию новых антигенных вариантов, объясняется двумя процессами: антигенным дрейфом и антигенным шифтом [137].

Антигенный дрейф – это незначительные изменения структуры гемагглютиниона и/или нейраминидазы, которые происходят часто и обусловлены точечными мутациями в тех участках генома вируса, которые отвечают за синтез и структуру детерминант поверхностных антигенов. В результате в популяции вирусов постоянно появляются новые антигенные варианты, которые и обуславливают периодические эпидемии гриппа. Это связано с тем, что через несколько лет циркуляции любого штамма вируса гриппа среди людей структура его поверхностных протективных антигенов так изменяется, что выработанный ранее иммунитет только частично защищает от заболевания.

Антигенный шифт (shift – скачок) – это появление новой разновидности гемагглютиниона и/или нейраминидазы, которое обусловлено пересортировкой (реассортацией) и полной заменой гена, кодирующего или гемагглютинин, или нейраминидазу определенной разновидности. Шифт происходит редко и обычно является результатом рекомбинаций, возникающих при заражении одной клетки двумя разными вирусами одного

и того же рода (например, от человека и от животных). В результате полностью изменяется структура антигена и образуется гибридный вирус-реассортант. Если возникший в результате шифта новый штамм вируса гриппа адаптируется к существованию в организме человека, то он становится причиной пандемии, так как человеческая популяция не имеет к нему иммунитета.

У трети пациентов, обратившихся за стационарной помощью по причине гриппа, регистрируется пневмония, которая непосредственно связана с вирусом гриппа или вызвана бактериальной суперинфекцией. Результаты исследования, в котором приняли участие 579 госпитализированных взрослых пациентов с инфекцией, вызванной вирусом гриппа, показали, что пневмония чаще развивается у пациентов с острой дыхательной недостаточностью и с наличием продуктивного кашля [145]. В редких случаях пневмония может привести к тяжелой гипоксемической дыхательной недостаточности, развивающейся в острый респираторный дистресс-синдром с шоком и острой почечной недостаточностью. Пневмония, вызванная вирусом гриппа А (H1N1), имеет более серьезные клинические последствия, чем респираторная инфекция, обусловленная другими вариантами гриппа. Так, у пациентов, заболевших гриппом А (H1N1), зафиксированы более высокие показатели риска развития легочных осложнений, госпитализаций в отделение интенсивной терапии и смертности [145].

3.2 Вирусы парагриппа (парамиксовирусы)

Парамиксовирусы (*Paramyxoviridae* от лат. *para* – около, *myxa* – слизь) – семейство оболочечных РНК-содержащих вирусов, которое включает 17 родов, объединенных в 3 подсемейства: *Avulavirinae*, *Metaparamyxovirinae* (включает род *Respirovirus* (7 видов), в том числе вирус парагриппа человека 1-го и 3-го типов) и *Rubulavirinae* (в род *Orthorubulavirus* (8 видов) входят вирус парагриппа человека 2-го и 4-го типов) [146].

Вирион парамиксовирусов имеет сферическую, реже полиморфную или нитевидную форму размером 150–250 нм, содержит отрицательную смысловую РНК с геном, охватывающим около 15000 нуклеотидов, окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами. Под оболочкой находится спиральный нуклеокапсид, состоящий из нефрагментированной линейной однонитевой минус-РНК, связанной с белками: нуклеопротеином (NP, или N), стабилизирующим геном; полимеразой-фосфопротеином (P) и большим L-белком полимеразой. Под оболочкой вириона располагается матриксный (M) белок. Оболочка вириона содержит шипы – два гликопротеина: белок слияния (F – от англ. fusion), который вызывает слияние мембран вируса и клетки; прикрепительный белок, обозначаемый по-разному у представителей семейства (гемагглютинин-нейраминидаза – HN, гемагглютинин – H или гликопротеин – G-белок) [147].

Репродукция парамиксовирусов инициируется связыванием HN-, H- или G-белков оболочки вириона с сиаловой кислотой поверхности клетки, происходит слияние оболочки вируса с плазмолеммой клетки. В клетку проникает нуклеокапсид без образования эндосом. Парамиксовирусы индуцируют слияние клеток, образуя поликарионы – синцитий.

Вирусы парагриппа (*Human parainfluenza virus*) по структуре генома и антигенным свойствам сходны с другими представителями семейства *Paramyxoviridae*. Однонитевая, нефрагментированная минус-РНК вируса кодирует 7 белков. Нуклеокапсид является внутренним антигеном. Оболочка вируса содержит гликопротеиновые шипы (HN и F). По антигенным свойствам HN-, NP- и F-белков различают 4 основных серотипа вирусов парагриппа: ВПГЧ-1, ВПГЧ-2, ВПГЧ-3, ВПГЧ-4. Вирусы парагриппа 1, 2 и 3 типов имеют общие антигены с вирусом эпидемического паротита [147].

Парагрипп – острое инфекционное заболевание, характеризуется наличием катаральных явлений верхних дыхательных путей; формированием выраженного отека тканей гортани и бронхов; развитием ларинготрахеобронхита, бронхиолита, пневмонии, сопровождающихся

скоплением большого количества мокроты. Как следствие, нарушается дыхание и возникает кислородная недостаточность вплоть до развития отека мозга [140]. Риску заражения подвержены люди любого возраста, но чаще дети. Инкубационный период от 2 до 7 дней. Механизм передачи возбудителя – воздушно-капельный. Люди имеют высокую естественную восприимчивость к вирусу. Постинфекционный иммунитет непродолжительный, а образовавшиеся антитела не защищают от возможности нового заражения, хотя и облегчают течение повторного заболевания. Встречаются спорадические случаи заболевания и эпидемические вспышки. Наблюдается осеннее-зимняя сезонность заболеваемости.

3.3 Пневмовирусы

Семейство *Pneumoviridae*, выделенное в 2016 г. в самостоятельный таксон, ранее имело статус подсемейства в семействе парамиксовирусов, включает РНК-содержащие вирусы: респираторно-синцитиальный вирус человека (РСВ) и метапневмовирус человека и ряд вирусов животных [147].

Респираторно-синцитиальный вирус человека

Респираторно-синцитиальный вирус человека (РСВ) относится к роду *Orthopneumovirus* семейства *Pneumoviridae*. Геном вируса, представленный одноцепочечной (-) РНК, содержит 10 генов, которые кодируют 11 белков (ген M2 содержит две открытые рамки считывания). Белки NS1 и NS2 ингибируют активность интерферонов типа I. Ген N кодирует белок нуклеокапсида, который связывает геномную РНК. Ген M кодирует белок матрикса, необходимый для сборки вирионов. Белки SH, G и F образуют капсид. Гликопротеины F (англ. fusion – слияние) и G необходимы для проникновения вируса в клетку, обуславливают иммунный ответ, являются антигенами. M2 является вторым белком матрикса, участвует в транскрипции, кодирует фактор элонгации M2-1 и регулятор транскрипции

M2-2, M2 содержит эпитопы CD8. Гликопротеин L кодирует РНК-полимеразу [148].

Вирионы РСВ полиморфны: кроме обычной сферической формы, встречаются и нитевидные формы. На липопротеиновой оболочке расположены гликопротеиновые шипы, отвечающие за связь с рецепторами клетки (гликопротеин G) и слияние с мембранами клетки (гликопротеин F). В результате вызванного вирусом слияния клеток образуется синцитий, из-за формирования характерного цитопатического действия в виде симпластов – синцития РСВ и получил свое название. Гемагглютинин отсутствует. По поверхностному антигену различают три серотипа РСВ [144, 149, 150].

Ортопневмовирус (РСВ) вызывает заболевания нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста, обуславливает пневмонию у каждого шестого ребенка в возрасте до 4–5 лет, у половины детей выражена астматическая реакция. При пневмонии, вызванной РСВ, ухудшение состояния начинается с ринофарингита. На 2–3-й день появляется выраженная одышка и кашель, сухой или со скудной мокротой, который становится надсадным, со свистящими хрипами. Повышается температура тела, часто присоединяется воспаление среднего уха – отит. Респираторно-синцитиальный вирус способен поражать все отделы дыхательной системы, вызывая выраженный отек и обструкцию бронхов, быстрое развитие пневмонии. Присоединение бактериальной флоры играет важную роль в развитии тяжелых клинических форм ВП [140].

Совместная инфекция респираторно-синцитиального вируса и вируса гриппа А с одновременным заражением клеток обоими вирусами приводит к образованию гибридных вирусных частиц, содержащих поверхностные белки и генетический материал обоих вирусов. Такие гибридные вирионы менее эффективно нейтрализуются антителами против гемагглютинина, чем вирионы гриппа, а антитела против F-белка респираторно-синцитиального вируса реагируют на гибридные вирусы так же хорошо, как и на классический РСВ. При этом гибридные вирионы проникают в те клетки,

которые недоступны для вирусов гриппа А, что, вероятно, приводит к более тяжелому течению заболевания. Другими словами, РСВ может утяжелять течение гриппа [151].

Следует отметить, что ортопневмовирус (РСВ) обладает иммуноингибирующим действием, что способствует хронизации болезни, формированию бронхиальной астмы и повторных эпизодов заболевания.

В мае 2023 г. В США были одобрены к применению первые прививки от ортопневмовируса (РСВ): «Arexvy» (GSK plc) и «Abrysvo» (Pfizer) [152].

Метапневмовирус человека

Метапневмовирус человека (*Human metapneumovirus - hMPV*) – РНК-содержащий вирус, впервые выделенный в 2001 г. В 2018 г. у него идентифицированы два генотипа (линии А и В), в каждой из этих линий – два субтипа. В соответствии с современной классификацией Международного комитета по таксономии вирусов *Human metapneumovirus* принадлежит реалму *Riboviria*, царству *Orthornavirae*, типу *Negarnaviricota*, классу *Monjiviricetes*, порядку *Mononegavirales*, семейству *Pneumoviridae*, роду *Metapneumovirus*. Вирусная РНК метапневмовируса кодирует 9 белков. Вид *Human metapneumovirus* похож на респираторно-синцитиальный вирус человека, сходство аминокислотных последовательностей составляет 23,0–43,0%. Средний размер вирионов 209 нм, формы – плеiomорфные, сферические и нитевидные [153].

Метапневмовирусная инфекция может поражать детей и взрослых. Следует отметить, что болеют, в основном, дети, преимущественно первого года жизни. Клинические формы в большинстве случаев – ринофарингит и бронхит. Клиническая картина метапневмовирусной инфекции идентична вызываемой ортопневмовирусом инфекции, однако, течение более легкое [153]. Метапневмовирус занимает одно из лидирующих мест в этиологии ОРЗ, особенно у детей раннего возраста, вызывая зачастую у них бронхиолит [147, 153]. Частота обнаружения метепневмовируса при заболеваниях

нижних дыхательных путей у детей варьирует от 10,2 до 36,0%, а при заболеваниях верхних дыхательных путей – от 1,0 до 5,0% [154].

Имеются данные о том, что метапневмовирусная инфекция, перенесенная в младенчестве, может быть ответственной за формирование бронхиальной астмы и рецидивирующего крупа у детей старшего возраста [154–156].

Метапневмовирус циркулирует круглый год с выраженным сезонным распределением [155]. В России наблюдаются два эпидемических сезона ОРВИ метапневмовирусной этиологии: в ноябре и в мае [157]. В декабре 2024 г. китайское управление по контролю и профилактике заболеваний сообщило о зарегистрированной в КНР вспышке метапневмовирусной инфекции с высокими показателями смертности (43,0%).

3.4 Бокавирус

Бокавирус – это ДНК-содержащий вирус, входящий в семейство *Parvoviridae* (от лат. *parvum* – «маленький» или «крошечный»). В пределах этого семейства выделяют три подсемейства, 26 родов и 126 видов [158]. Согласно классификации Международного комитета по таксономии вирусов вид *Human bocavirus* принадлежит реалму *Monodnaviria*, царству *Shotokuvirae*, типу *Cossaviricota*, классу *Quintoviricetes*, порядку *Piccovirales*, семейству *Parvoviridae*, роду *Bocaparvovirus*.

Геном бокапарвовирусов представлен линейной одноцепочечной молекулой ДНК размером 4–6 тыс. п.н., содержит два гена, кодирующих белок-инициатор репликации, называемый NS1, и белок, из которого состоит вирусный капсид. Кодированная часть генома фланкирована теломерами на каждом конце, которые образуют шпильковые петли, участвующие в репликации. Вирсоны бокавирусов характеризуются малым, по сравнению с большинством вирусов, размером (диаметром 23–28 нм), геном вируса заключен в икосаэдрический капсид с неровной поверхностью [147].

Бокапарвовирусы проникают в клетку-хозяина путем эндоцитоза, перемещаясь в ядро, где они ждут, пока клетка не вступит в стадию репликации. В этот момент кодирующая часть генома вируса реплицируется. Затем вирусная информационная РНК (мРНК) транскрибируется и транслируется, в результате чего NS1 инициирует репликацию. Зрелые вирионы покидают клетку путем экзоцитоза или лизиса [147].

Бокавирус человека является частой причиной острых заболеваний дыхательных путей, особенно у маленьких детей. Впервые бокавирус человека был выделен в 2005 г. от младенцев и детей, страдающих острыми респираторными заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей [159]. Позднее он был обнаружен у 1,5–19,0% больных ОРЗ, а также у 1,0% здоровых лиц [147].

В настоящее время известно 4 генотипа бокавируса (*Human bocavirus* BoV). *HBoV1* является причиной респираторных заболеваний у детей, *HBoV* 2–4 типов часто выявляются у пациентов с симптомами гастроэнтерита [147]. Следует отметить, что степень тяжести заболевания и развитие симптомов не зависят от типа бокавируса.

По данным зарубежных исследователей, бокавирус занимает одну из лидирующих позиций (со 2-го по 4-е место) в этиологической структуре острых респираторных инфекций. По данным отечественных авторов, бокавирусная инфекция занимает 5 место в структуре ОРВИ в 2017–2018 гг. [154].

Наиболее часто бокавирусы выявляются у детей в возрасте до 5 лет, а максимальная частота зарегистрирована у детей от 6 мес. до 3 лет [160, 161]. По данным Жилиной Е.А. и соавт., у детей в возрасте от 6 мес. до 1 года бокавирусы выявлялись в 83,0% [154]. У пациентов в возрастной группе до 1 года отмечается тенденция к более легкому течению болезни [156]. Доказано, что материнские антитела могут играть роль в защите младенцев от заражения бокавирусной инфекцией.

Данные литературы о сезонности бокавирусной инфекции неоднозначны. Некоторыми авторами отмечены высокие показатели частоты обнаружения *HBoV*-инфекции в зимние и в первые весенние месяцы со спадом или отсутствием летом [161]. В Новосибирске *HBoV*-инфекция наиболее часто регистрируется в осеннее-зимний период [157]. По данным исследования, проведенного в Москве, бокавирусы достоверно чаще выявлялись в осенние месяцы (октябрь и ноябрь) по сравнению с январем и весенними месяцами (март, апрель, май), максимальные показатели частоты обнаружения *HBoV* были отмечены в ноябре–декабре (11,8%) [156]. Специфических методов профилактики бокавирусной инфекции нет, вакцина не разработана..

3.5 Аденовирусы

Аденовирусы принадлежат к семейству ДНК-содержащих вирусов, лишённых липопротеиновой оболочки. Впервые выделены в 1953 г. из аденоидов человека, поэтому и получили соответствующее название. Наиболее известны аденовирусы, вызывающие острые респираторные заболевания. Вирioны имеют массу 150–180 МД, диаметр 70–90 нм, содержат единичную двухцепочечную молекулу ДНК длиной 34–36 тыс. п.н. Капсид состоит из 252 капсомеров и построен по икосаэдрическому типу симметрии. Репродуктивный цикл аденовирусов приводит либо к лизису пораженных клеток, либо к латентной инфекции (в лимфоидных клетках) [162].

Семейство *Adenoviridae* включает в себя 4 рода: *Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus* и *Siadenovirus*. Медицинское значение имеет только род *Mastadenovirus*. В настоящее время известно более 100 серотипов аденовирусов млекопитающих, многие из которых патогенны для человека. Существует 7 типов аденовирусов (А-Г) человека, объединённых в 88 серотипов. В патологии человека наибольшее значение имеют серотипы 3, 4,

7, 8, 14 и 21. При острых инфекциях дыхательных путей чаще выделяют аденовирусы видов В, С, Е [144].

Аденовирусы чаще поражают верхние дыхательные пути, но могут вызвать пневмонию, клинические проявления которой похожи на другие вирусные пневмонии. Особенностью патогенеза аденовирусной инфекции является «ползучесть» симптомов – вначале поражается слизистая носа, затем глотка и миндалины. В дальнейшем развивается бронхит и пневмония [140, 145].

В исследованиях, проведенных в США, показано, что у 2,5% детей, госпитализированных по поводу аденовирусной инфекции, развивалась тяжелая пневмония, осложненная плевритом, с летальностью 60,0% у детей с нормальным иммунитетом и 83,0% с иммунодефицитом [163].

3.6 Коронавирусы

В соответствии с таксономической классификацией коронавирусы принадлежат к царству *Riboviria*, порядку *Nidovirales*, подпорядку *Cornidovirineae*, семейству *Coronaviridae*, подсемейству *Orthocoronavirinae*, четырем родам (*Alphacoronavirus- α -CoVs*, *Betacoronavirus- β -CoVs*, *Gammacoronavirus- γ -CoVs*, *Deltacoronavirus- δ -CoVs*). Коронавирусы вызывают широко распространенные заболевания у человека и животных. Характерной особенностью всех коронавирусов является наличие расположенного на поверхности вирусной частицы кольца из специфических выступов, придающего вирусу характерный вид. Вирионы крупного размера диаметром 60–130 нм сферической формы. Нуклеокапсид спиральной симметрии, содержит одонитевую положительную РНК, покрыт липидной оболочкой – суперкапсидом (Рисунок 14). На суперкапсиде присутствуют характерные булавовидные выступы в виде солнечной короны – пепломеры, на которых располагаются антигенные детерминанты. С геномом вируса связан основной фосфопротеин N, формирующий нуклеокапсидную структуру. В мембране обнаруживаются мультимембранный протеин М и

гликопротеин S, в оболочке – протеин E. У некоторых коронавирусов отмечается наличие гемагглютенинэстеразы. Гликопротеин S-сигнальный протективный антиген, является индуктором вируснейтрализующих антител. При попадании коронавирусов в организм вырабатываются агглютинирующие, преципитирующие антитела [164].

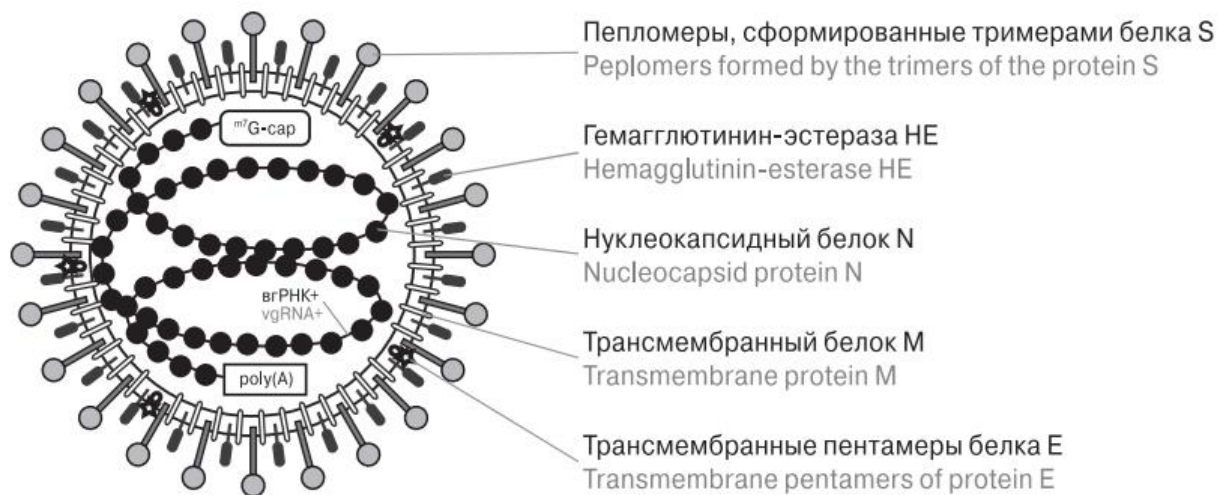


Рисунок 14 – Строение вируса SARS-CoV-2 [164]

Коронавирусы проникают в клетку путем эндоцитоза и репродуцируются в цитоплазме. В инфицированных клетках вирусы находятся в вакуолях вблизи мембран эндоплазматической цепи, где осуществляется сборка вириона. Выход вируса из инфицированных клеток происходит путем экзоцитоза.

Коронавирусы были открыты еще в первой половине прошлого века (вирус инфекционного бронхита кур, 1931 г.) [165]. Первый коронавирус человека, *HCoV-B814*, был выделен в 1965 г. Четыре из пяти известных в настоящее время штаммов – *HCoV-229E*, *HCoV-OC43*, *HCoV-NL63*, *HCoV-NKU1* – относятся к штаммам, циркулирующим круглогодично и приводящим к заболеваниям (сезонные) по типу ОРВИ легкого течения. В большинстве случаев сезонная коронавирусная инфекция протекает с поражением верхних отделов респираторного тракта. Наблюдается недомогание, насморк, першение в горле, небольшое повышение

температуры (не более 38°C) и редкий сухой кашель. У детей могут наблюдаться симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (дискомфорт в животе, неустойчивый стул и тошнота). В течение недели выраженность симптоматики снижается и наступает выздоровление. Иногда заболевание проявляется лишь небольшой слабостью даже при поражении около 25% легких, которое визуализируется только на КТ органов грудной клетки [166].

Первоначально считалось, что эпидемические коронавирусы не относятся к числу особо опасных. Научному сообществу пришлось пересматривать эти представления в 2002 г., когда вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV – Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) проник в популяцию людей из популяции летучих мышей в Юго-Восточной Азии [164].

В 2012 г. были открыты природные очаги вируса Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV – Middle East respiratory syndrome-related coronavirus) (*Betacoronavirus*, *Merbecovirus*) на территории Аравийского полуострова.

В начале декабря 2019 г. в г. Ухань китайской провинции Хубэй стали развиваться эпидемические события, связанные с новым коронавирусом (первоначально названным 2019-nCoV, позже переименованным в вирус тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome 2), способным вызывать у людей тяжелые вплоть до летальных случаев первичные вирусные пневмонии. Заболевание, связанное с SARS-CoV-2, получило название COVID-2019 (Coronavirus Infection Disease 2019) [167]. Вирус SARS-CoV-2 является природно-очаговым с резервированием в популяциях рукокрылых. Новый вариант коронавируса стремительно распространился по всему миру, несмотря на введенные странами ограничительные и противоэпидемические мероприятия. Рост заболеваемости НКИ в мире был обусловлен аэрогенным механизмом реализации инфекции, высокой контагиозностью возбудителя

COVID-19, относительно коротким инкубационным периодом, возможностью бессимптомного носительства вируса, а также отсутствием специфического популяционного иммунитета и терапевтических подходов к лечению.

Было установлено, что геном SARS-CoV-2 гомологичен вирусу MERS-CoV на 50%, SARS-CoV – 79% [164]. В то же время у него выявлены свойства, характерные для доброкачественного коронавируса человека – HCoV-NKU1. Однако, главной отличительной особенностью инфекции, обусловленной вирусом SARS-CoV-1, является крайне высокая летальность – до 10%, при относительно невысокой контагиозности. По мнению ученых, именно наличие совокупности свойств этих двух вирусов у SARS-CoV-2 делает его таким опасным. Более того, исследователи нашли в структуре спайкового белка нового коронавируса элемент, отвечающий за проникновение вируса в клетку – особую петлю из четырех аминокислот, которая не встречается у других известных коронавирусов. Из спайкового белка S сложены шипы на поверхности коронавируса, с помощью которых он может прочно удерживаться на рецепторах здоровых клеток. Были установлены морфометрические параметры вируса SARS-CoV-2: диаметр – 100 нм, объем – 106 нм^3 и масса – около 103 МДа [168]. Также показано, что новый SARS-CoV-2 представляет собой оболочечный РНК-содержащий вирус, его геном размером около 30 000 нуклеотидов кодирует неструктурный репликативный комплекс и структурные белки, включая спайковый шиповидный (S), оболочечный (E), мембранный (M) и нуклеокапсидный (N) белки [169].

Протеолитический фермент фурин, присутствующий в различных органах человека, расщепляет спайковый белок S на две части: S1 и S2 протеины. Далее протеин S1 прикрепляется к ACE2 (ангиотензин превращающий фермент), который является клеточным рецептором для коронавируса. В это время протеин S2 расщепляется протеазой TMPRSS2. Результатом этих двух процессов является слияние мембраны вируса и

хозяина с последующим высвобождением вирусного генома в цитоплазме клетки. С этого момента вирус захватывает механизм управления инфицированной клеткой, которая генерирует только вирусные частицы, высвобождая их, чтобы повторять процесс заражения новых клеток. Спайковый протеин формирует внешний слой коронавируса и защищает его РНК. Структурные белки помогают собирать и выпускать новые копии вируса [169]. В связи с тем, что фурин присутствует в различных органах человека – легких, печени и тонком кишечнике, вирус может атаковать несколько органов сразу, и в этом заключается особая опасность нового коронавируса SARS-CoV-2 для человека.

Чаще всего новый коронавирус SARS-CoV-2 первоначально проникает в бокаловидные и реснитчатые клетки носа, где размножается, затем проникает в легкие – основное место своего нахождения. Коронавирусы вызывают массивное повреждение альвеол, нарушают целостность и повышают проницаемость их стенок. Вследствие нарушения всасывания и пропотевания (просачивания) жидкости в интерстициальное пространство, нарушается водно-солевой обмен, развивается сильная двухсторонняя пневмония. Организм реагирует выработкой большой концентрации цитокинов, которые приводят к повреждению и закупорке сосудов альвеол. Стенки альвеол спадаются, что нарушает дыхание, развивается острый респираторный дистресс-синдром и отек легких. В дальнейшем отмечается фиброзирование легочной ткани, что способствует прогрессированию дыхательной недостаточности. В итоге критическая потеря функции переноса кислорода часто заканчивается летальным исходом из-за недополучения его клетками мозга, сердца, мышц (дефицита кислорода в клетках мозга, сердца и мышцах). В 20,0% случаев при поступлении в отделение интенсивной терапии регистрируются вирусно-бактериальные ко-инфекции [140]. Клиническое течение новой коронавирусной инфекции у детей обычно более легкое из-за менее выраженной воспалительной реакции.

На протяжении пандемии COVID-19 (2020–2022 гг.) наблюдалась смена геновариантов вируса SARS-CoV-2 с первоначально «уханьского» геноварианта, на геновариант Delta, характеризовавшегося самым тяжелым течением заболевания с высокой летальностью, и до геноварианта Omicron, поражающего, преимущественно, верхние дыхательные пути и вызывающего заболевание по типу ОРВИ.

Вирус SARS-CoV-2, адаптируясь к хозяину (человек), претерпевал генетическую эволюцию, приводящую к появлению мутаций в его геноме. ВОЗ классифицировала появляющиеся геноварианты вируса SARS-CoV-2, устанавливая ключевые мутации, изменяющие их свойства, такие как вирулентность, контагиозность, тропность к различным органам и тканям, способность «ускользать» от иммунного ответа. При появлении нового генетического варианта возбудителя COVID-19 и его доминировании в спектре циркулирующих вариантов вируса SARS-CoV-2, наблюдался рост инцидентности COVID-19. Вместе с тем, закономерным процессом при появлении новых вариантов вируса SARS-CoV-2 стало снижение патогенности и вирулентности, рост контагиозности возбудителя НКИ, а также увеличение доли легких клинических форм с одновременным снижением удельного веса случаев COVID-19 с тяжелой степенью тяжести болезни, что также явилось и следствием формирования популяционного иммунитета в результате проводимой специфической профилактики и ранее перенесенного заболевания.

В 2023 г. в соответствии с обновленной классификацией ВОЗ к вариантам вируса SARS-COV-2 VOI отнесены субварианты XBB.1.5 и XBB.1.16. В группу циркулирующих вариантов, находящихся под наблюдением включены генетические линии BA.2.75, CH.1.1, XBB, XBB.1.9.1, XBB.1.9.2, XBB.2.3 и EG.5 (добавлен 19.07.2023 г.) [148].

В соответствии с данными сайта ViralZone (веб-ресурс Швейцарского института биоинформатики для всех вирусных родов и семейств, предоставляющий общую молекулярную и эпидемиологическую

информацию, а также данные о вирионах и геномах) на 01.02.2024 г. к вариантам, вызывающим беспокойство, относятся Omicron (XBB.1.5), Omicron (BA.4/5), Omicron (BA.2.12.1), Omicron (BA.2), Omicron (BA.1), B.1.427, B.1.429 (Epsilon), P1 (Gamma), B.1.617.2 (Delta), B.1.351 (Beta), B.1.1.7 (Alpha), D614G [149].

3.7 Риновирусы

Риновирусы – группа мелких РНК-содержащих вирусов. Согласно официальным данным Международного комитета по таксономии риновирусы принадлежат реалму *Riboviria*, царству *Orthornavirae*, типу *Pisuviricota*, классу *Pisoniviricetes*, порядку *Picornovirales*, семейству *Picornoviridae*, роду *Enterovirus*, видам *Human Rhinovirus A*, *Human Rhinovirus B*, *Human Rhinovirus C*. Внутри видов по типоспецифическому антигену выделяют 110 серотипов риновирусов человека, наиболее часто вызывающих ОРВИ. Диаметр вирусной частицы составляет 15–30 нм. Геном представлен одноцепочечной линейной нефрагментированной молекулой РНК. Нуклеокапсид организован по типу икосаэдрической симметрии. В составе вириона нет липидов и углеводов. Рецептором риновирусов является межклеточная адгезивная молекула ICAM-I, которая экспрессируется на эпителиальных клетках, фибробластах и эндотелиальных клетках. Репликация РНК происходит в цитоплазме.

Риновирусы проникают в организм человека воздушно-капельным путем через нос, полость рта, конъюнктиву, поражая верхние дыхательные пути у взрослых и детей, вызывая инфекцию, характеризующуюся чиханием и выделениями из носа, болью в горле и субфебрильной температурой. В отдельных случаях (у пациентов с ослабленным иммунитетом) риновирусы способны вызвать инфекцию нижних дыхательных путей и привести к острому респираторному дистресс-синдрому и летальности, приближающейся к 50,0% [145].

Риновирусы поражают все возрастные группы, что объясняется чрезвычайно высоким разнообразием серотипов этого вируса и кратковременностью иммунитета. При ОРВИ у взрослых частота выявления риновируса варьирует от 10,0% до 28,0%. У детей с ВП риновирус обнаруживается в 10,7% случаев. Почти у одной трети больных регистрируют одновременное участие в инфекционном процессе двух серотипов вируса, у 10,0% – трех, в единичных случаях четырех серотипов возбудителя. Эпидемические вспышки, связанные с риновирусами, развиваются в осенне-зимний период [170].

Продолжительность заболевания редко превышает 7 суток, у части больных клинические симптомы сохраняются до 14 дней. При затяжном рините (более 2 недель) в результате присоединения бактериальной флоры возможно развитие осложнений (синусит, евстахеит, отит, пневмония), обусловленные присоединением бактериальной флоры, чаще *S. aureus*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella spp.*, *Moraxella spz.*, *Neisseria spp.* [166]. Лечение риновирусной инфекции симптоматическое, средства специфической профилактики отсутствуют в виду большого количества сероваров возбудителя.

3.8 Герпесвирусы

Семейство *Herpesviridae* – большое семейство ДНК-содержащих вирусов, вызывающих разнообразные болезни у человека и животных. Семейство герпесвирусов делится на 3 подсемейства: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae*, *Gammaherpesvirinae*. Выделяют восемь типов вирусов герпеса, вызывающих разные по тяжести процесса заболевания у людей [171].

Геном герпесвирусов представляет собой линейную двухцепочечную молекулу ДНК размером около 150–155 тыс. п.н., содержащий 77 генов, все из которых кодируют белки [111]

Вирионы семейства вирусов герпеса имеют сферическую форму диаметром от 120 до 300 нм. Внутри зрелой вирусной частицы содержится

35–45 различных белковых молекул. Размер икосаэдрического капсида составляет 100–110 нм. Вокруг капсида имеется аморфный белковый тегумент, и всё это заключено в оболочку с гликопротеиновыми шипами.

Отличительным признаком вирусов этого семейства является их способность находиться в клетках, персистируя бесконечно длительное время, без клинических проявлений. При ухудшении состояния организма (простуда, стресс, утомление и т. п.) вирус даёт о себе знать болезнью.

Герпесвирусами заражено большинство населения нашей планеты, вирусы остаются в инфицированном организме пожизненно. У 72,0–94,0% взрослого населения нашей страны выявляются в крови специфические антитела к цитомегаловирусу и вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов [172, 173].

Клинические формы герпесвирусных инфекций характеризуются выраженным полиморфизмом. Вирус может периодически рецидивировать с характерными клиническими проявлениями или бессимптомно, или приобретать генерализованный характер с возможным летальным исходом [172]. Роль герпесвирусов в формировании бронхолегочной патологии дискутируется исследователями. Однако, в последние годы всё чаще регистрируются клинически выраженные тяжелые формы заболеваний, обусловленные первичным инфицированием, реинфекцией или реактивацией герпесвирусов в зараженном организме [174, 175].

В группу особого риска по герпетической инфекции входят лица, перенесшие пересадку органов, ВИЧ-инфицированные, онкологические больные, страдающие лейкозами и лимфомами, беременные женщины вследствие развития у них физиологической иммуносупрессии, а также недоношенные и маловесные дети [172, 175, 176].

Вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типов

Herpes simplex I/II типа (HSV I/II) принадлежат к подсемейству *Alhaherpesviridae*, роду *Symplexvirus*. Вирус простого герпеса

характеризуются коротким циклом репродукции (10–15 часов) и цитопатическим эффектом для клеток хозяина [172].

HSV-I обычно проникает через эпителий слизистой оболочки ротовой полости и носоглотки. Первичная контаминация обычно происходит в раннем детстве при контакте с инфицированной слюной (первые 6 месяцев жизни новорожденные защищены материнскими антителами). Вирус обладает слабой вирулентностью, и лишь изредка заражение проявляется в виде афтозного гингивостоматита, выздоровление после которого не сопровождается элиминацией вируса. При бессимптомной инфекции вирус также не покидает организм, а через нервные окончания проникает в региональные ганглии чувствительных нервов, где сохраняется в ядрах нейронов в виде ДНК, периодически реактивируясь и мигрируя на периферию, бессимптомно выделяется со слюной или поражает эпителиоциты в иннервируемой зараженными нейронами зоне [172, 177].

HSV-II отличается повышенным тропизмом к эпителию органов урогенитальной системы. Первичное заражение происходит по достижении половой зрелости при половых контактах. Это отражает процент серопозитивности среди детей и взрослых – 0–5,0% и 20,0–50,0% соответственно. Подобно HSV-I, вирус обычно не вызывает клинически выраженных поражений, внедряя свою ДНК в региональные ганглии задних корешков спинного мозга. Лишь у 1,0–15,0% инфицированных через 2–3 дня появляются везикулезно-эрозивные высыпания на половых органах. HSV-II может вызывать инфицирование плода во время прохождения через родовые пути и у новорожденного развивается генерализованная герпесная инфекция, которая проявляется в виде множественных поражений кожи и слизистых оболочек, реже - некротических изменений внутренних органов. В тяжелых случаях летальность приближается к 100,0% [178].

Герпетическая пневмония встречается редко, является результатом вирусемии. Вирусная инфекция нижних дыхательных путей развивается вследствие распространения герпетического трахеобронхита на легочную

паренхиме. Следствием гематогенной диссеминации вируса со слизистой оболочки ротовой полости или половых путей может быть двусторонняя интерстициальная пневмония. Герпетические поражения легких развиваются, как правило, у пациентов с иммуносупрессивным состоянием. Летальность при герпетической пневмонии у больных с иммунным дефицитом высокая и составляет более 80,0%. Клиническая диагностика герпетических пневмоний крайне затруднительна в связи с неспецифическим характером клинической картины.

Цитомегаловирус человека

Цитомегаловирус (ЦМВ) – это крупный ДНК – содержащий вирус. Согласно номенклатуре Международного комитета по таксономии вирусов, он относится к реалму *Duplodnaviria*, царству *Heunggongvirae*, типу *Peploviricota*, классу *Herviviricetes*, порядку *Herpesvirales*, семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Cytomegalovirus*, виду *Human herpes virus 5*. Название Цитомегаловирус (*Cytomegalovirus*) было предложено Weller в 1957 г. Впервые частицы цитомегаловируса при электронном микроскопировании увидел Minder в 1953 г., а из клеточных культур ЦМВ был выделен Smith в 1956 г. [179]. В изучение цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) большой вклад внесли отечественные ученые В.М. Жданов, С.А. Демидова, Е.И. Семенова, Ю.В. Лобзин.

ЦМВ– это медленно размножающийся вирус, для образования новых вирусных частиц требуется до 48 часов. При размножении в клетке вирусы действуют цитопатически с образованием гигантских клеток за счет увеличения ядра и цитоплазмы [179, 180]. ЦМВ термолабилен, инактивируется при температуре +56°C, может длительно сохраняться при комнатной температуре. При замораживании до минус 20°C ЦМВ теряет вирулентные свойства, чувствителен к действию дезинфектантов, эфира [172].

Штаммы ЦМВ человека являются близкородственными. Гомология ДНК различных штаммов составляет 90–95%. Генетические различия среди ЦМВ штаммов равномерно распределены по всему геному, но в особенных регионах наблюдается высокий уровень мутаций. Эти области не случайным образом распределены внутри вирусного генома, что гарантирует существование четких геномных вариантов, или «генотипов», при этом полиморфные последовательности встречаются как в кодирующих, так и в некодирующих регионах [111].

Генетическая изменчивость ЦМВ позволяет вирусу реализовать способы иммунного уклонения (например, изменение антигенных эпитопов), создавать вирусные структуры с большей способностью адаптироваться (структурные белки), увеличивать тропизм к клеткам организма-хозяина, повышать эффективность репликации вируса, изменять чувствительность к фармацевтическим препаратам.

Вирион ЦМВ имеет размер 150–200 нм и состоит из капсида (3,9А) в форме икосаэдра (Т-16), содержащий линейный геном, который окружен тегументом (матриксом) и оболочкой. Липидный бислой оболочки клеточного происхождения содержит большое количество кодируемых вирусом гликопротеинов. В тонких участках инфицированных клеток при негативном окрашивании, оболочка ЦМВ проявляется более плеоморфной, чем оболочки других герпесвирусов, что позволяет отделить интактный ЦМВ от других герпесвирусов по морфологическим свойствам. Капсид вируса содержит семь белков, гомологичных белкам вируса простого герпеса (HSV). Основной капсидный белок (МСР, продукт гена *UL85*), формирует гексоны и пентоны. Минорный капсидный белок (SCP, продукт гена *UL48.5* (*UL48/49*)), и три белка сборки (assembling proteins, продукты генов *UL80*, *UL80a* и *UL80.5*), связаны с капсидом. Между слоем капсида и оболочкой находится тегумент, который содержит 25 белков, многие из которых фосфорилированы. Все белки высоко иммуногены и консервативны, но общими для герпесвирусов являются следующие: ppUL83 (pp65), ppUL32

(pp150), ppUL99 (pp28), ppUL82 (pp71) и ppUL48. Также тегумент содержит некоторые транскрипционные трансаактиваторы: ppUL82, ppUL69, pTRS1, pIRS1. Тегументные белки консервативны внутри подсемейства бета-герпесвирусов, но не среди семейства герпесвирусов [181].

ЦМВ отличается от других представителей герпесвирусов еще и тем, что содержит самое большое количество гликопротеинов, например, геном лабораторного штамма AD169 кодирует 57 потенциальных гликопротеинов, а у клинических изолятов ЦМВ обнаружено дополнительно 15 гликопротеинов. Зрелые гликопротеины являются компонентами оболочки, условно подразделены на три комплекса: gC-I, gC-II и gC-III [182].

Геном ЦМВ значительно больше, чем геномы других герпесвирусов, и представлен линейной молекулой ДНК размером 220–240 тыс. п.н. Геном ЦМВ также имеет характерный терминальный участок и перевернутые повторы, размер которых варьирует в зависимости от штамма вируса и истории пассажей. Нуклеотидная последовательность генома разных штаммов ЦМВ достаточно консервативна, хотя последовательности отдельных генов могут быть высоко вариабельными [183]. Так, для дифференциации штаммов ЦМВ в настоящее время широко используются вариабельные гены: *UL55(gB)*, *UL73(gN)*, *UL74(gO)*, *UL144-TNRF*.

Ген *UL55* кодирует гликопротеин gB (906 а.о), который относится к гликопротеиновому комплексу gC-I, играет значительную роль в присоединении и проникновении вируса в клетку хозяина и является основной мишенью для нейтрализующих антител. Кроме этого, он участвует в процессе вирусной репликации, отвечает за слияние клеток и распространение вируса от клетки к клетке. В настоящее время известно 7 основных gB-генотипов ЦМВ: gB-1, gB-2, gB-3, gB-4, gB-5, gB-6, gB-7. Область основной вариабельности расположена в позиции 448–481 а.о. Ген *UL73* кодирует гликопротеин gN (138 а.о.), который индуцирует образование нейтрализующих антител и участвует в присоединении вируса к клетке хозяина. Гликопротеин gN является самым полиморфным белком среди

белков ЦМВ человека. Показано, что аминокислотные замены присутствуют в N-концевой области белка и захватывают участок первых 87 а.о. Данный участок расположен на поверхности вирусной оболочки. Различают 7 gN-генотипов ЦМВ: gN-1, gN-2, gN3a, gN3b и gN4a, gN4b, gN4c.

Геном ЦМВ имеет два уникальных компонента: длинный регион (*UL*) и короткий регион (*US*), которые фланкированы инвертированными повторами *b* (TRL/IRL) и *c* (IRS/TRS). Геном ЦМВ содержит множество повторяющихся последовательностей, и в зависимости от их числа размер генома вирусных изолятов может варьировать до 10 п.н. [184].

Вирус можно обнаружить в моче, слюне, желудочном соке, в различных органах, ликворе, в грудном молоке, сперме, выделениях цервикального канала, лейкоцитах периферической крови [177]. К концу первого года жизни 5,0–10,0% детей обретают серопозитивность. Заражение происходит в родовом канале, при грудном вскармливании или через слюну [176]. Дети младшего возраста заражаются ЦМВ друг от друга в яслях, детских садах, в домах ребенка. ЦМВ может передаваться при переливании цельной крови и её компонентов, а также при пересадке инфицированных органов [185].

Клинически выраженная цитомегаловирусная инфекция – одно из самых частых и серьезных осложнений при пересадке органов. Она развивается у 5,0–25,0% больных, перенесших пересадку почек или печени, у 20,0–50,0% больных после аллогенной трансплантации костного мозга, у 55,0–75,0% реципиентов легких. Риск летального исхода у реципиентов солидных органов, больных ЦМВ - пневмонией, при отсутствии этиотропной терапии составляет 45,0–50,0% и 80,0–85,0% – у пациентов, перенесших трансплантацию аллогенного костного мозга [174].

У иммунокомпетентных лиц ЦМВИ чаще всего протекает бессимптомно, однако спектр клинических проявлений данной инфекции может колебаться от мягкого мононуклеозоподобного синдрома до тяжелых системных заболеваний, таких как интерстициальная пневмония,

гематологические заболевания, гепатит, гастроэнтерит, колит, миокардит, менингоэнцефалит, увеит и др. [186].

Цитомегалия является одной из самых частых и тяжелых внутриутробных инфекций. По данным ряда авторов, от 0,3 до 3,0% всех новорожденных инфицируются ЦМВ в период внутриутробного развития. Внутриутробное поражение органов дыхания служит причиной гипоплазии легких, нарушения строения бронхиального дерева и легочных сосудов плода, развития тяжелой интерстициальной пневмонии у новорожденных, которая свидетельствует о тяжелом течении заболевания и неблагоприятном прогнозе для жизни младенца [187–189]. Поражение цитомегаловирусом органов дыхания более вероятно у детей в возрасте старше 1 месяца, инфицированных во время родов или в раннем постнатальном периоде. Группами риска по развитию манифестных форм ЦМВИ являются ВИЧ-инфицированные; реципиенты органов; онкобольные, получающие цитостатическую терапию; лица с иммунодефицитами, беременные с первичной ЦМВИ, антенатально ЦМВ-инфицированные дети [190].

Для пневмонии, ассоциированной с ЦМВ, характерно длительное рецидивирующее течение с постепенным нарастанием тяжести заболевания. При несвоевременной постановке этиологического диагноза, отсутствии этиотропной терапии, присоединении бактериальной инфекции возможно развитие симптомов дыхательной недостаточности, нарастающего респираторного дистресс-синдрома с высокой вероятностью летального исхода [191].

Глава 4. МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

4.1 «Классические» микробиологические и иммунологические методы

Быстрая и точная идентификация возбудителя остается одной из наиболее сложных проблем диагностики ВП и является ключевым моментом для назначения эффективной этиотропной терапии. Диагностика пневмоний основана на клинических, эпидемиологических, рентгенологических данных и результатах лабораторных исследований [23, 28, 30].

Для индикации и идентификации потенциальных возбудителей ВП существует широкий набор селективных, дифференциально-диагностических питательных сред, иммунохимических, иммунологических и молекулярно-генетических коммерческих тест систем.

В настоящее время алгоритм проведения этиологической диагностики ВП с использованием различных методов исследования: бактериологических, серологических, иммунологических (ИФА, РИФ) иммунохроматографических (ИХА), молекулярно-генетических (ПЦР, ПЦР в реальном времени) регламентирован методическими указаниями МУ 3.1.2/4.2.3973-23 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями». Каждый из перечисленных методов имеет свои преимущества и недостатки, отличается по чувствительности, специфичности, стоимости, сложности выполнения, времени получения результата, требованиям, предъявляемым к образцам биологического материала, подлежащего исследованию. Характеристика методов лабораторной диагностики внебольничной пневмонии представлена в таблицах 7 и 8.

Таблица 7– Характеристика методов лабораторной диагностики внебольничной пневмонии [192]

Методы	Цель	Применение	Образцы	Чувствительность, %	Специфичность, %	Продолжительность	Недостатки
Морфологические	Выявление морфологических структур возбудителя	Окраска препаратов по Романовскому – Гимзе, раствором Люголя и др.	Мазки-отпечатки	–	–	Менее 1 ч.	Имеет историческое значение
Культуральные	Выделение чистой культуры	Посев на селективные питательные среды, заражение культуры клеток, куриных эмбрионов, морских свинок	Мокрота или отделяемое респираторного тракта	80–90	100	3–14 дней	Длительно, эффективность зависит от качества отбора, хранения, предварительной обработки проб, качества питательных сред, сложность получения БАЛ или индуцированной мокроты
			Биоптат легкого, экссудат	90–98			
			кровь	10–30			
Иммунологические	Выявление антител в крови	ИФА, РИФ, РСК, РНГА	Парные сыворотки крови	75	95–99	6–10 недель	Используются только в качестве ретроспективной диагностики, не эффективны у людей со сниженной резистентностью
			Одиночные сыворотки крови	–	50–70		
	Выявление антигена (возбудителя) в клиническом материале	ПИФ	Мокрота или отделяемое респираторного тракта	25–75	95–99	1 ч.	Необходимость проведения бронхоскопии, получение БАЛ или индуцированной мокроты
			Биоптат легкого	80–90	99		
	Выявление растворимого антигена в моче	ИФА, ИХА	моча	50–99	90–100	Менее 1 ч.	ИФА оценивает одновременно 80 образцов мочи, срок хранения тест-систем 6 мес.
Молекулярно-биологические	Выявление специфических нуклеотидных последовательностей	ДНК (РНК) – зонды	Мокрота, отделяемое респир. тракта, лаваж, кровь, биоптат легкого	50–70	95–99	2–6 ч.	Необходимость получения БАЛ или индуцированной мокроты, невозможно определить жизнеспособность бактериальных клеток
		ПЦР		85	99		

Таблица 8– Лабораторная диагностика ВП. Рекомендуемые методы [192]

Инфекционный агент	Морфологические	Культуральные	Иммунологические		Молекулярно-генетические
	Выявление морфологических структур возбудителя	Выделение возбудителя	Определение антигена в клиническом материале	Выявление антител в сыворотке крови	Выявление уникальных фрагментов генома
<i>S. pneumoniae</i>	Микроскопия мазка мокроты, окрашенного по Граму	Посев крови	Выявление антигена в моче иммунохроматографией; в крови, моче, мокроте ВИЭФ, ИФА; в крови и мокроте латекс-агглютинацией	Определение антител к пневмолизину	Выявление уникальных фрагментов генома
<i>H. influenzae</i>	Микроскопия мазка мокроты, окрашенного по Граму	Посев крови, мокроты, биоптатов	–	–	–
<i>Legionella</i> spp.	–	Посев крови, мокроты, биоптатов	Выявление антигена в моче иммунохроматографией или ИФА; ПИФ мокроты	Реакция непрямой иммунофлюоресценции, микроагглютинация	ДНК (РНК) зонды. ПЦР не одобрена
<i>M. pneumoniae</i>	–	Культуральное исследование назофарингиального мазка	Определение антигена в крови методом агрегат-гемагглютинации; в респираторных образцах – РИФ	ИФА, РСК, РНГА	ДНК (РНК) зонды. ПЦР не одобрена
<i>C.psittaci</i> , <i>C. pneumoniae</i>	Окраска препаратов по Романовскому–Гимзе и др.	Культуральное исследование назофарингиального мазка. Заражение культуры клеток McCoy, Hela, La229	Выявление антигена в клиническом материале – РИФ	Выявление антител РИФ, РСК, РНГА; антител классов IgG, IgA, IgM – РИФ, ИФА	ДНК (РНК) зонды. ПЦР не одобрена
Респираторный синтициальный вирус, аденовирус, вирус гриппа	-	Выделение вируса в назофарингиальном мазке	ИФА, РИА	РСК, ИФА	ПЦР

В соответствии с МУ 3.1.2/4.2.3973-23 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями» для установления этиологического агента (агентов) инфекции нижних дыхательных путей (ВП) исследованию подлежат следующие биологические субстраты:

- мокрота при глубоком откашливании;
- мокрота, полученная при индукции ингаляцией стерильного 5%-го раствора натрия хлорида через небулайзер;
- мокрота, полученная аспирацией из зева или из трахеи с помощью хирургического вакуумного или электрического отсоса;
- эндотрахеальный аспират;
- бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), получаемый с помощью фибробронхоскопии;
- кровь и плевральная жидкость [192].

При проведении лабораторных исследований на наличие респираторных вирусов, микоплазм и хламидий в случае невозможности получения материала из нижних дыхательных путей допустимо использование мазков из верхних дыхательных путей (со слизистой оболочки нижнего носового хода и с задней стенки глотки). Отбор респираторных мазков у пациента проводят в одну пробирку, а затем исследуют их как один образец [192].

При подозрении на легионеллезную или паразитарную этиологию инфекции нижних дыхательных путей исследуются БАЛ или биоптаты ткани легких [192].

Биологический материал у пациента берут до назначения антибактериальной терапии, в случае госпитализации – в первые сутки поступления больного в стационар, при амбулаторном ведении больного – как можно раньше от момента появления симптомов острой респираторной инфекции. В случае летального исхода для определения этиологии ВП исследуется аутопсийный материал пораженной ткани легких, бронхов, селезенки и других пораженных органов.

Важнейшим условием качественного проведения лабораторной диагностики является соблюдение требований всех её этапов: преаналитического, аналитического и постаналитического.

«Золотым стандартом» в диагностике ВП, вызванной типичными патогенами (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, энтеробактериями, *S. aureus* и *P. aeruginosa*), является **культуральное исследование**, предполагающее посев образцов биологических субстратов на селективные и дифференциально-диагностические среды, последующую идентификацию выделенных микроорганизмов при помощи различных методов (биохимические тесты, времяпролетная масс-спектрометрия и др.) [28].

Первый этап исследования мокроты при ВП предполагает **бактериоскопию** мазка мокроты (осадка центрифугированного бронхоальвеолярного лаважа), окрашенного по Граму. Этот метод экспресс-диагностики позволяет оценить качество мазка и его пригодность для дальнейших исследований. Диагностическим критерием качественной мокроты является наличие не менее 25 полиморфно-ядерных лейкоцитов и менее 10 эпителиальных клеток при просмотре как минимум 10 полей зрения под увеличением кратном 100. При несоответствии критериям качественной мокроты дальнейшее культуральное исследование образца нецелесообразно, так как в этом случае изучаемый материал может быть в значительной степени контаминирован микрофлорой ротовой полости [28]. Метод является высокоинформативным с чувствительностью до 50,0% [30].

Выявление в мазке большого количества грамположительных или грамотрицательных микроорганизмов с типичной морфологией (ланцетовидных грамположительных диплококков – *S. pneumoniae*; слабоокрашенных грамотрицательных коккобацилл – *H. influenzae* и т. п.) помогает правильной интерпретации результатов культурального исследования в случае выделения условно-патогенных микроорганизмов и может служить ориентиром для выбора эмпирической антибиотикотерапии [193].

Культуральный метод позволяет не только проводить детекцию и идентификацию традиционных бактериальных патогенов, но, кроме того, дает возможность получить информацию в отношении чувствительности исследуемых микроорганизмов к антибиотикам. Порядок лабораторной диагностики ВП, в первую очередь, пневмококковой этиологии изложен в методических рекомендациях МР4.2.0114–16 «Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии» [194].

Этиологический диагноз ВП при бактериологическом исследовании мокроты считается достоверным только в случае обнаружения облигатных патогенов (*L. pneumophila* и др.) [10, 195, 196].

Этиологическая значимость выделенных условно-патогенных микроорганизмов, которые могут быть частью нормальной микрофлоры, оценивается по совокупности показателей титра выделенного микроорганизма, результатов бактериоскопии окрашенного по Граму мазка и данных клинической картины [197–199].

Бактериемия может встречаться при инфицировании бактериальными возбудителями (энтеробактерии, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *H. influenzae*), однако, наиболее часто выявляется при ВП пневмококковой этиологии [200, 201]. Исследование крови культуральным методом характеризуется высокой специфичностью, однако чувствительность метода в этиологической диагностике ВП является довольно низкой. Так, частота положительных находок гемокультуры в когорте госпитализированных больных ВП, по данным нескольких зарубежных исследований, варьировала от 5,0 до 30,0% [202–205].

Показано, что бактериологические посевы крови дают положительный результат менее чем в 5,0% случаев ВП, более часто (до 40,0%) положительны посевы плеврального экссудата [30]. Частота положительных находок гемокультуры зависит от тяжести течения ВП, наличия факторов риска развития бактериемии, предшествующей антибиотикотерапии [203].

Результативность бактериологического (культурального) исследования зависит от соблюдения правил сбора, сроков и условий хранения биологического материала. Вероятность выявления клинически значимых бактериальных возбудителей значительно снижается при сборе клинических образцов на фоне антибиотикотерапии [192].

Важным этапом бактериологического исследования является определение чувствительности выделенных патогенов к антимикробным препаратам и выявление различных механизмов резистентности. Изучение чувствительности к антимикробным препаратам следует проводить в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями [48], которые определяют методологию исследования, интерпретацию и экспертную оценку получаемых результатов [192].

Однако трудности бактериологической детекции возбудителя у больных пневмониями не всегда позволяют определить диагноз по этиологическому принципу. К недостаткам классических методов относится низкая чувствительность (образец должен содержать не менее 1000 клеток/мл), их продолжительность (от 3–5 суток), особенно при индикации медленно растущих патогенов, отсутствие возможности обнаружения труднокультивируемых «атипичных» возбудителей (*S. pneumoniae*, *M. pneumoniae* и др.) и некультивируемых микроорганизмов, влияние антибактериальной терапии на результаты анализа. Исследование материала, полученного от пациента, принимающего антибиотики, может привести к ложноотрицательным результатам [202].

Учитывая полиэтиологичность ВП, необходимо проведение как бактериологических, так и вирусологических исследований с целью выявления респираторных вирусов (вирусы гриппа, ортопневмовирус, метапневмовирус, вирусы парагриппа, аденовирусы, коронавирусы, бокавирус, риновирусы). С использованием культурального метода возможно выявление вирусов гриппа А и В, респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа 1–3-го типов, метапневмовируса человека и

аденовирусов, однако культуральные вирусологические исследования отличаются трудоемкостью и продолжительностью, и в рутинной практике используются крайне редко.

Среди некультуральных методов диагностики ВП в последние годы получил большее распространение **иммунохроматографический анализ (ИХА)** с определением антигенов *L. pneumophila* (1-й серотип) и *S. pneumoniae*, предусматривающий выявление антигенов в различном биологическом субстрате (крови, моче, мокроте и др.). Основное его преимущество – возможность использования «у постели больного» в связи с простотой выполнения и быстрым получением результата. Так, экспресс-тест, предназначенный для выявления пневмококкового полисахарида в моче пациентов с ВП, демонстрирует достаточную чувствительность (50,0–80,0%) и высокую специфичность (> 90,0%) по сравнению с традиционными методами. Чувствительность иммунохроматографического анализа при выявлении *L. pneumophila* у больных ВП составляет 70,0–95,0% и повышается при тяжелом течении заболевания, специфичность достигает 95,0% [206].

К недостаткам ИХА относится возможность получения ложноположительных результатов, в частности, при носительстве пневмококка (ИХА не рекомендуется проводить у детей младше 6 лет) и у лиц, недавно перенесших ВП [30, 207].

Следует отметить, что результаты пневмококкового и легионеллезного ИХА экспресс-тестов, остаются положительными в течение нескольких недель после перенесенного эпизода ВП, поэтому они имеют диагностическую ценность только при наличии клинических проявлений заболевания [112]. ИХА активно применяется при диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

Иммунологические методы диагностики инфекций, вызванных *M. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *Legionella* spp. не рассматриваются в ряду обязательных методов исследования, так как исследованию подлежат парные

сыворотки, отобранные в остром периоде заболевания и через 2 недели от начала болезни, диагностика носит ретроспективный характер.

Оценивается совокупность результатов обнаружения специфических антител классов IgM и IgG в парных сыворотках, исследуемых одновременно. Диагноз хламидийной и микоплазменной респираторной инфекции подтверждается 4-кратной сероконверсией специфических антител в парных сыворотках крови или однократным выявлением IgM-антител в титре $> 1:16$.

Диагноз легионеллеза считается установленным при 4-кратном или более нарастании титра специфических антител к *L. pneumophila* серогруппы 1. В случае отсутствия сыворотки крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня антител к *L. pneumophila* серогруппы 1 (1:128 и выше) в одиночной сыворотке позволяет считать диагноз легионеллез предположительно установленным [208].

Реакция иммунофлуоресценции (ИФА) используется до настоящего времени в отдельных диагностических лабораториях с целью обнаружения антигенов *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae* в различных биосубстратах (мазки из носоглотки, бронхоальвеолярная жидкость, биоптаты), полученных от больных с респираторной инфекцией. Этот метод в сочетании с выявлением специфических антител к *S. pneumoniae* и/или *M. pneumoniae* в ИФА дает возможность подтвердить заболевание, вызванное этими двумя патогенами.

Реакции иммунофлуоресценции позволяют обнаруживать антигены вирусов гриппа, респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа 1–3 и аденовирусов. Материал для исследования методом иммунофлуоресценции необходимо собирать в период не позднее трех дней от начала респираторной инфекции, т. е. в острой фазе заболевания. Метод наиболее эффективен в период, когда внутриклеточное содержание вирусных антигенов бывает наиболее высоким, в связи с этим данный метод относится к малоинформативным.

Другие иммунологические тесты обнаруживают антитела к респираторно-синцитиальному вирусу (реакция нейтрализации (РН), реакция связывания комплемента (РСК), реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), иммуноферментный анализ (ИФА), вирусам парагриппа 1–4 типов (реакция торможения гемагглютинации (РТГА), РСК, ИФА), аденовирусам (ИФА), риновирусам (РСК). Такие исследования носят, как правило, ретроспективный характер.

При интерпретации оценивают изменение титра специфических антител в динамике в парных сыворотках, и их результаты в значительной степени зависят от состояния иммунной системы пациента.

Дополнительным инструментом идентификации микроорганизмов является метод масс-спектрометрии (**MALDI-TOF MS** – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с времяпролетным разделением). Принцип обнаружения основан на испарении и ионизации бактериальных культур после лазерной обработки. Образующиеся ионы и время, необходимое им для достижения детектора, анализируются с помощью масс-спектро스코пии. Время полета специфично для каждого отдельно взятого патогена и, следовательно, может использоваться для идентификации микроорганизмов. Метод MALDI-TOF MS позволяет исследовать антибиотикорезистентность и факторы патогенности инфекционных агентов. Поскольку этот метод требует предварительного культивирования бактерий, а различные патогены характеризуются разной скоростью роста, то и время, необходимое для того, чтобы бактериальная культура стала доступной для анализа с помощью MALDI-TOF MS, значительно варьирует. Кроме того, этот метод подвержен ошибкам при дифференциации близкородственных видов и родов (например, видов *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus mitis*; родов *Shigella* и *Escherichia*) [206, 209].

Спектр методов лабораторной диагностики ВП может различаться в зависимости от возраста пациента, тяжести заболевания, наличия

выраженной иммуносупрессии, а также осложнений, эпидемических показаний (контакт с больным в очаге инфекции или инфицированными объектами среды) и эпидемической ситуации в мире, стране, регионе.

В таблице 9 приведены результаты сравнительного анализа данных литературы по чувствительности и специфичности основных методов этиологической диагностики ВП [210].

4.2 Молекулярно-генетические методы

Все новации последних лет в области молекулярно-генетических технологий нашли свое отражение в этиологической диагностике инфекционных заболеваний органов дыхания, в частности, внебольничных пневмоний. Большое количество публикаций 2012–2023 гг., посвященных выявлению инфекционных агентов – возбудителей ВП с применением методов ДНК-диагностики, доказали существенное преимущество молекулярно-биологических методов в чувствительности, специфичности, скорости исполнения по сравнению с традиционными культуральными и иммунологическими методами [202, 211–215].

Молекулярно-генетические методы являются важным инструментом этиологической диагностики пневмоний, особенно ВП, вызванных труднокультивируемыми микроорганизмами. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет исследовать любой биологический субстрат, не зависит от жизнеспособности микроорганизма, обладает высокой чувствительностью, специфичностью, скоростью получения результата, возможностью одновременного исследования большого числа проб. Молекулярно-генетические методы лишены ограничений, свойственных культуральным методикам, позволяют осуществлять прямую индикацию и идентификацию возбудителя в любом клиническом материале и получать количественную характеристику искомого инфекционного агента.

Таблица 9 – Чувствительность и специфичность различных методов диагностики пневмонии у детей [210].

Исследуемый материал	Рекомендуемые методы исследования	Чувствительность, %	Специфичность, %	Источник
Мокрота	Бактериоскопический	15–100	11–100	16
	Бактериологический	29–94	50	31,32
	ПЦР*	80–90	85	33
Кровь	Бактериологический	2–18	95	13
	ПЦР	100	95–99	31,32
	Серологический**	80,3	92,3	33
Моча	ИХГТ (выявление антигена <i>S.pneumoniae</i>)***	71–96 (взрослых)	50–60	31,32
		74–75	94–97	31,32
Секреты носо/ротоглотки	ПЦР****	56–73		34
		73	99 (для РСВ)	34
БАЛ	Бактериологический	90	97	16
	ПЦР	86–100	90–100	32
Плевральная жидкость	Бактериологический	40–70	100	35
	ПЦР	68–100	92–100	36
Биоптат легкого	Бактериологический	50	100	13
	ПЦР	62	100	13

П р и м е ч а н и е: * – при выявлении *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae*;

** – при выявлении IgM и IgG к *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae*;

*** – рекомендуется в сочетании с другими диагностическими тестами (прокальцин, С-реактивный белок);

**** – данное исследование рекомендуется только для детекции вирусов.

Молекулярно-генетические методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), в первую очередь, ПЦР в различных ее модификациях, полногеномное секвенирование (WGS) и метод микрочипов (микроматрицы) активно применяются в настоящее время для идентификации эпидемически значимых возбудителей ВП бактериальной (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae* – *K. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae* и *L. pneumophila*) и вирусной природы (вирусы гриппа А и В, РСВ, метапневмовирус, вирусы парагриппа 1–4, коронавирусы (229Е, ОС43, NL63, HKU1), риновирусы, аденовирусы (В, С, Е), бокавирус) [206].

При диагностике ВП, вызванной условно-патогенными бактериями, такими как *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, в связи с их способностью к колонизации верхних дыхательных путей, целесообразно применение количественных тестов на основе МАНК, поскольку позволяют дифференцировать случаи носительства [192].

Для ДНК-детекции *S. pneumoniae* наибольшую специфичность имеют тесты, использующие в качестве гена-мишени локус Spn9802. Не рекомендуется в качестве мишеней для идентификации ДНК *S. pneumoniae* использовать гены пневмолизина (*ply*) и аутолизина (*lytA*), поскольку они встречаются у других видов стрептококков – *S. mitis* и *S. oralis* [192].

В настоящее время разработаны и производятся коммерческие наборы реагентов для МАНК, позволяющие выявлять у бактерий детерминанты резистентности к антибиотикам. Так, для подтверждения инфицирования метициллинорезистентным *S. aureus* имеются коммерческие наборы реагентов, основанные на выявлении гена *mecA* в клиническом материале [192]. Для детекции мутаций (A2063G, A2064G или C2617G) в гене 23S рРНК *M. pneumoniae*, ответственных за устойчивость к макролидам, применяются методы МАНК и секвенирования ДНК [109].

Молекулярно-генетические методы основаны на изучении генетического материала (ДНК/РНК) инфекционных агентов и объединяют

методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), технологии, основанные на гибридизации зондов (ДНК-микрочипы), а также секвенирование ДНК [206].

4.2.1 Методы амплификации нуклеиновых кислот

Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) объединяют группу методов, использующих в качестве мишени короткий участок ДНК или РНК, уникальный для патогена, который с помощью специфических олигонуклеотидных праймеров (затравок) энзиматически многократно копируется (амплифицируется), причем накопление такого продукта происходит в геометрической прогрессии по экспоненциальному механизму.

Диагностическая чувствительность данных методов приближается к 100,0%. Дополнительным преимуществом этих методов является отсутствие столь высоких, как в случае бактериологических исследований, требований к условиям хранения и транспортировки образцов клинического материала, необходимости сохранения жизнеспособности патогенов; и как в случае цитологических и микроскопических методов – отсутствие жестких требований к качеству исследуемого материала [58].

К методам, основанным на амплификации нуклеиновых кислот патогенов, относятся полимеразная цепная реакция (ПЦР), лигазная цепная реакция (ЛЦР), амплификация с удалением (вытеснением) цепи (SDA), петлевая изотермическая амплификация (LAMP), амплификация полимеразы рекомбиназы (RPA), транскрипционно-опосредованная амплификация (TMA), реакция амплификации на основе нуклеотидной последовательности нуклеиновых кислот (NASBA), реакция изотермальной транскрипционной амплификации (TAS), самоподдерживающаяся реакция репликации последовательностей (SSSR или 3SR), амплификация с использованием QB-репликазы, амплификации по типу катящегося кольца (RCA) и т. д.

Методы амплификации нуклеиновых кислот микроорганизмов I-IV групп патогенности используют:

- для экспресс-диагностики при исследовании биологического материала, взятого от человека, с целью выявления ДНК (РНК) микроорганизмов I–IV групп патогенности и их количественной оценки;
- для специфической индикации патогенных биологических агентов (ПБА) в объектах окружающей среды и пищевых продуктах;
- для определения эпидемиологической значимости изолятов бактерий на основании выявления генетических маркеров патогенности и антибиотикорезистентности;
- для таксономической характеристики штаммов микроорганизмов на основании выявления специфических видовых, родовых и других маркеров;
- для генотипирования штаммов бактерий и вирусов с целью определения их происхождения;
- для прогнозирования течения инфекционного заболевания и оценки эффективности проводимой терапии [216].

Полимеразная цепная реакция

Принцип полимеразной цепной реакции заключается в амплификации (многократном увеличении) копий фрагмента нуклеиновых кислот (ДНК/(кДНК)/РНК) в условиях *in vitro*, что позволяет обнаружить специфичный участок генома патогена (Рисунок 15).

Выбор фрагмента, подвергающегося амплификации, определяется парой праймеров (затравок) – коротких (15–30 нуклеотидов) искусственно синтезированных молекул ДНК, нуклеотидная последовательность которых подобрана таким образом, что они способны комплементарно связываться только с участком генома интересующего исследователей микроорганизма.

Подбор праймеров определяет специфичность ПЦР. Специальные компьютерные программы позволяют осуществлять подбор праймеров. Как правило, в качестве мишеней для праймеров используют гены

рибосомальной РНК (рРНК), являющиеся высоко консервативными, и имеющими множество копий в геноме. Использование в качестве мишеней специфичных консервативных участков генома возбудителей обуславливает высокие показатели диагностической чувствительности и специфичности ПЦР, приближающиеся к 100,0%.

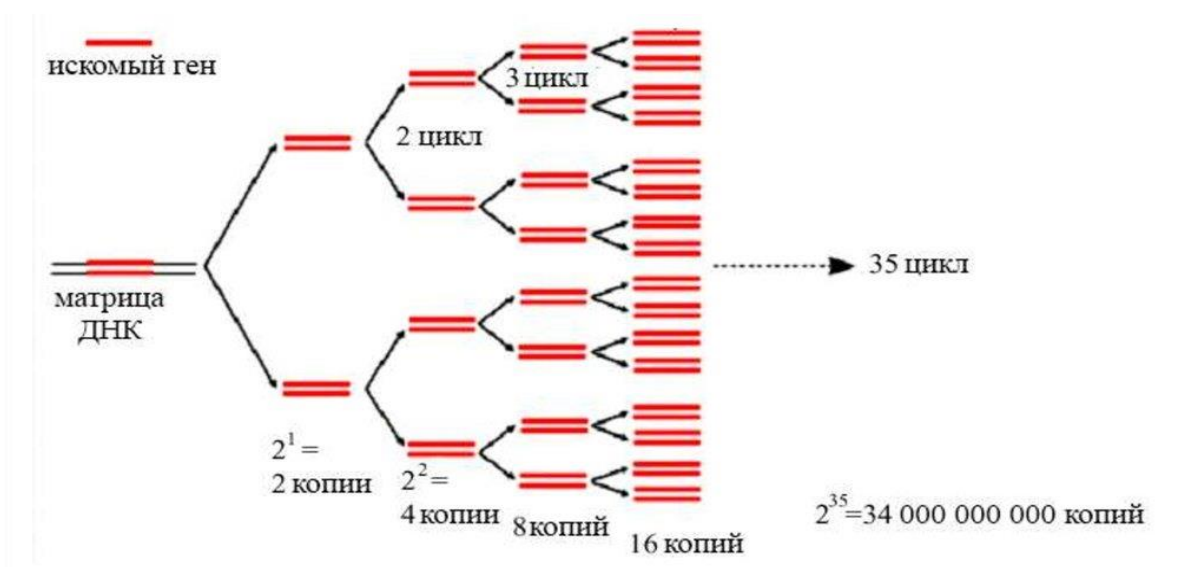


Рисунок 15 – Принципиальная схема ПЦР [217].

ПЦР воссоздает процесс репликации ДНК в пробирке и за это ее называют бесклеточным молекулярным клонированием. Простота исполнения, высокие показатели чувствительности и специфичности принесли методу ПЦР небывалую популярность. За короткое время ПЦР-анализ распространился по всему миру, быстро выйдя из научных лабораторий в практическое здравоохранение. Это позволило ему превратиться в «диагностический инструмент нового тысячелетия». На сегодня ПЦР остается наиболее распространенной и динамично развивающейся технологией.

ПЦР имеет целый ряд модификаций: с «горячим» стартом (hot-start PCR), мультиплексная (мультипраймерная), гнездовая («вложенная», nested PCR), «инвертированная», ассиметричная, метод молекулярных колоний, длинных фрагментов (Long-range PCR), с быстрой амплификацией концов

кДНК (RACE-PCR), универсальная (broad-range PCR), с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР, RT-PCR), иммуно-ПЦР (immuno-PCR-IPCR), в режиме реального времени (Real-Time PCR, Q-PCR), анализ «по конечной точке» (End-point PCR) и т. д.

Амплификация нуклеиновых кислот в качестве вспомогательных техник используется в секвенировании ДНК (в частности, амплификация ДНК является первым и обязательным этапом в технологиях высокопроизводительного секвенирования, ДНК-чипах, рестрикционном анализе, анализе конформационного полиморфизма одноцепочечных молекул (SSCP-анализ).

В клинической диагностике наиболее часто используются традиционная ПЦР и ПЦР в реальном времени.

«Классический» вариант метода ПЦР состоит из трех этапов.

1. Выделение ДНК/РНК из образца клинического материала (пробоподготовка). Целью этапа является разрушение (лизис) клеток и клеточных ядер и изоляция нуклеиновой кислоты. Для этого используют мощные детергенты, разрушающие липидный компонент биомембран (например, додецилсульфат натрия), и денатурирующие вещества для дезактивации мембранных и цитоплазматических белков (например, гуанидин тиоцианат). Одним из преимуществ ПЦР является унифицированная пробоподготовка, которая позволяет извлекать из образца биологического материала как ДНК, так и РНК потенциальных возбудителей инфекционных заболеваний.

Эффективность выделения ДНК и РНК значительно повышается, если использовать для этой цели специальные автоматические станции.. Снижение количества ручных операций ведет к увеличению производительности, сокращению времени, снижению риска перекрестной контаминации, стандартизации процесса выделения и снижению вероятности появления ошибок в работе оператора. Система обеспечивает

высокопроизводительную автоматическую экстракцию (до 96 экстракций за 60 минут).

2. Реакция амплификации. Процесс амплификации нуклеиновых кислот состоит из многократно повторяющихся (30–40) циклов, проходящих внутри специального прибора – амплификатора (программируемого термоциклера). Каждый цикл, как правило, включает три температурных этапа:

- этап денатурации проводится при температуре 95°C, в это время происходит разрушение водородных связей между двумя цепями ДНК и ДНК-матрица становится одноцепочечной;

- этап отжига праймеров (55°–65°C). На этом этапе праймеры комплементарно связываются с гомологичными участками ДНК-матрицы.

- этап элонгации протекает при 72°C, в это время ДНК-полимераза синтезирует цепь ДНК, комплементарную матрице.

Повторяющиеся циклы тепловой денатурации, отжига праймеров и синтеза ДНК приводят к экспоненциальной амплификации фрагмента ДНК, ограниченного праймерами.

Для проведения амплификации в условиях *in vitro* необходимо, чтобы реакционная смесь содержала следующие компоненты:

- термостабильную ДНК-полимеразу (Taq-полимеразу);
- праймеры;
- свободные нуклеотидтрифосфаты – строительные «блоки вновь синтезируемой ДНК»;
- буферный раствор для поддержания постоянства pH в пробирке;
- ДНК-матрицу, выделенную из образца клинического материала.

Мультиплексная ПЦР проводится с использованием нескольких пар праймеров, сконструированных для одновременной амплификации различных мишеней в одной реакции, что позволяет одновременно выявлять несколько инфекционных агентов.

3. Детекция продуктов амплификации и учет результатов.

Специфический продукт ПЦР, называемый ампликоном, может быть определен различными методами:

- электрофоретический (в агарозном или полиакриламидном геле);
- гибридизационно-ферментный;
- гибридизационно-флуоресцентный (детекция продукта в режиме реального времени или регистрация продукта реакции амплификации («анализ по конечной точке»)).

Современные форматы ПЦР обладают чрезвычайно высокой чувствительностью и способны успешно амплифицировать даже единичные копии исходной нуклеиновой кислоты (НК). Коммерческие тест-системы, предназначенные для выявления возбудителей, обычно обладают аналитической чувствительностью от 100 копий НК в 1 мл исходного клинического образца.

ПЦР с обратной транскрипцией

Одной из модификаций ПЦР является ПЦР с реакцией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Это метод представляет собой метод амплификации специфического фрагмента РНК. Одноцепочечную молекулу РНК с помощью фермента обратной транскриптазы превращают в реакции обратной транскрипции в комплементарную ДНК (кДНК), и далее амплифицируют уже одноцепочечную молекулу ДНК, используя традиционную ПЦР [118]. ОТ-ПЦР широко используется в диагностике вирусных инфекций, в частности, для обнаружения РНК-содержащих вирусов. Экспоненциальная амплификация при помощи ОТ-ПЦР является чувствительной методикой, с помощью которой может быть обнаружено малое количество (10^3 копий/мл) молекул РНК [119].

Лигазная цепная реакция (ЛЦР)

В основе метода ЛЦР лежит способность специфического фермента ДНК–лигазы восстанавливать фосфодиэфирные связи в одноцепочечных разрывах двухцепочечных молекул ДНК. Данная методика не нашла

широкого практического применения в связи с большой конкурентностью ПЦР-тест-систем.

Изотермические реакции амплификации

В отличие от циклических реакций (ПЦР и ЛЦР) изотермические реакции амплификации проходят без смены температур и при более низких значениях. Например, NASBA при 41°C, SDA при + 37°C, что позволяет отказаться от термоамплификаторов и использовать водяные бани или лабораторные термостаты.

Метод NASBA

Технология NASBA используется для продолжительной амплификации нуклеиновых кислот в одной смеси и при одной температуре. Мишенью для NASBA служат молекулы рибосомальной РНК. Метод основан на взаимодействии трех ферментов: обратной транскриптазы вируса миобластомы птиц, РНКазы и ДНК-зависимой РНК-полимеразы при постоянной температуре 41°C. Продукты реакции детектируются электрохемилюминесценцией в результате гибридизации с мечеными зондами. Существует метод NASBA в реальном времени.

Петлевая изотермическая амплификация

За последние десятилетия разработан ряд альтернативных способов амплификации нуклеиновых кислот в изотермических условиях, основанных на цепь-вытесняющей активности некоторых ДНК-полимераз. Наибольшее практическое применение получила петлевая изотермическая амплификация (loop-mediated isothermal amplification, LAMP). Принцип метода LAMP заключается в одновременном использовании трех пар праймеров: внешних (прямой «forward» F3 и обратный «backward» B3), внутренних («forward inner primer» – FIP и «backward inner primer» – BIP) и «петлевых» праймеров – LF и LB («loop forward» и «loop backward» соответственно) [220]. Амплификация идет с помощью Bst-полимеразы в течение 1 часа в условиях постоянной температуры (65°C) [221]. Показано, что в результате реакции менее чем за час может быть сгенерировано до 10⁹ копий целевого фрагмента

ДНК, что обуславливает высокую чувствительность метода. Поскольку при постановке петлевой изотермической реакции используются две или три пары праймеров (комплементарных шести или восьми регионам-мишеням искомой ДНК соответственно), данный анализ характеризуется высокой специфичностью [222–224].

Разработаны модификации LAMP, в частности, RT-LAMP-петлевая изотермическая амплификация со стадией обратной транскрипции, что позволяет детектировать наличие РНК-матриц. Данный метод применяют для индикации и идентификации РНК-содержащих вирусов. На сегодняшний день разработаны наборы праймеров для обнаружения вирусов Денге 1–4 типов [225, 226], Зика [227], Западного Нила [226], Чикунгунья [228], клещевого энцефалита [229], коронавируса SARS-CoV [230], коронавируса MERS [231], нового коронавируса SARS-CoV-2 [232], вируса Эбола [233] и многих других. Метод характеризуется достаточно высокой специфичностью и чувствительностью, не уступая ОТ-ПЦР.

Простота, короткий срок постановки реакции, минимальные требования к приборному оснащению делают метод крайне удобным для проведения скрининговых исследований, при геномном мониторинге в рамках эпидемиологического надзора инфекционных и паразитарных болезней [233, 234].

Диагностические наборы, используемые для молекулярной индикации и идентификации возбудителей внебольничной пневмонии

События, связанные с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19, показали, что высокий потенциал использования молекулярно-генетических методов в диагностике не исчерпан. Более того, как и в ряде предшествовавших инцидентов, именно ПЦР-диагностика становится «золотым стандартом» при этиологической диагностике широкого спектра инфекционных болезней [235–237].

На данный момент в РФ проведено масштабное обеспечение практических клинических лабораторий оборудованием и тест-системами

для ПЦР-диагностики, проведена переподготовка специалистов для выполнения ПЦР-исследований. Разработаны, сертифицированы и широко применяются ПЦР-тест-системы для индикации возбудителей ВП, позволяющие выявлять как «классические» бактериальные возбудители – *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes* и *S. aureus*, так и атипичные труднокультивируемые – *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, а также возбудителей острых респираторных вирусных инфекций: вирусов гриппа А и В, ортопневмовируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1–4, коронавирусов (229Е, OC43, NL63, HKU1), риновирусов, аденовирусов (В, С, Е), бокавируса. Эти тест-системы доступны в форматах с электрофоретической детекцией, детекцией по конечной точке флуоресценции, а также с детекцией накопления продуктов амплификации в режиме реального времени. Существенным преимуществом обладают мультиплексные тест-системы, позволяющие проводить одновременно детекцию нескольких возбудителей. Варианты коммерческих ПЦР-тест-систем, используемых для индикации возбудителей ВП, представлены в таблице 10.

В условиях сложившейся эпидемической ситуации, связанной с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19, особую актуальность приобрели методы индикации и идентификации нового коронавируса и его генетических вариантов. Учитывая, что с 2021 г. случаи пневмонии, вызванные новым коронавирусом, в форме федерального статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» регистрируются отдельно, необходимо дифференцировать случаи ВП, обусловленные новым коронавирусом и другими возбудителями. В связи с этим, при этиологической расшифровке случаев ВП на начальном этапе лабораторной диагностики проводят поиск РНК SARS-Cov-2 методом ОТ-ПЦР.

Таблица 10 – ПЦР-тест-системы, используемые для индикации возбудителей ВП

№	Выявляемый инфекционный агент	Наименование ПЦР-тест-системы	Формат детекции продуктов амплификации	Производитель
ПЦР-тест-системы для выявления бактериальных возбудителей ВП				
1	<i>S. pneumoniae</i>	GenPak DNA PCR test (S 2034)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (S 5034)	FEP, FRT	
		РеалБест ДНК Streptococcus pneumoniae	FRT	АО «Вектор-Бест»
		ПНЕВМОКОКК	FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
2	<i>H. influenzae</i>	GenPak DNA PCR test (H 2059)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (H 5059)	FEP, FRT	
		РеалБест ДНК Haemophilus influenzae	FRT	АО «Вектор-Бест»
		ИНФЛЮЭНЗА	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
3	<i>K. pneumoniae</i>	GenPak DNA PCR test (K 2077)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (K 5077)	FEP, FRT	
4	<i>S. pyogenes</i>	СТРЕПТОПОЛ-А	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
5	<i>S. aureus</i>	СТАФИПОЛ	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
6	<i>P. aeruginosa</i>	«АмплиСенс® Pseudomonas aeruginosa-скрин-титр-FL»	FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
		GenPak DNA PCR test (P 2107)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (M 5017)	FEP, FRT	
		АРУГИПОЛ	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
7	<i>M. pneumoniae</i>	GenPak DNA PCR test (M 2017)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (M 5017)	FEP, FRT	
		ПОЛИМИК 1	FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
		РеалБест ДНК Mycoplasma pneumoniae	FRT	АО «Вектор-Бест»
8	<i>C. pneumoniae</i>	GenPak DNA PCR test (C 2012)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (C 5012)	FEP, FRT	
		ПНЕВМОПОЛ-Хл	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»
		РеалБест ДНК Chlamydia pneumoniae	FRT	АО «Вектор-Бест»

9	<i>C. psittaci</i>	GenPak DNA PCR test (C 2013)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (C 5013)	FEP, FRT	
10	<i>L. pneumophila</i>	«АмплиСенс® Legionella pneumophila-FL»	FEP, FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
		РеалБест ДНК Legionella pneumophila	FRT	АО «Вектор-Бест»
		GenPak DNA PCR test (L 2058)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA PCR test (L 5058)	FEP, FRT	
11	<i>M. catarrhalis</i>	GenPak DNA PCR test (S 2060)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (S 5060)	FEP, FRT	
ПЦР-тест-системы для выявления вирусных возбудителей ВП				
12	<i>Adenovirus</i>	GenPak DNA-Fluo PCR test (A 2099)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
		GenPak DNA-Fluo PCR test (A 5099)	FEP, FRT	
13	<i>Human Metapneumovirus</i>	GenPak RNA RT-PCR test (M 3031)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
14	<i>Human Parainfluenza virus</i>	GenPak RNA RT-PCR test (P 3029)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
15	<i>Human Respiratory syncytial virus</i>	GenPak RNA RT-PCR test (R 3030)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
16	<i>Influenza virus A</i>	GenPak RNA RT-PCR test (I 3024)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
17	<i>Influenza virus A, mun N5N1</i>	GenPak RNA RT-PCR test (I 3032)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
18	<i>Influenza virus B</i>	GenPak RNA RT-PCR test (I 3025)	ЭФ	ООО «Галарт-Диагностикум»
Мультиплексные ПЦР тест-системы для выявления бактериальных возбудителей				
19	<i>M. pneumoniae</i> и <i>C. pneumoniae</i>	АмплиСенс® Mycoplasma pneumoniae / Chlamydophila pneumoniae-FL	FEP, FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
20	<i>K. pneumoniae/ P. aeruginosa</i>	РеалБест ДНК Klebsiella pneumoniae / Pseudomonas aeruginosa	FRT	АО «Вектор-Бест»
21	<i>B. pertussis, B. parapertussis, B. bronchiseptica</i>	АмплиСенс ®Bordetella multi-FL	FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
		РеалБест ДНК Bordetella species / Bordetella pertusis / Bordetella bronchiseptica	FRT	АО «Вектор-Бест»
22	<i>Enterobacter spp., Klebsiella spp.</i>	ЭНТЕРОПОЛ	ЭФ, FEP, FRT	ООО НПФ «Литех»

Мультиплексные ПЦР тест-системы для выявления вирусных возбудителей				
23	<i>hRSv*</i> , <i>hMpv*</i> , <i>hPiv*</i> , <i>hCov*</i> , <i>hRv*</i> , <i>hAdv*</i> , <i>hBov*</i>	«АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL»	FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
24	<i>hRSv*</i> , <i>hMpv*</i> , <i>hPiv*</i> , <i>hCov*</i> , <i>hRv*</i> , <i>hAdv*</i> .	ОРЗ ВирусКомплекс	FRT	ООО "ДНК-Технология ТС"
25	<i>Influenza virus A u Influenza virus B</i>	АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL	FEP, FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
26	<i>Influenza virus A (идентификация субтипов H1N1 u H3N2)</i>	АмплиСенс® Influenza virus A-тип-H5, H7, H9-FL	FEP, FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
27	<i>Influenza virus A (идентификация субтипа H5N1)</i>	«АмплиСенс® Influenza virus A H5N1-FL»	FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
28	<i>Influenza virus A (идентификация субтипа A/H1N1(sw2009))</i>	АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL	FEP, FRT	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора

Примечание: ЭФ – электрофоретическая детекция продуктов амплификации;

FEP – гибридационно-флюоресцентная детекция по «конечной точке»;

FRT – гибридационно-флюоресцентная детекция в режиме реального времени;

hRSv – human Respiratory Syncytial virus – респираторно-синцитиальный вирус;

hMpv – human Metapneumovirus – метапневмовирус;

hPiv – human Parainfluenza virus 1–4-го типов – вирус парагриппа 1, 2, 3, 4-го типов,

hCov – human Coronavirus OC43, 229E, NL63, HKUI – коронавирус;

hRv – human Rhinovirus – риновирус;

hAdv – human Adenovirus групп В, С, Е – аденовирусы групп В, С, Е;

hBov – human Bocavirus – бокавирус.

На территории Российской Федерации зарегистрированы 34 ПЦР-набора реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 (Таблица 11). ПЦР-тест-системы отличаются рядом характеристик: типом МАНК (ПЦР и петлевая изотермическая амплификация), чувствительностью наборов (от 5×10^2 до 10^5 копий вирусных геномов), комплектацией, дизайном праймеров (детекция нескольких таргетных участков генома SARS-CoV-2, детекция одного таргетного участка генома SARS-CoV-2, детекция SARS-подобных участков генома коронавирусов), длительностью проведения исследования (от 1 до 6 часов) [238].

В России основными разработчиками и производителями ПЦР-тест-систем для выявления возбудителей ВП, включая SARS-CoV-2, являются ФБУН «ЦНИИЭ Роспотребнадзора», ООО «ДНК-Технология ТС», ООО НПФ «Литех», АО «Вектор-Бест», ООО «Галарт-Диагностикум», ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, ООО «Система-БиоТех», АО «ГЕНЕРИУМ», ООО «Генотек».

4.2.2 Методы секвенирования ДНК

Методы секвенирования ДНК – это группа методов определения нуклеотидной последовательности в молекуле ДНК/РНК. В настоящее время в зависимости от используемой технологии существует три поколения методов секвенирования ДНК.

Технологической основой для геномных исследований служат секвенаторы (генетические анализаторы), производимые целым рядом коммерческих компаний, такими как Illumina (США), Thermo Fisher Scientific (США), Oxford Nanopore Technologies (Великобритания), Pacific Biosciences (США), MGI Tech (КНР) и др. Основными точками приложения методов секвенирования в области микробиологии, вирусологии и эпидемиологии являются открытие новых бактерий и вирусов, анализ вариативности геномов возбудителей инфекционных заболеваний, изучение микробных сообществ.

Таблица 11 – Перечень отдельных зарегистрированных в Российской Федерации диагностических наборов реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 по [171]

	Наименование тест-системы	Производитель
на основе полимеразной цепной реакции		
1	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса 2019-nCoV методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «Вектор-ПЦРv-2019-nCoV-RG»	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
2	Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS/COVID-19 методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «Вектор-OneStepПЦР-CoV-RG»	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
3	Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию: MERS-Cov (Middle East respiratory syndrome coronavirus) и SARS-Cov родственных вирусов (Severe acute respiratory syndrome coronavirus, Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2), в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® CoVs-Bat-FL»	ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора
4	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени «РеалБест РНК SARS-CoV-2»	АО «Вектор-Бест»
5	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) методом полимеразной цепной реакции «АмплиТест SARS-CoV-2»	ФГБУ «ЦСП» Минздрава России
6	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией «ПОЛИВИР SARS- CoV-2»	ООО НПФ «Литех»
7	Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «SARS-CoV-2/SARS-CoV»	ООО «ДНК-Технология ТС»
8	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса 2019-nCoV методом полимеразной цепной реакции в реальном времени «ПЦР-РВ-2019-nCov»	ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России
9	Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР»	ООО «МедипалТех»
10	Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «SBT-DX-SARS-CoV-2»	ООО «Система-БиоТех»

11	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) методом полимеразной цепной реакции с автоматической экстракцией РНК «АмплиТест SARS-CoV-2 авто»	ФГБУ «ЦСП» Минздрава России
12	Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS/COVID-19 методом ПЦР «GeneFinderCOVID-19 PlusRealAmpKit» (IFMR-45)	ООО «АВИВИР», Республика Корея
13	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией «COVID-19 OneStep»	ООО «Генотек»
14	Набор реагентов для качественного выявления РНК коронавируса (SARS-CoV-2) методом ОТ-ПЦР в реальном времени «CoV-2-Тест»	ООО «ТестГен»
на основе петлевой изотермической реакции		
15	Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени	ООО «СМАРТЛАЙФКЕА»
16	Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной амплификации «Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин»	АО «ГЕНЕРИУМ»
17	Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени	ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»
18	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом изотермической амплификации с обратной транскрипцией «IsoAmp SARS-CoV-2»	ООО НПФ «Литех»
19	Набор реагентов для экспресс-выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале методом петлевой изотермической амплификации «SBT-DX-SARS-CoV-2 FASTCOLOR»	ООО «Система-БиоТех»
20	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале методом петлевой изотермической амплификации «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNAREAL»	ООО «Система-БиоТех»

Одним из наиболее интересных направлений работы с геномами микроорганизмов явилось метагеномное секвенирование следующего поколения (mNGS). С момента первого клинического применения в 2014г. оно показало многообещающие результаты в диагностике инфекционных заболеваний благодаря своей способности идентифицировать всю совокупность микроорганизмов, содержащихся в образце с помощью одного анализа [239–241]. Так, использование технологии mNGS позволило выявить сложные и разнообразные сообщества микроорганизмов, которые находятся в альвеолах, так называемый микробиом легкого [166]. Показано, что резидентные альвеолярные микробы играют роль в развитии пневмонии, а измененный альвеолярный микробиом (альвеолярный дисбиоз) может быть предрасполагающим фактором развития пневмонии. Альвеолярный микробиом похож на оральную флору и состоит в основном из анаэробных бактерий (например, *Prevotella* и *Veillonella*) и микроаэрофильных стрептококков. Экзогенные повреждающие факторы (вирусная инфекция, воздействие дыма), могут изменить состав альвеолярного микробиома и вызвать чрезмерный рост определенных микробов. Следует отметить, что микроорганизмы, составляющие альвеолярный микробиом, трудно поддаются культивированию с использованием стандартных методик, в связи с этим наблюдается низкая скорость обнаружения патогенов у пациентов с ВП [242].

Показано, что применение метагеномного секвенирования позволяет определить этиологическую причину ВП существенно быстрее, чем при использовании стандартных лабораторных методов [243–246].

Примером является работа Wu X. и соавт., в которой при обследовании 329 взрослых пациентов с тяжелой ВП этиологический фактор был установлен в 304 случаях (92,4%) по сравнению с 39,5% при использовании традиционных методов. Наиболее часто встречающимися патогенами у иммунокомпетентных пациентов были *S. pneumoniae* (14,8%), риновирус (9,8%), *H. influenzae* (9,1%), *S. aureus* (8,7%) и *C. psittaci* (8,0%), тогда как у

пациентов с ослабленным иммунитетом были выявлены *Pneumocystis jirovecii* (44,6%), *K. pneumoniae* (18,5%), *S. pneumoniae* (15,4%), *H. influenzae* (13,8%) и *P. aeruginosa* (13,8%). Примечательно, что новый коронавирус (SARS-CoV-2) был идентифицирован у двух пациентов только с помощью mNGS; у одного пациента были обнаружены редко встречающиеся патогены (*Orientia tsutsugamushi* и *Nocardia otitidiscaviarum*). Смешанные инфекции выявлены у 56,8% пациентов [243].

Помимо того, что с помощью mNGS эффективность этиологической расшифровки случаев ВП значительно повышается, технология mNGS – секвенирования позволяет получить больше информации о штаммах возбудителей, включая характеристику детерминант патогенности и антибиотикорезистентности, что может быть использовано в эпидемиологическом надзоре за ВП. Относительно короткие сроки исследования (24–48 часов) делают возможным использование mNGS в клинической диагностике.

Полногеномное секвенирование позволяет получить максимально полную информацию о структуре генома микроорганизмов и всех индивидуальных генетических вариациях. Этот метод позволяет обнаружить мутации, однонуклеотидные полиморфизмы, вставки и делеции групп нуклеотидов, проследить филогению маркерных генов, генов антибиотикорезистентности и патогенности.

В настоящее время в международной базе данных GenBank содержатся сведения о нуклеотидных последовательностях тысяч видов микроорганизмов, в том числе нуклеотидные последовательности геномов бактериальных возбудителей ВП. Так, в ней имеется более 8800 геномных последовательностей *S. pneumoniae*, более 2000 последовательностей *H. influenzae* и т. д. [247].

Однако, в ряде случаев проведение полногеномного исследования может быть нецелесообразным и экономически затратным. В таком случае оправдано **таргетное** (целевое) **секвенирование**, позволяющее

сосредоточиться на конкретных областях генома или отдельных генов. Этот метод применяется в том случае, когда нет необходимости исследовать все гены, а достаточно установить структуру только одного гена или некоторых его участков, так называемых горячих точек, где наличие мутации наиболее вероятно. Для таргетного секвенирования используется обычно метод Сэнгера, который позволяет установить последовательность небольших фрагментов ДНК – до 1000 нуклеотидов в одном исследовании. Главные плюсы секвенирования по Сенгеру – высокая точность (достоверность) полученных данных и невысокая стоимость работ при анализе небольшого количества ДНК-фрагментов.

Вариантами таргетного секвенирования являются мультилокусное секвенирование-типирование (MLST), мультилокусный анализ областей генома с переменным числом tandemных повторов (MLVA), позволяющие выявлять различия в геноме уже известных инфекционных агентов, осуществлять мониторинг генетической изменчивости патогенов, проследить филогению видов [248]. В частности, мультилокусное секвенирование-типирование используется для изучения популяционной структуры пневмококков. Метод MLST основан на анализе нуклеотидных последовательностей генов, мало подверженных селективному давлению внешних факторов. Штаммы, идентичные по нуклеотидным последовательностям этих генов, объединены в сиквенс-типы. Группы штаммов, различающиеся по одной нуклеотидной замене, объединены в клональные комплексы. Результаты MLST-типирования позволяют анализировать генетические механизмы разнообразия популяций микроорганизмов. Как правило, для штаммов, относящихся к одной генетической линии (сиквенс-типу или клональному комплексу), характерен определенный серотип. Но вследствие горизонтального генетического обмена бактериальная клетка может приобрести ген, кодирующий синтез капсульных полисахаридов, не характерных для данной генетической линии, – явление так называемого «переключение серотипов» [249–251].

4.2.3 Метод микрочипов

Одним из перспективных инструментов для решения задачи индикации и идентификации возбудителей инфекционных заболеваний и, в частности, ВП, являются микрочипы.

Микрочип представляет собой двумерный массив ДНК-олигонуклеотидов (ДНК-микрочип) или пептидов (белковый микрочип), иммобилизованных на твердой подложке. После пробоподготовки и мечения фрагменты ДНК или белки биологических образцов гибридизуются с комплементарными им ДНК или пептидами на поверхности микрочипа. Детекция этих взаимодействий происходит путем считывания флуоресцентных, хемилюминесцентных или биотинилированных меток. В зависимости от задач исследования количество элементов на микрочипах варьирует в широких пределах – от нескольких десятков до многих тысяч [252–255].

ДНК микрочипы

ДНК-микрочипы могут содержать фрагменты геномов многих штаммов и серотипов патогенных микроорганизмов, позволяя проводить их типирование [256–259]. Также на ДНК микрочипах могут синтезироваться библиотеки из альтернативных фрагментов участков геномов, что позволяет изучать изменчивость патогенов и типировать близкородственные организмы [260, 261]. В настоящее время в ФБУН «ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы выполняется НИР «Создание прототипа ДНК-биочипа для индикации актуальных возбудителей внебольничных пневмоний, обусловленных широким спектром бактериальных и вирусных патогенов, в том числе новым коронавирусом SARS-CoV-2». Данный раздел подготовлен с участием сотрудников лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии, возглавляемой ведущим научным сотрудником кандидатом биологических наук Уткиным О.В.

В настоящее время имеется целый ряд коммерческих ДНК-микрочипов, позволяющих проводить детекцию микроорганизмов, ассоциированных с ВП и другими бронхолегочными заболеваниями. Первой разработкой были чипы LLMDA – «Lawrence Livermore Microbial Detection Array». Начальный вариант микрочипа, выпущенный в 2010 г., охватывал 38000 вирусных геномов, принадлежащих к 2200 видам, и 3500 бактериальных геномов, принадлежащих к 900 видам [262].

К 2018 г. эта же группа исследователей разработала ДНК-микрочип «Axiom Microbiome Array», предназначенный для детекции 6091 вида бактерий (34254 генома + плазмид), 4770 видов вирусов (99808 геномов), 381 вид представителей царства грибов (658 геномов), а также архей и простейших [258, 259, 263].

Значительно снизить стоимость исследования при использовании микрочипов позволила технология CLART (Genomica, Испания). ДНК-чипы CLART_PneumoVir, CLART_PneumoVir2 и Pneumo_CLART_bacteria используются для детекции микроорганизмов при различных заболеваниях дыхательных путей. CLART_PneumoVir2 содержит зонды для детекции аденовирусов; бокавируса; коронавирусов 229E, OC43, NL63; вирусов гриппа А, В, С; метапневмовируса субтипов А, В; респираторно-синцитиальных вирусов А и В и др. ДНК-чип Pneumo_CLART_bacteria содержит 120 зондов для детекции *Staphylococcus aureus* метициллин-резистентного подвида, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *M. pneumoniae*, *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* и др.

В 2013 г. был разработан ДНК-микрочип для детекции широкого круга микроорганизмов, обуславливающих патологию дыхательной системы, – RPM-IVDC1 (Resequencing Pathogen Microarray) [261]. Предложенный авторами подход позволил обеспечить 100% специфичность при дифференциации микроорганизмов с высоким сходством геномов. Чувствительность ДНК микрочипа для разных патогенов варьировала в

диапазоне 10–1000 копий и в ряде случаев превышала чувствительность ПЦР [261].

Микрочип GIS PathChip, разработанный для детекции вирусов, ассоциированных с патологиями респираторного тракта, включал зонды к 25000 геномов [264]. Пробные испытания на 290 образцах показали чувствительность 60,0–95,0% и близкую к 100% специфичность для подавляющего большинства вирусов.

Один из последних разработанных на данный момент ДНК микрочипов для детекции патогенов, предложен Ма и соавт. и содержит 60 целевых зондов для определения 15 видов бактерий, ассоциированных с пневмониями. Чувствительность чипа составляет около 1000 копий гена в 1 мкл исходной пробы [265].

Помимо ДНК-микрочипов, детектирующих широкий спектр патогенов, ассоциированных с ВП, созданы ДНК-чипы, позволяющие проводить их типирование. Технология ДНК-микрочипов дает возможность различать участки ДНК патогенов, обладающих минимальными отличиями, т.е. позволяет типировать близкородственные микроорганизмы, что является одним из актуальных направлений, в частности, в случае определения серотипов *S. pneumoniae*.

Разработанный в 2009 г. ДНК-чип «BμG@SSP-CPS v1.4.0» для типирования *S. pneumoniae* содержал 6824 зонда, в том числе зонды к 432 капсулярным генам *cps* [266].

Разработаны гибридизационные тест-системы для типирования метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* (MRSA, methicillin resistant *S. aureus*) [267–269].

По сравнению с другими методами типирования патогенов, результаты, полученные с помощью ДНК микрочипов, характеризуются сравнимой или превосходящей специфичностью, чувствительностью и воспроизводимостью [260, 261]. К недостаткам метода следует отнести сложность и трудоемкость пробоподготовки и высокую стоимость оборудования и реактивов [270, 271].

Пептидные микрочипы

Эти виды микрочипов, содержащие библиотеки патогенных белков, могут использоваться для выявления эпитопов, взаимодействующих с антителами [272], и дальнейшей разработки вакцин, а также для детекции иммуногенных белков [273–275]. Выявленные с помощью пептидных микрочипов кандидатные дискриминирующие маркеры патогенов могут использоваться для разработки диагностических тест-систем [276]. В связи с высокой стоимостью разработки, белковые микрочипы обладают меньшей распространенностью и используются, в основном, для фундаментальных исследований.

К настоящему времени имеются разработанные белковые микрочипы, выявляющие антитела к антигенам коронавирусов (HKU1, OC43, NL63, 229E, MERS, SARS, 2019-nCoV/SARS-CoV-2) и антигенам других вирусов, ассоциированных с лёгочными патологиями (риносинцитиальный вирус, метапневмовирус, вирус парагриппа и др.) [277, 278]. Разработаны белковые микрочипы для выявления в крови биомаркеров *M. tuberculosis* [275, 279]. Создан микрочип, несущий мембранные протеины *Pseudomonas aeruginosa* [280]. Предложен микрочип для выявления сывороточного маркера, позволяющий дифференцировать бактериальные и небактериальные пневмонии у детей [281]. Сконструирован чип для диагностики пневмококковых пневмоний у детей [263].

Приведенные исследования продемонстрировали перспективность изучения взаимодействий в системе протеин-протеин, что находит применение, в фундаментальных и прикладных исследованиях проблемы диагностики ВП.

Таким образом, технология микрочипов позволяет проводить многосторонний анализ биологических образцов и является весьма перспективной для детекции и типирования возбудителей инфекций респираторного тракта.

Глава 5 РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

В современной терапии ВП используется широкий арсенал антибактериальных средств, что теоретически обеспечивает подавление любых микроорганизмов. Тем не менее, клиническая практика свидетельствует, что применение антибиотиков не является абсолютной гарантией успешного лечения ВП. Неэффективность антибактериальной терапии обусловлена как объективными, так и субъективными причинами. Объективной реальностью является возрастание эпидемиологической значимости ранее малоизвестных и труднокультивируемых возбудителей пневмонии: таких как легионеллы, микоплазмы, хламидии, пневмоцисты со своеобразным спектром чувствительности к антибиотикам. Серьезной проблемой является приобретенная резистентность к антибиотикам многих микроорганизмов – возбудителей ВП. Наконец к реалиям современной жизни следует отнести увеличение численности иммунокомпрометированных лиц, к которым относятся лица, страдающие хроническими заболеваниями, больные онкологическими заболеваниями, сахарным диабетом, получающие кортикостероиды и иммунодепрессанты, ВИЧ-инфицированные. К субъективным причинам относятся ошибки в диагностике ВП и в тактике антибактериальной терапии.

В настоящее время для лечения инфекций верхних и нижних отделов респираторного тракта широко применяются два основных класса антимикробных препаратов – β -лактамы и макролиды. В последние годы наблюдается относительное увеличение частоты назначений препаратов фторхинолонового ряда (левофлоксацин, ципрофлоксацин, офлоксацин). Формирование лекарственной устойчивости у возбудителей внебольничных пневмоний является возрастающей глобальной проблемой. Во многом это обусловлено интенсивным, не всегда оправданным применением

антибактериальных препаратов при лечении различных воспалительных заболеваний [282].

В 1998 г. было начато первое в России многоцентровое проспективное исследование ПеГАС, посвященное изучению антибиотикорезистентности основных возбудителей внебольничных инфекций: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, β -гемолитических стрептококков группы А и *Moraxella catarrhalis*. В нем приняли участие 20 микробиологических лабораторий в различных регионах России, что позволило получить наиболее объемные данные по резистентности клинических штаммов.

Согласно результатам исследования ПеГАС-III (2006–2009 гг.), уровень резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину в РФ превысил критическое значение (10,0%) и составил 11,2% (из них 9,1% – штаммы с промежуточной резистентностью и 2,1% – с высоким уровнем резистентности к пенициллину) [1, 282].

По данным литературы, резистентность *S. pneumoniae* к эритромицину составляет менее 5,0%; а 99,6% и 100% изолятов чувствительны к амоксициллину и респираторным фторхинолонам соответственно. Однако, в некоторых федеральных округах РФ (Южном, Дальневосточном и Уральском) частота выделения пенициллиночувствительных пневмококков (ПНЧП) выше среднего показателя по РФ и составляет 14,3%, 25,0% и 16,7% соответственно [283].

В целом, показатели резистентности пневмококков к пенициллину в России при сравнении со странами Европейского сообщества аналогичны таковым в Финляндии; существенно ниже, чем в Болгарии (37%), Франции (26,8%), Польше (29,8%) и Испании (22%), однако, вдвое выше, чем в Германии, Великобритании, Бельгии, Нидерландах, Дании, Швеции и Норвегии, где частота ПНЧП не превышает 5,0% [284].

Чувствительность пневмококков к амоксициллину, являющемуся препаратом выбора при пневмококковых инфекциях, сохраняется на очень высоком уровне – 99,6%. Пневмококки лишены способности продуцировать

β -лактамазы, а механизм их резистентности к β -лактамным антибиотикам обусловлен модификацией пенициллиносвязывающего белка. В этой связи, ингибитор-защищенные пенициллины не имеют преимуществ перед амоксициллином в отношении пневмококка.

Устойчивость *S. pneumoniae* к макролидам, по данным исследований ПеГАС I-III, не превышает 10,0%. Резистентность *S. pneumoniae* к карбапенемам и ванкомицину отсутствовала, а резистентными к респираторным фторхинолонам (левофлоксацину, моксифлоксацину) были лишь единичные штаммы [1].

Уровень резистентности штаммов *S. pneumoniae*, выделенных у отдельных категорий населения, может быть существенно выше средних показателей. В российском мультицентровом исследовании показано, что у детей до 5 лет, посещающих детские сады, не обнаружены случаи носительства ПНЧП ($n = 143$ штамма пневмококка), тогда как у детей этого возраста, находящихся в детских домах, частота выделения ПНЧП составила 17,5% ($n = 163$ штамма) [285].

Публикации последних лет свидетельствуют о нарастающей частоте выявления резистентных к АБП *S. pneumoniae*. Так, в исследовании, проведенном в г. Москве в 2009–2011 гг. и включавшем анализ 350 госпитальных штаммов пневмококка, полученных от детей в возрасте от 2 мес. до 17 лет, доля ПНЧП составила 26,8%, частота резистентности к 14-членным макролидам была 20,4% [286].

Проблема резистентности *H. influenzae* в мире является также актуальной. Препаратами выбора для лечения ВП, вызванной *H. influenzae*, являются аминопенициллины, амоксицилин/клавуланат (панклав), цефалоспорины 2–3-го поколения, фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, левофлоксацин и пр.) [287].

По данным глобального эпидемиологического исследования (2003–2004 гг.), продукция β -лактамаз обнаружена у 12,3% *H. influenzae*, у 5,2%

изолятов гемофильной палочки определена устойчивость к ампициллину, обусловленная другими механизмами резистентности [288].

По данным исследования ПеГАС-II (2004–2006 гг.), штаммы *H. influenzae*, продуцирующие β -лактамазы, в РФ не распространены и составляют 5,4% среди изолятов в общей популяции [289].

Однако, несмотря на высокую активность многих АМП, требуется постоянный мониторинг антибиотикорезистентности возбудителей ВП, включая *H. influenzae*. Так, в ряде стран Азии отмечен высокий уровень резистентности *H. influenzae* к ципрофлоксацину: 20,0–58,8% устойчивых штаммов [287, 290].

Учитывая высокий уровень устойчивости *H. influenzae* к ко-тримоксазолу (около 33% устойчивых штаммов), данный препарат исключен из рекомендаций по терапии респираторных инфекций.

Наибольшей природной активностью в отношении *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* обладают макролиды, тетрациклины (доксциклин), респираторные фторхинолоны.

Отсутствие клеточной стенки у *M. pneumoniae* определяет их природную устойчивость к β -лактамам и ко всем антимикробным препаратам, мишенью действия которых она является [109]. Микоплазмы резистентны к сульфаниламидам, полимиксинам, триметоприму, рифампицину и линезолиду [291]. В клинической практике при лечении инфекций, обусловленных *M. pneumoniae*, применяют препараты группы макролидов, линкозамиды, стрептограмины и кетолиды, тетрациклины и фторхинолины [291]. Макролиды и линкозамиды ингибируют синтез белка на рибосомах бактериальных клеток. Эти антимикробные препараты связываются непосредственно с конкретными нуклеотидами в доменах II и V пептидилтрансферазной петли 23S рРНК [292].

Макролиды являются препаратами выбора при лечении микоплазменных инфекций [293]. До 2000-х гг. сообщения о резистентности к макролидам *M. pneumoniae* носили единичный характер. В публикациях

периода 1968-1999 г. упоминалось о единичных случаях выявления устойчивых к эритромицину штаммов, выделенных в Японии, Израиле, Финляндии, Франции и США [192]. С 2000-х гг. ситуация резко изменилась: сразу несколько японских исследователей сообщили о значительном увеличении показателей резистентности к этой группе препаратов. В 2006 г. доля устойчивых к макролидам штаммов составила 30,0%, в 2009 г. – около 60,0%, а в 2011 гг. выросла до 89,0% [294, 295]. В КНР, согласно данным многочисленных исследований, распространенность макролид-устойчивых штаммов достигла 90,0%. Процент устойчивых штаммов, циркулирующих в Южной Корее, Гонконге и Тайвани, составляет 62,9%, 47,1% и 23,3% соответственно [296]. Такие высокие показатели частоты обнаружения макролидустойчивых штаммов в этих регионах связаны, в первую очередь, с обширным использованием макролидов в клинической практике. В США и Канаде показатели распространенности микоплазм, устойчивых к макролидам, варьируют от 3,5 до 13,2%, в Европе ниже – 10,0% [296]. В настоящее время опубликованы данные о единичных случаях выявления резистентных штаммов на территории России [297]. Резистентность *M. pneumoniae* к макролидам связана с модификацией мишени действия – мутациями в генах 23S рРНК и рибосомных белках L4 и L22. Результаты молекулярно-генетических исследований показали, что транзикация A2058G (нумерация по *E. coli*) в пептидил-трансферазной петле V домена 23S рРНК является наиболее распространенной мутацией, ассоциированной с приобретенной резистентностью к макролидам [196]. Другие замены отмечаются в позициях 2058 (A2058C, A2058T), 2059 (A2059G, A2059C), 2062 (A2062G) и 2611 (C2611G, C2611A) [297]. Редкие мутации были зарегистрированы в рибосомных белках L4 и L22 *in vivo*. Результаты сравнительного анализа данных, полученных с использованием технологии секвенирования и при исследовании фенотипа чувствительности к антибиотикам, также подтверждают, что мутации A2058G и A2059G приводят к клинически значимой устойчивости микоплазм к 14- и 15-

членным макролидами и линкозамидами. Для 16-членных макролидов мутация A2058G ассоциируется с промежуточным уровнем устойчивости к этим антибиотикам [296].

Мишенью действия фторхинолонов являются два бактериальных фермента ДНК-гиразы и топоизомеразы VI, необходимых для нормальной репликации бактериальной ДНК. Фторхинолоны нового поколения, такие как левофлоксацин и ципрофлоксацин, активны в отношении всех изученных видов микоплазм человека, включая *M. pneumoniae*. На сегодняшний день не сообщается о выявлении клинических изолятов *M. pneumoniae*, резистентных к фторхинолонам и тетрациклинам. Мутации в генах субъединиц *gyrA* и *gyrB* ДНК-гиразы и *parC* и *parE* топоизомеразы IV являются основными механизмами, обуславливающими антибиотикорезистентность микоплазм к фторхинолонам [298].

Тетрациклины и родственные им глицилциклины ингибируют синтез бактериальных белков. Они обладают бактериостатической активностью вследствие связывания с рибосомной субъединицей 30S, состоящей из 16S рРНК и нескольких рибосомных белков. Основной участок, связывающий тетрациклины, локализован в зоне, образованной остатками спирали 34 и 31 на 16S рРНК. Вследствие приобретения мутаций у *M. pneumoniae* снижалась чувствительность к тетрациклину, доксициклину и миноциклину до МПК ≤ 2 мкг/мл [299].

Препаратами выбора для лечения легионеллезной ВП являются макролиды (эритромицин, кларитромицин, азитромицин), высокую эффективность в клинических исследованиях продемонстрировали фторхинолоны (левофлоксацин), и доксициклин.

Препаратом выбора при стафилококковых пневмониях, вызванных MSSA, является оксациллин, амоксиклав, цефалоспорины 1 поколения, линкозамиды. В случае выявления MRSA рекомендуется использование ванкомицина или линезолида [1, 174].

Применение методов молекулярно-генетического анализа позволило получить данные, значительно расширившие представления о механизмах появления и распространения генов антибиотикорезистентности среди микроорганизмов, имеющих клиническое значение при ВП.

Формирование резистентности во всех случаях обусловлено или приобретением новой генетической информации, или изменением уровня экспрессии собственных генов [300].

Применение антимикробных препаратов (АМП) служит основным фактором риска селекции резистентных штаммов микроорганизмов. В ряде исследований было убедительно показано, что уровень резистентности пневмококков к пенициллину в определенной степени зависит от потребления пенициллинов или β -лактамов в целом, а уровень резистентности к макролидам – от потребления макролидов [282]. При этом несомненный практический интерес для определения политики применения антибиотиков представляют работы, свидетельствующие о неравноценном потенциале различных АМП приводить к селекции резистентных штаммов. В исследованиях, организованных НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ) Смоленской государственной медицинской академии, в 12 детских домах 5 городов РФ, было продемонстрировано, что увеличение частоты назначения амоксициллина/клавуланата (АМК) в 2,4 раза не привело к росту резистентности назофарингеальных изолятов *S. pneumoniae* к пенициллину и амоксициллину, в то время, как повышение потребления цефалоспоринов вызвало увеличение доли пневмококков, устойчивых к данному классу АМП [296]. Кроме того, риск селекции резистентных штаммов возрастает при использовании субоптимальных доз АМП, недостаточных для надежной эрадикации возбудителя. Соответственно, для обеспечения максимальной “экологической” безопасности терапии необходимо использовать высокоэффективные АМП в довольно высоких дозах. Именно такой подход соответствует принципу “убитые бактерии не мутируют” [301].

Глава 6. МНОГОЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

Сотрудниками лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов ФБУН «ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора накоплен многолетний (2005–2023 гг.) опыт применения молекулярно-биологических методов для этиологической диагностики ВП, а также для изучения распространенности детерминант резистентности к антибиотикам и патогенности бактериальных патогенов. Заслуживает внимания комплексный подход к исследованию бактериальных и вирусных возбудителей инфекций респираторного тракта, внедрение научных результатов лаборатории в практическую медицину и работу учреждений Роспотребнадзора. Сотрудниками лаборатории разработан целый ряд нормативных и информационно-методических документов федерального уровня: методические указания МУ 3.1.2.3047-13 «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями», методические рекомендации «Алгоритм выявления широкого спектра возбудителей воспалительных заболеваний органов дыхания» и МР 3.1.0222-20 «Молекулярная диагностика инфекций, вызванных бактериями рода *Mycoplasma*, у детей», пособие для врачей «Комплексная ПЦР-детекция герпесвирусов у часто болеющих детей». Впервые разработана новая медицинская технология «Комплексное ПЦР-обследование пациентов с инфекционно-аллергическими заболеваниями органов дыхания», позволившая сократить себестоимость исследования и повысить эффективность выявления инфекционных агентов. В настоящее время в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора (2021-2025 гг.) проводится крупномасштабное исследование видового и генетического разнообразия широкого спектра бактериальных и вирусных возбудителей внебольничной пневмонии,

включая новый коронавирус SARS-CoV-2, у детей с применением современных молекулярно-генетических методов, а также изучение механизмов антимикробной резистентности бактериальных возбудителей ВП с использованием омиксных технологий.

6.1 Результаты применения молекулярно-генетических методов для этиологической диагностики внебольничной пневмонии у детей

В данном разделе представлены результаты мониторинга бактериальных и вирусных, включая новый коронавирус SARS-CoV-2, патогенов и их роли в развитии пневмонии у детей в период 2021–2023гг. Особое внимание уделено характеристике видового и генетического разнообразия возбудителей ВП в эпоху пандемии COVID-19.

Обследовано 578 детей в возрасте от 0 до 17 лет, находившихся на стационарном лечении с рентгенологически подтвержденным диагнозом – внебольничная пневмония. Результаты проведенных исследований показали, что спектр возбудителей был разнообразный. Среди бактериальных возбудителей на протяжении всего периода мониторинга лидировал *S. pneumoniae* (2021 г. – 81,7%, 2022 г. – 77,1%, 2023 г. – 75,2%). Второе ранговое положение в 2021 г. и 2022 г. заняла *H. influenzae*, а в 2023 г. – *M.pneumoniae* (29,7%).

Анализ пейзажа бактериальных возбудителей ВП у детей в разных возрастных группах показал, что частота обнаружения бактерий видов *S. pneumoniae* и *H. influenzae* была наибольшей в возрастной группе от 3 до 7 лет (84,6 и 30,8% соответственно) (Рисунок 16).

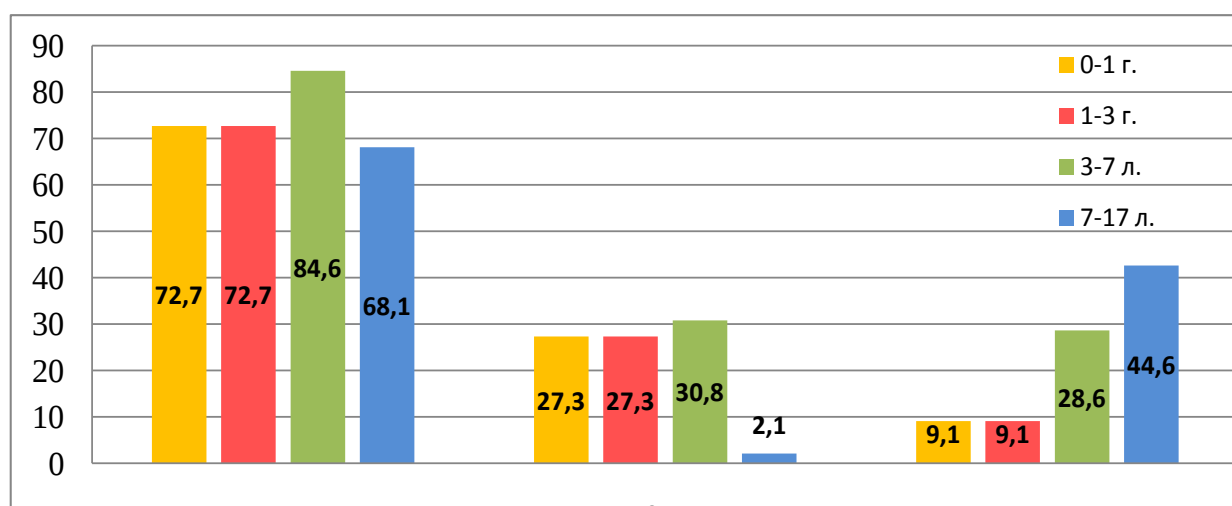


Рисунок 16 – Частота выявления бактериальных возбудителей ВП у детей разных возрастных групп, %

Следует отметить, что *M. pneumoniae* обнаруживалась во всех возрастных группах пациентов, но преимущественно у детей в возрасте от 7 до 17 лет (44,6%). В группе детей от 3 до 7 лет *M. pneumoniae* выявлялась в 28,6% случаев, а у детей в возрасте от 1 года до 3-х и в группе детей до 1 года *M. pneumoniae* идентифицирована в 9,1%. Бактерии видов *C. pneumoniae* и *L. pneumophila* не были обнаружены ни у одного ребенка.

В 2023 г. у детей при ВП частота выявления возбудителей вирусной природы в целом составила 28,8%. Наиболее часто встречались риновирусы (8,9%), метапневмовирусы (3,7%), бокавирусы (3,7%). Аденовирусы (В, С, Е), респираторно-синцитиальный вирус и вирусы парагриппа (1–4-го типов) выявлялись реже: в 3,5%, 3,0% и 2,0% соответственно. Вирус SARS-CoV-2 был обнаружен у 5 пациентов с ВП. Сезонные коронавирусы типов HKU-1, OC-43, NL-63, 229E у обследованных детей были обнаружены в 1,5% случаев. Риновирусы выявлялись преимущественно в группе детей в возрасте до 1 года (27,3%), частота обнаружения в группе от 3 до 7 лет составила 15,4%, а в группе от 7 до 17 лет – 12,8% (Рисунок 17).

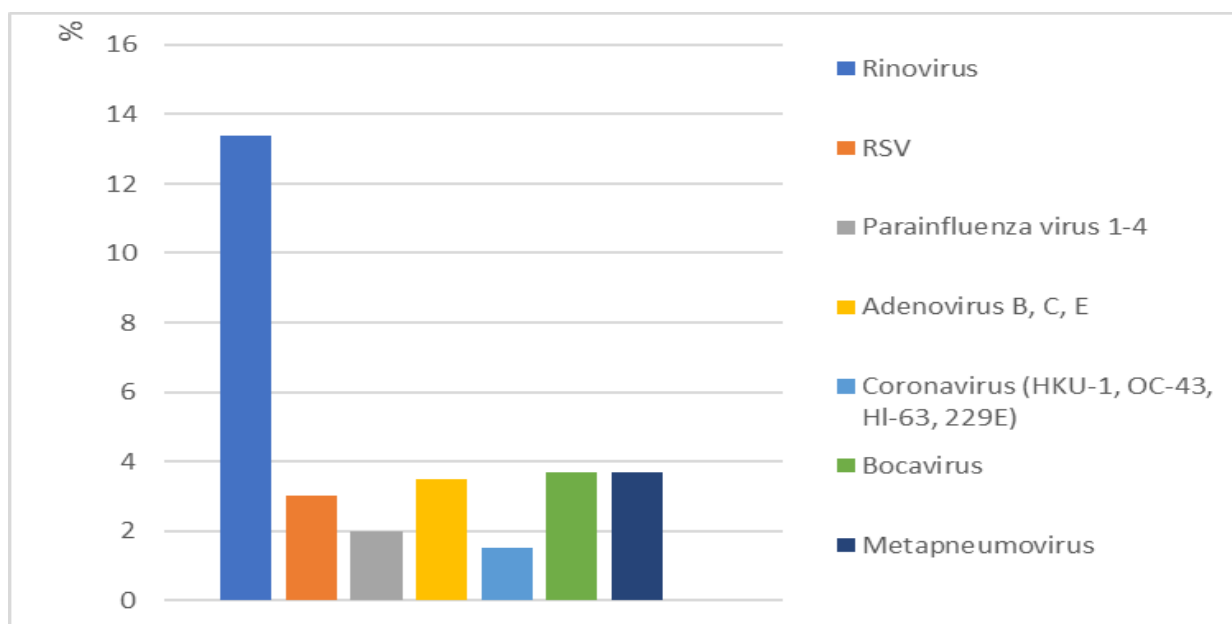


Рисунок 17 – Частота выявления вирусных возбудителей ВП у детей разных возрастных групп, %

Анализ структуры инфицирования бактериальными и вирусными патогенами детей с ВП показал, что в 42,1% случаев наблюдалась моноинфекция, обусловленная *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae* или риновирусом. В 57,9% случаев имела место сочетанная инфекция, обусловленная наличием бактериальных (58,8%) и бактериально-вирусных (41,1%) ассоциаций из двух и более возбудителей (Рисунок 18). Ассоциация из двух инфекционных патогенов встречалась в 60,8% (от общего числа ассоциаций), из трех – в 20,6%, из четырех – 4,1%, из пяти – в единичных случаях.

Сравнительный анализ частоты выявления возбудителей ВП бактериальной и вирусной природы в период с 2021 по 2023 г. позволил отметить, что эпидемия новой коронавирусной инфекции отразилась на спектре возбудителей и их долевом участии в этиологической структуре ВП (Таблица 12).

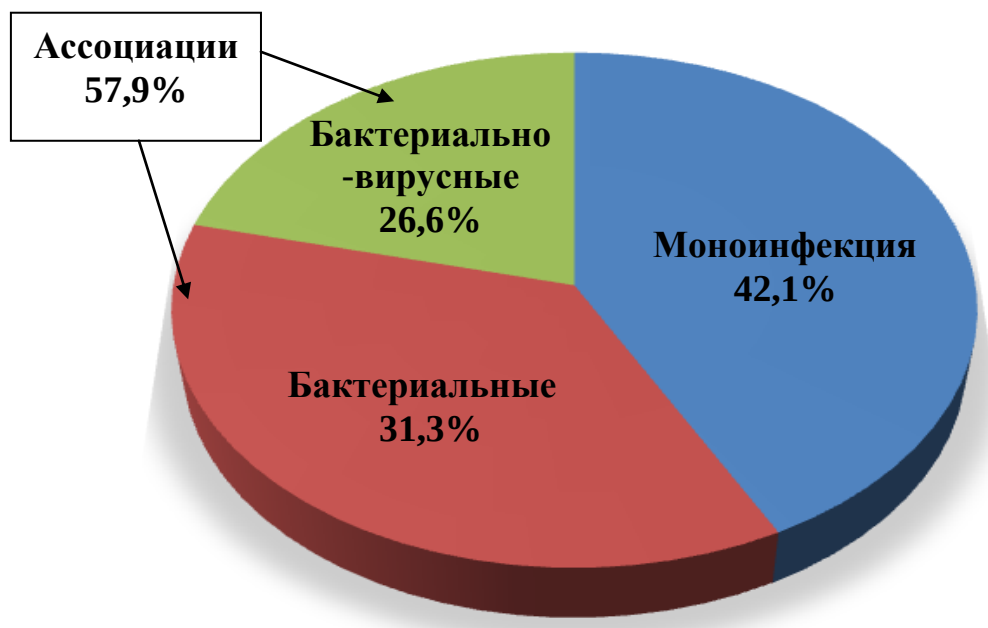


Рисунок 18 – Структура инфицирования детей с ВП в 2023 г.

Таблица 12 – Спектр и частота выявления возбудителей ВП у детей в 2021, 2022 и 2023 гг.

Этиологический агент	Частота выявления, %		
	2021 г. (n = 306)	2022 г. (n = 70)	2023 г. (n = 202)
<i>S. pneumoniae</i>	81,7 ± 2,2	77,1 ± 5,0	75,2 ± 3,0
<i>H. influenzae</i>	22,9 ± 2,4	14,2 ± 4,1	22,8 ± 2,9
<i>M. pneumoniae</i>	18,0 ± 2,1	7,1 ± 3,1	29,7 ± 3,2
<i>C. pneumoniae</i>	0	0	0
<i>L. pneumophila</i>	0	0	0
<i>Rinovirus</i>	2,9 ± 1,0	8,5 ± 3,3	8,9 ± 2,0
<i>RSV</i>	2,3 ± 0,9	7,1 ± 3,1	3,0 ± 1,2
<i>Parainfluenza virus 1–4</i>	0	2,9 ± 2,0	2,0 ± 1,0
<i>Adenovirus B, C, E</i>	0	1,4 ± 1,4	3,5 ± 1,3
<i>Coronavirus (HKU-1, OC-43, H1-63, 229E)</i>	1,0 ± 0,6	1,4 ± 1,4	1,5 ± 0,8
<i>Bocavirus</i>	1,6 ± 0,7	0	3,7 ± 1,3
<i>Metapneumovirus</i>	1,6 ± 0,7	0	3,7 ± 1,3
<i>SARS-CoV-2</i>	25,2 ± 2,5	0	2,5 ± 1,1

Доля детей с ВП, у которых были выявлены вирусные возбудители, в 2021 г. составила 34,6%, а в 2022 г. – 21,3%, в 2023 г. – 28,8%. Более высокие показатели частоты выявления вирусов у детей с ВП в 2021 г. были обусловлены штаммами нового коронавируса SARS-CoV-2, среди которых доминировал геновариант Delta (индийский) (от 13,8% до 37,6% в разных возрастных группах), отличающийся высокой тропностью к альвеолоцитам человека и обладающий способностью специфически поражать эндотелий сосудов легких, вызывать стремительное течение болезни и клинически выраженные формы заболевания. В 2022 г. в клинических образцах, полученных от детей с ВП, РНК SARS-CoV-2 не была обнаружена, что обусловлено циркуляцией высококонтагиозного нового геноварианта Omicron, поражающего верхние дыхательные пути и не приводящего к развитию пневмонии. В 2023 г. РНК вируса SARS-CoV-2 геноварианта Omicron была обнаружена лишь в ассоциации с бактериальными патогенами у 5 пациентов. Следует отметить, что вариант Omicron характеризуется большей тропностью к эпителию верхних дыхательных путей, но низкой - к альвеолоцитам человека, что объясняет более легкое клиническое течение заболевания.

Из бактериальных возбудителей ВП у детей на протяжении всего периода наблюдения (2021–2023 гг.) доминировал *S. pneumoniae*. При этом следует отметить, что показатели частоты выявления пневмококка в 2023 г. были ниже по сравнению с 2021 г. и 2022 г., что, вероятно, связано с высоким уровнем охвата детей (95,8%) вакцинацией против данного возбудителя. Снижение частоты выявления пневмококка у детей во всех возрастных группах подтверждает эффективность иммунизации детей против данного возбудителя [6, 59].

Второе ранговое место в этиологической структуре ВП у детей во всех возрастных группах в 2023 г. заняла *M. pneumoniae*. Частота выявления *M. pneumoniae* составила в целом 29,7%, а в группе детей в возрасте от 7 до 17 лет – 44,6%.

Третье ранговое место принадлежит *H. influenzae*, доля которого в этиологической структуре ВП у детей в 2021 г. составила 22,9%, в 2022 г. – 14,2%, а в 2023 г. – 12,2%. Показатели частоты обнаружения *H. influenzae* в 2023 г. были существенно ниже, чем в 2021 г., что, вероятно, связано с введением в календарный план прививок вакцины против гемофильной палочки.

Таким образом, мониторинг широкого спектра бактериальных и вирусных возбудителей ВП представляется важной задачей эпидемиологического надзора за респираторными инфекциями.

6.2 Молекулярно-генетические технологии в геномном мониторинге *S. pneumoniae*

С внедрением в практику современных молекулярно-генетических технологий, включая высокопроизводительное секвенирование (NGS), появилась возможность проведения генотипирования эпидемически значимых штаммов бактерий (определение сиквенс-типовой и серотиповой принадлежности, наличия детерминант антибиотикорезистентности и патогенности) на качественно новом уровне.

С использованием полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа нами была получена детальная молекулярно-генетическая характеристика семи нижегородских штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от детей с внебольничной пневмонией. Характеристика структуры генома штаммов *S. pneumoniae* (по данным сервисов RAST и PGAP (NCBI)) представлена в таблице 13.

Анализ нуклеотидных последовательностей «генов домашнего хозяйства» (MLST) с использованием сервера PubMLST <https://pubmlst.org/organisms/Streptococcus-pneumoniae> позволил определить сиквенс-типы анализируемых штаммов на основе анализа 7 генов: *aroE* (шикиматдегидрогеназа), *gdh* (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), *gki*

(глюкокиназа), *recP* (транскетолаза), *spi* (сигнальная пептидаза I), *xpt* (ксантинфосфорибозилтрансфераза), *ddl* (D-аланин – D-аланинлигаза).

Установлено, что штаммы *S. pneumoniae*, вошедшие в исследование, принадлежат к разным сиквенс-типам: ST1367, ST819, ST1262, ST180, ST15069, ST66. Сиквенс тип одного штамма определить не удалось, поскольку он обладает новыми аллельными вариантами 5 генов, последовательности которых были направлены на депонирование в базу данных PubMLST. Штамм *S. pneumoniae* NN2023-1 можно отнести к новому сиквенс-типу. Генетическая уникальность этого штамма, вероятно, обусловлена присутствием в его геноме двух CRIPS-ассоциированных эндонуклеаз (*Cas1* и *Cas2*).

Принадлежность штаммов к отдельным сиквенс-типам, а также отдельные аллельные варианты MLST-генов представлены в таблице 14.

Анализ MLST-генов показал высокий уровень полиморфизма генов «домашнего хозяйства» у нижегородских штаммов *S. pneumoniae*.

Сравнительный анализ частоты встречаемости сиквенс-типов российских и зарубежных штаммов *S. pneumoniae* в базе данных PubMLST, показал, что штаммы *S. pneumoniae* NN2023-4 и NN2023-5, относятся к сиквенс-типам ST1262 и ST180, широко распространенным в мире. Штаммы *S. pneumoniae* NN2023-2 сиквенс-типа ST1367 и *S. pneumoniae* NN2023-3 сиквенс-типа ST819 в базе данных PubMLST в российской популяции ранее не описаны (Таблица 15).

Таблица 13– Структура генома штаммов *S. pneumoniae* (по данным сервисов RAST и PGAP (NCBI))

Показатели	Штамм <i>S. pneumoniae</i>						
	NN2023-1	NN2023-2	NN2023-3	NN2023-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
Размер генома, тыс. п.н	2 060,427	1 953,340	2 043,697	2 054,302	2035,143	2 102,079	2 135,999
ГЦ, %	39,8	40,2	39,6	39,6	3,9	39,7	39,8
Количество контигов	40	213	69	116	134	53	212
Общее число генов	1988	2038	2131	2100	2162	2227	2315
Количество белок- кодирующих генов	1950	1915	1947	1934	2106	2177	2260
Количество псевдогенов	52	128	146	123	188	168	208
Количество РНК	38	48	38	43	59	50	52
CRISPR массив	2	–	–	–	–	–	–

С использованием веб-ресурса «Проект глобального секвенирования пневмококка» (GPS) (<https://www.pneumogen.net/gps/>) была определена принадлежность нижегородских штаммов к отдельным глобальным линиям (GPSC-штаммам). GPSC (глобальный кластер пневмококковых последовательностей) – это международное геномное определение линии пневмококков, проводимое с использованием программного обеспечения для кластеризации под названием PopPUNK. Эта схема типирования позволяет учитывать все вариации по изучаемому геному и сопоставлять с нуклеотидными последовательностями, имеющимися в этой базе данных. Соответствие сиквенс-типов нижегородских штаммов *S. pneumoniae* NN2023-1, NN2023-2, NN2023-3, NN2023-4, NN2023-5, NN2023-6, NN2023-7 отдельным глобальным линиям (GPSC-штаммам) представлено в таблице 16.

Анализ полученных данных показал, что нижегородские штаммы отличаются высоким генетическим разнообразием и относятся к разным глобальным кластерам *S. pneumoniae*. Исключение составили два штамма *S. pneumoniae* NN2023-5 (ST 180) и NN2023-6 (ST 15069), принадлежащие к одному глобальному кластеру 12, к которому относится ряд других сиквенс-типов (ST505, ST2049), распространенных на территории Российской Федерации [250].

Полногеномное секвенирование позволяет получить информацию о нуклеотидной последовательности генов, детерминирующих синтез полисахаридной капсулы, ответственной за определённый серотип патогена. С использованием алгоритма SeroBA, основанного на методе k-меров, нам удалось определить серотиповую принадлежность изучаемых штаммов *S. pneumoniae*. Результаты молекулярного серотипирования приведены в таблице 17.

Таблица 14– Аллельные варианты MLST-генов и сиквенс-типы анализируемых штаммов

S. pneumoniae (по данным базы данных PubMLST)

Гены MLST	Штаммы <i>S. pneumoniae</i>						
	NN2023-1	NN2023-2	NN2023-3	NN2023-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
<i>aroE</i>	-	2	1	7	7	7	2
<i>ddl</i>	-	18	18	1	22	22	1
<i>gdh</i>	-	16	1	41	15	8	8
<i>gki</i>	-	29	4	2	2	40	2
<i>recP</i>	-	18	1	6	10	1	4
<i>spi</i>	16	42	18	10	6	10	6
<i>xpt</i>	3	3	58	26	1	1	1
Сиквенс-тип ST	не определен	1367	819	1262	180	15069	66

Таблица 15– Представленность российских и зарубежных штаммов *S. pneumoniae*, отдельных сиквенс-типов

в базе данных PubMLST

	Штаммы <i>S. pneumoniae</i>						
	NN2023-1	NN2023-2	NN2023-3	NN2022-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
Сиквенс-тип ST	-	1367	819	1262	180	15069	66
Количество изолятов, относящихся к данному ST	0	11	9	259	1469	2	322
Количество российских изолятов, относящихся к данному ST	0	0	0	10	17	1	2

Таблица 16 – Соответствие сиквенс-типов исследуемых штаммов *S. pneumoniae* отдельным глобальным линиям (GPSC-штаммам) (по данным базы данных GPSP*)

Характеристика	Штаммы <i>S. pneumoniae</i>					
	NN2023-2	NN2023-3	NN2023-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
Сиквенс-тип ST	1367	819	1262	180	15069	66
Номер кластера в GPSP*	3	19	11	12	12	16

* GPSP – The Global Pneumococcal Sequencing Project: <https://www.pneumogen.net/gps/>

Таблица 17 – Серотипы исследуемых штаммов *S. pneumoniae*, определенные с использованием алгоритма SeroBA

	Штаммы <i>S. pneumoniae</i>					
	NN2023-2	NN2023-3	NN2023-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
Серотип	11C	22F	15C	3	3	9N

У 6 штаммов *S. pneumoniae* NN2023-2, NN2023-3, NN2023-4, NN2023-5, NN2023-6, NN2023-7 серотип, определенный с помощью биоинформатического анализа, соответствовал серотипу, доминирующему среди соответствующих сиквенс-типов в базе данных PubMLST. У штамма *S. pneumoniae* NN2022-3, принадлежащего ST1367, установлен серотип 11С. Среди штаммов сиквенс-типа 1367 наблюдается большая вариабельность серотипов: 11А, 11С, 33А, 33F, 37.

Проведенный с помощью программного обеспечения eBURST анализ показал, что все изученные нами штаммы *S. pneumoniae* относятся к разным клональным комплексам, что согласуется с данными литературы, свидетельствующими об отсутствии выраженной клональной структуры популяции пневмококков, циркулирующих на территории России [250]. Клональная группа сиквенс-типа ST 1367 (на примере штамма *S. pneumoniae* NN2023-2), представлена на рисунке 19.

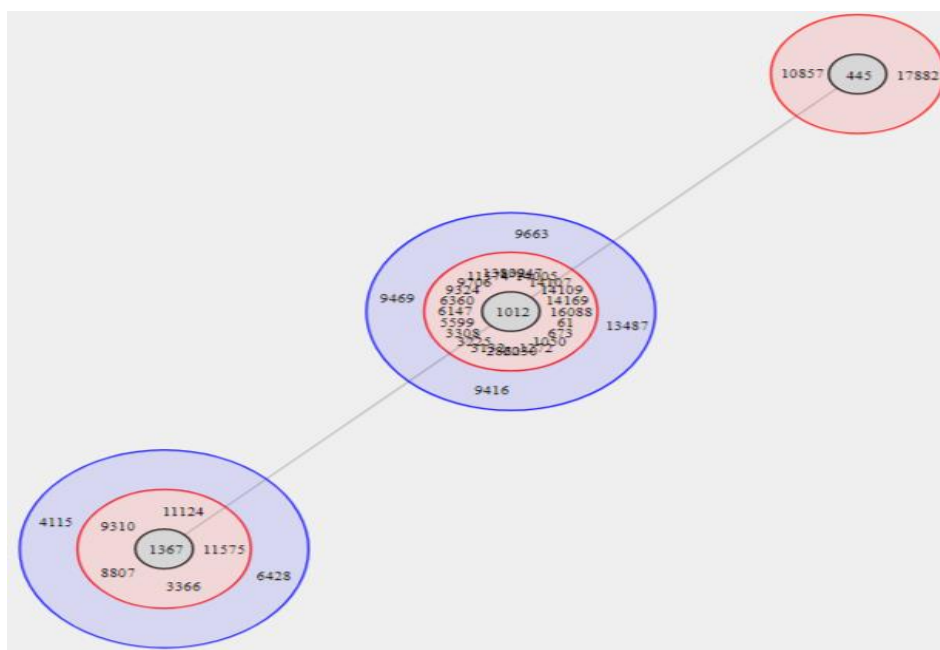


Рисунок 19 – Клональная группа сиквенс –типа ST1367 (на примере штамма *S. pneumoniae* NN2023-2)

Известно, что патогенные свойства штаммов *S. pneumoniae* определяются генами, кодирующими холин-связывающие белки (*pce/cbpE*, *cbpB*, *cbpC*, *cbpF*, *cbpG*, *cbpJ*), фибронектин-связывающие белки (*pavA*, *pavB*,

pfbA), пневмолизин (*ply*), автолизин (*cbpD/lytA*), гиалуронидазу (*hysA*), нейраминидазу (*nanA*, *nanB*), белки капсулы (*cps*), цинковую металлопротеиназу (*iga/zmpC*).

Нами был проведен поиск генов, ответственных за патогенность у *S. pneumoniae*. Выявленные детерминанты патогенности у исследуемых штаммов пневмококков представлены в таблице 18.

Поверхностные белки *S. pneumoniae* (CbpA/PspC, PpA, Cbp, PfbA, PsaA) во многом определяют патогенные свойства пневмококков, обеспечивая адгезию и колонизацию этого микроорганизма на поверхности эпителия респираторного тракта. Установлено значительное разнообразие нижегородских штаммов по наличию генов, детерминирующих синтез поверхностных белков.

CbpA/PspC – поверхностный холин-связывающий белок, участвующий в адгезии, колонизации и иммуногенности *S. pneumoniae*, специфически связывает секреторный компонент IgA, человеческий фактор Н и компонент комплемента С3, играет роль в привлечении и хемотаксисе клеток иммунной системы за счет стимуляции продукции IL8 эпителиальными клетками легких. У трех (NN2023-1, NN2023-2, NN2023-5) из семи изученных штаммов *S. pneumoniae* обнаружен ген *pspC* и у 1 (NN2023-7) – *cbpA*.

Поверхностный белок пневмококка А (ген *pspA*) – холин-связывающий белок, ингибирующий активацию комплемента и предотвращающий прикрепление С3b на поверхности клетки. Ген *pspA* выявлен лишь у одного штамма *S. pneumoniae* NN2023-3.

Белок Pse (также известный как CbpE и LytD) – ТА-фосфорилхолинэстераза участвует в распределении и реструктуризации содержания холина в клеточной стенке, а также в косвенном регулировании других холин-связывающих белков (СВР) и взаимодействии антиген-хозяин. Активность Pse *in vivo* связана с колонизацией носоглотки и адгезией к эпителиальным клеткам человека. Ген *cbpE* выявлен у шести штаммов *S.*

pneumoniae из семи изученных. Ген не обнаружен только у штамма *S. pneumoniae* NN2023-1.

Ген, кодирующий многофункциональный холин-связывающий белок (CbpG), обладающий протеолитической и адгезивной функцией, выявлен у пяти штаммов *S. pneumoniae*. Исключение составили два штамма NN2023-1 и NN2023-5.

Другие гены (*cbpB*, *cbpC*, *cbpF*, *cbpJ*), ответственные за синтез холин-связывающих белков, выявлялись в разных комбинациях у всех исследуемых штаммов.

Гены (*pavA*, *pavB*, *pfbA*), кодирующие плазмин- и фибронектин-связывающие белки, обнаруживались у большинства штаммов.

Белок PavA (фактор вирулентности A), локализованный на клеточной стенке (нефимбриальный адгезин), отвечает за колонизацию пневмококков, моделируя экспрессию и функцию важных детерминант патогенности *S. pneumoniae*. Соответствующий ген *pavA* присутствовал во всех проанализированных геномах пневмококков.

Ген, детерминирующий белок PavB (фактор вирулентности B), обнаружен у четырех штаммов (NN2023-2, NN2023-3, NN2023-5, NN2023-7). Белок PavB является нефимбриальным адгезином, расположенным на поверхности микробной клетки, распознает молекулы адгезивного матрикса и взаимодействует с фибронектином, что приводит к колонизации пневмококками и инфекциям дыхательных путей.

Ген *pfbA*, ответственный за синтез белка PfbA, распознающего молекулы адгезивного матрикса и способствующего адгезии и инвазии за счет связывания с фибронектином и плазминогеном внеклеточного матрикса хозяина присутствовал у шести штаммов *S. pneumoniae* из семи, исключение составил штамм *S. pneumoniae* NN2023-1.

Таблица 18 –Детерминанты патогенности анализируемых штаммов *S. pneumoniae*

Факторы патогенности	Гены	Штаммы <i>S. pneumoniae</i>						
		NN2023-1	NN2023-2	NN2023-3	NN2023-4	NN2023-5	NN2023-6	NN2023-7
Поверхн. белок PspC	<i>cbpA/pspC</i>	<i>pspC</i>	<i>pspC</i>	-	-	<i>pspC</i>	-	<i>cbpA</i>
Поверхн. белок А	<i>pspA</i>	-	-	<i>pspA</i>	-	-	-	-
Холин-связывающие белки (СВР)	<i>cbp</i>	<i>cbpB cbpC cbpJ</i>	<i>cbpE cbpF cbpG cbpJ</i>	<i>cbpE cbpB cbpC cbpG cbpF</i>	<i>cbpB cbpC cbpE cbpG</i>	<i>cbpB cbpC cbpE cbpJ</i>	<i>cbpB cbpC cbpE cbpG cbpJ</i>	<i>cbpB cbpC cbpE cbpF cbpG cbpJ</i>
Фактор вирулентности А (PavA)	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>	<i>pavA</i>
Фактор вирулентности В (PavB)	<i>pavB</i>	—	<i>pavB</i>	<i>pavB</i>	—	<i>pavB</i>	—	<i>pavB</i>
Плазмин- и фибронектинсвязывающий белок А (PfbA)	<i>pfbA</i>	—	<i>pfbA</i>	<i>pfbA</i>	<i>pfbA</i>	<i>pfbA</i>	<i>pfbA</i>	<i>pfbA</i>
Пневмолизин	<i>ply</i>	—	<i>ply</i>	<i>ply</i>	<i>ply</i>	<i>ply</i>	<i>ply</i>	<i>ply</i>
Автолизин	<i>cbpD/lytA</i>	—	<i>cbpD lytA</i>	<i>LytA</i>	<i>cbpD lytA</i>	<i>cbpD lytA</i>	<i>cbpD lytA</i>	<i>cbpD lytA</i>
Гиалуронидаза	<i>hysA</i>	—	-	-	-	-	-	-
Нейроминидаза	<i>nanA/nanB</i>	—	<i>nanA nanB</i>	<i>nanA nanB</i>	<i>nanA</i>	<i>nanA nanB</i>	<i>nanA</i>	<i>nanA nanB</i>
Капсула	<i>cps</i>	<i>cpsC cps4B</i>	<i>cps4A cps4B</i>	<i>cpsC cps4A cps4B</i>	<i>cpsA cpsC cps4A cps4B</i>	<i>cpsC cps4B</i>	<i>cpsC cps4B</i>	<i>cpsA cpsC cps4A cps4B cpsD cpsG</i>
Протеазы IgA1	<i>iga/zmpC</i>	—	<i>zmpC</i>	—	—	<i>zmpC</i>	—	—
Поверхн. антиген А	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>	<i>psaA</i>

К факторам патогенности пневмококков также относят стрептококковые пили типа PI-2, встречающиеся у ряда инвазивных серотипов и островков патогенности *glrA*, играющий важную роль в усилении адгезии и колонизации тканей хозяина. У изучаемых штаммов *S. pneumoniae* гены, ответственные за эти факторы патогенности, не выявлены.

Ген *ply*, ответственный за экзотоксин мембранодействующего эффекта – пневмолизин обнаружен у шести штаммов (исключение *S. pneumoniae* NN2023-1). Белок, относящийся к семейству холестерин-зависимых цитолизинов, образует поры в клетке-хозяине, оказывает воспалительное и проапоптотическое действие: стимулирует выработку медиаторов воспаления, таких как TNF- α , IL-1B, оксида азота, IL-8, а также простагландинов и лейкотриенов.

Гены *cbpD* и *lytA*, контролирующие продукцию аутолизина, выявлены у пяти штаммов *S. pneumoniae*. У штамма *S. pneumoniae* NN2023-3 присутствовал ген *lytA*. Штамм *S. pneumoniae* NN2023-1 характеризовался отсутствием обоих генов. Аутолизин – поверхностный холин-связывающий белок, разрушает пептидогликановый каркас бактерий, что приводит к высвобождению компонента клеточной стенки – пневмолизина, обладающего высокой воспалительной активностью.

Ген *hysA*, определяющий синтез гиалуронидазы, у анализируемых штаммов не обнаружен. Гиалуронидаза является экзоферментом, закрепленным на поверхности микробной клетки, способствующим инвазии в ткани хозяина путем разрушения компонентов внеклеточного матрикса.

Гены *nanA* и *nanB*, ответственные за синтез нейроминидазы, выявлены у четырех штаммов *S. pneumoniae* (NN2023-2, NN2023-3, NN2023-5, NN2023-7), у двух штаммов (NN2023-4, NN2023-6) обнаружен ген *nanA*, у одного (NN2023-1) – отсутствовали оба гена. Белки NanA и NanB вызывают значительное повреждение гликанов клетки хозяина, делая доступными поверхностные рецепторы для возможного взаимодействия с бактериями, способствуя повышенной их адгезии.

Гены (*cpsA*, *cpsC*, *cps4A*, *cps4B*, *cpsD*, *cpsG*) семейства ***cps***, кодирующие белки капсулы, присутствовали у изучаемых штаммов пневмококков в разных комбинациях. Капсулярные белки обеспечивают антигенную гетерогенность, играют важную роль в иммунной модуляции, позволяют избегать фагоцитоза.

Важную роль в патогенезе пневмококковой инфекции играют протеазы IgA1 (гены *iga*, *zmpC*), способные расщеплять пептидные связи между аминокислотами Pro227-Thr228 в IgA1-петле, что приводит к нарушению антигенной специфичности гуморального иммунного ответа. У двух исследуемых штаммов *S. pneumoniae* (NN2023-2, NN2023-5) присутствовал ген *zmpC*.

Ген *psaA*, контролирующий синтез поверхностного антигена пневмококка А, был обнаружен у всех изучаемых штаммов. Этот поверхностный белок, действующий по типу транспортной системы АТФ-связывающей кассеты (ABC) типа *psaABC*, отвечает за связывание растворенных веществ (металлов) и обеспечивает транспорт Mn^{2+} и Zn^{2+} в цитоплазму бактерий. Проведенный анализ аннотированных нуклеотидных последовательностей, ответственных за патогенность *S. pneumoniae*, продемонстрировал генетическое разнообразие, циркулирующих в Нижегородском регионе штаммов пневмококков.

Аннотирование генома с помощью базы данных антибиотикорезистентности CARD позволило выявить детерминанты резистентности, представленные в таблице 19.

Таблица 19 –Детерминанты резистентности штаммов *S. pneumoniae* (по данным базы данных CARD)

Штамм	Гены	Характеристика
NN2023-1	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>tet(M)</i>	Ген, детерминирующий устойчивость к тетрациклинам.
NN2023-2	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC-транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
NN2023-3	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>rlmA(II)</i>	Ген, кодирующий метилтрансферазу, модификацию мишени действия макролидов . линкозамидов
	<i>pmrA</i>	Ген, кодирующий эффлюксный белок семейства MFS-траспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
NN2023-4	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>rlmA(II)</i>	Ген, кодирующий метилтрансферазу, модификацию мишени действия макролидов, линкозамидов .
	<i>pmrA</i>	Ген, кодирующий эффлюксный белок семейства MFS- транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
NN2023-5	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>tet(32)</i>	Ген, кодирующий белок, защищающий мишень действия тетрациклинов
	<i>rlmA(II)</i>	Ген, кодирующий метилтрансферазу, модификацию мишени действия макролидов, линкозамидов
	<i>pmrA</i>	Ген, кодирующий эффлюксный белок семейства MFS-траспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
NN2023-6	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC-транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>ermB</i>	Ген, кодирующий Egm-метилтрансферазу, обеспечивая устойчивость к макролидам
	<i>tet(32)</i>	Ген, кодирующий белок, защищающий мишень действия тетрациклинов
	<i>rlmA(II)</i>	Ген, кодирующий метилтрансферазу, модификацию мишени действия макролидов
	<i>pmrA</i>	Ген, кодирующий эффлюксный белок семейства MFS-транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
NN2023-7	<i>patAB</i>	Гены, кодирующие эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам
	<i>rlmA(II)</i>	Ген, кодирующий метилтрансферазу, модификацию мишени действия макролидов, линкозамидов
	<i>pmrA</i>	Ген, кодирующий эффлюксный белок семейства MFS- транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонов

У исследуемых штаммов *S. pneumoniae* обнаружены детерминанты резистентности к макролидам (*ermB*, *RlmA*), фторхинолонам (*PatA*, *PatB*, *pmrA*), линкозамидам (*RlmA*) и тетрациклинам (*tetM* и *tet32*).

Ген *rlmA(II)* кодирует метилтрансферазу, обнаруженную в геноме *S. pneumoniae*. Этот фермент добавляет метильную группу к гуанозину 748 (нумерация *E. coli*) 23S рибосомной РНК, относится к семейству генов AMP, хромосомный элемент. Механизм действия – модификация мишени действия макролидов и линкозамидов.

Ген *pmrA* кодирует эффлюксный белок семейства MFS-транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам. Механизм действия – эффлюкс антибиотика из микробной клетки. Нуклеотидная последовательность составляет 1200 нуклеотидов, 400 аминокислот.

Ген *ermB* кодирует фермент, осуществляющий диметилирование рибосом, что в конечном итоге определяет устойчивость *S. pneumoniae* к макролидам. У пневмококка этот ген переносится транспозонами: Tn917 и Tn1545.

Гены *patA* *patB* кодируют эффлюксные белки семейства ABC транспортеров, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам.

Гены *tet(M)* и *tet(32)* являются детерминантами устойчивости к тетрациклинам. Основным механизмом устойчивости обусловлен защитой рибосом белками Tet(M) и Tet(32) соответственно, а также эти белки способствуют высвобождению тетрациклина из 30S рибосомальной субъединицы GTP-зависимым образом.

Биоинформатический анализ полных последовательностей геномов исследуемых штаммов *S. pneumoniae* позволил обнаружить различные детерминанты резистентности к препаратам фторхинолонового ряда и макролидам. Определено, что устойчивость к фторхинолонам у штаммов *S. pneumoniae* NN2023-3, NN2023-5, NN2023-6, NN2023-7 связана с классическим механизмом активного выведения антибиотика из бактериальной клетки посредством эффлюксных систем: MFS и ABC –

транспортеров. Гиперэкспрессия гена *pmrA* вызывает гиперпродукцию регуляторного белка PmrA, которая играет ключевую роль в активации помп MFS-PmrA, что в итоге приводит к возникновению резистентности к фторхинолонам. Присутствие в геноме штаммов *S. pneumoniae* генов *patA* и *patB*, кодирующих ABC-транспортеры, усиливает процесс выведения фторхинолонов, и обуславливает устойчивость к препаратам фторхинолонового ряда.

Установлено, что устойчивость к макролидам штаммов *S. pneumoniae* NN2023-3, NN2023-5, NN2023-6, NN2023-7 обусловлена метилированием 23S рРНК в положении G748 посредством non-erm метилтрансферазы. У штамма *S. pneumoniae* NN2023-6 выявлен ген *ermB*, обеспечивающий устойчивость к макролидам за счет диметилирования рибосом.

У штаммов *S. pneumoniae* NN2023-1, NN2023-6 обнаружены детерминанты устойчивости к тетрациклину (*tetM*), у штамма *S. pneumoniae* NN2023-5 – *tet(32)*. Указанные гены расположены, в основном, на конъюгативных транспозонах, принадлежащих семейству Tn916-Tn1545 или Tn5253, что во многом объясняет широкое распространение этих генов [302].

С использованием веб-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» (<http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>) был произведен поиск плазмид в изучаемых штаммах. У штамма *S. pneumoniae* NN2023-4 была обнаружена криптоическая плазмида *rep36*, идентичная плазмиде pSMB1 (AF047385). Плазмида содержит ген *rep* длиной 963 п.н. высокоомологичный аналогу гена других стрептококковых плазмид семейства pC194. Выявленная плазмида оказалась полностью идентична плазмидам pDP1 и pSMB1, которые были выделены у клинических штаммов *S. pneumoniae* в 1925 и 1999 гг. [303] (Рисунок 20).

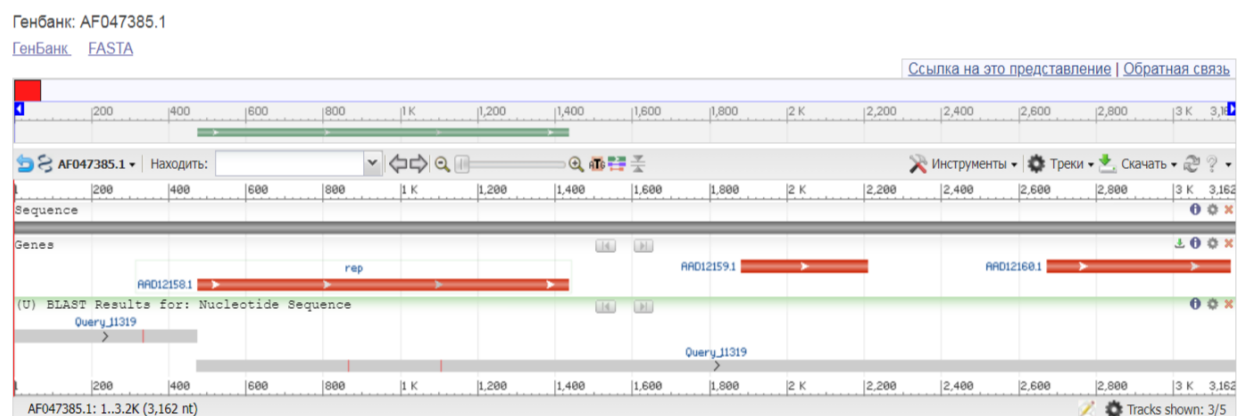


Рисунок 20 – Плазмида штамма *S. pneumoniae* NN2023-4, идентичная плазмиде pSMB1 (AF047385)

Таким образом, с использованием технологии NGS – секвенирования получена молекулярно-генетическая характеристика штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от пациентов с внебольничной пневмонией. Определены сиквенс-типы, серотипы, охарактеризованы детерминанты патогенности *S. pneumoniae*, обнаружены детерминанты резистентности к макролидам, линкозамидам, фторхинолонам и тетрациклинам. Ведущим механизмом устойчивости к препаратам фторхинолонового ряда является активное выведение антибиотиков из бактериальной клетки посредством эффлюксных систем (MFS и ABC).

6.3 Молекулярные методы в изучении распространенности детерминант резистентности к макролидам *M. pneumoniae*

Бактерии вида *M. pneumoniae* занимают второе ранговое место в этиологической структуре внебольничной пневмонии у детей. Они способны длительно персистировать в клетках эпителия, лимфоузлов, обуславливая длительное течение воспалительных процессов в легких. Инфицированию *M. pneumoniae* особенно подвержены дети, находящиеся в организованных коллективах (детские сады, школы, интернаты и т. д.). В педиатрической практике макролиды (в частности, азитромицин) являются антибиотиками выбора для лечения ВП, вызванных *M. pneumoniae*. Однако

ряд зарубежных публикаций в последнее время свидетельствует о появлении и нарастании числа макролидустойчивых штаммов этого возбудителя. Так, в странах Азии число штаммов *M. pneumoniae*, резистентных к макролидам, выросло до 80,0%, в странах Европы и Северной Америки данный показатель составляет 10,0%. Устойчивость микоплазм к макролидам связана, главным образом, с мутациями в генах V домена 23S рРНК в позициях 2063, 2064, 2067 и 2617 [109].

В РФ активно изучается проблема формирования резистентности к антибиотикам эпидемически значимых возбудителей ВП. Проводятся многоцентровые эпидемиологические исследования антибиотикорезистентности возбудителей различных инфекций, включая возбудителей ВП, на базе НИИ антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета в рамках научно-исследовательского проекта DeMaRes. ФБУН «ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной» активно сотрудничает с ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Оценка распространенности мутаций устойчивости к макролидным антибиотикам у *M. pneumoniae*» в рамках проекта DeMaRes.

Один из этапов работы, проведенной совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной диагностики НИИ антимикробной химиотерапии, был посвящен поиску детерминант резистентности к макролидам у нижегородских изолятов *M. pneumoniae*, выявленных у детей с ВП. Было проанализировано 40 образцов. Установлено, что три изолята в гене 23S рРНК имели точечную замену аденина на гуанин в позиции 2064, другие штаммы не имели мутаций, т.е. относились к «дикому типу». Результаты проведенных исследований свидетельствуют о необходимости мониторинга возможных механизмов резистентности *M. pneumoniae* для оценки эпидемиологической распространенности полирезистентных патогенов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возрастающие темпы роста заболеваемости внебольничными пневмониями, широкий спектр как традиционных, так и «атипичных» возбудителей ВП, генетическая изменчивость патогенов, сложность этиологической структуры и многофакторность развития эпидемического процесса при ВП требуют разработки и внедрения новых подходов в решении диагностических, клинических и эпидемиологических задач.

Внедрение в практику новых высокочувствительных методов лабораторной диагностики инфекционных болезней органов дыхания и геномного мониторинга бактериальных и вирусных возбудителей необходимо для оптимизации системы эпидемиологического надзора и контроля за внебольничными пневмониями на региональном и национальном уровнях.

Учитывая высокие показатели частоты выявления вирусов и труднокультивируемых бактерий при ВП у детей, а также эпидемиологическую ситуацию, обусловленную сохранением риска распространения новой коронавирусной инфекции, молекулярный мониторинг широкого спектра бактериальных и вирусных возбудителей представляется важной задачей эпидемиологического надзора за ВП. Молекулярно-генетические методы (ПЦР, ПЦР РВ, секвенирование, микрочипы) являются ценным диагностическим инструментом, который может успешно использоваться как для этиологической диагностики инфекционных заболеваний органов дыхания, так и для контроля эффективности этиотропной терапии, и для генотипирования эпидемически значимых штаммов бактерий – актуальных возбудителей внебольничных пневмоний

Полученные нами результаты позволили сформулировать следующие рекомендации.

- Необходимо проводить регулярное информирование врачей о распространенности бактериальных и вирусных возбудителей ВП и современных методах их детекции.
- На современном этапе в условиях сохранения риска распространения новой коронавирусной инфекции необходимо дифференцировать ВП, обусловленную традиционными и «атипичными» бактериальными (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*) и вирусными возбудителями («сезонными» коронавирусами, аденовирусами, риновирусами, респираторно-синцитиальным вирусом, бокавирусами, метапневмовирусами человека, вирусом парагриппа) с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2.
- Учитывая доминирование вирусных патогенов в этиологии ВП у детей в возрасте до 2 лет, следует назначать антибактериальную терапию лишь при наличии убедительных признаков присоединения бактериальной инфекции, подтвержденной лабораторными исследованиями, в том числе с применением молекулярно-биологических методов.
- Высокая частота обнаружения *M. pneumoniae* у детей дошкольного и школьного возраста при ВП требует назначения антибактериальной терапии, включающей использование препаратов группы макролидов.
- Применение молекулярно-генетических технологий позволит обеспечить высокое качество этиологической диагностики ВП, назначить эффективную этиотропную терапию и, как следствие, снизить длительность пребывания в стационаре, уменьшить частоту возникновения осложнений, существенно сократить смертность от ВП.

Авторы считают своим долгом выразить глубокую благодарность коллективам сотрудников педиатрического отделения ГБУЗ НО «Кстовская ЦРБ» (зав. отделением – Пруцков А.Н.), медицинских работников ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница» (главный врач – Белозерова С.Ч., госпитальный эпидемиолог – Послова Л.Ю.), заведующую лабораторией молекулярной диагностики НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России И.А. Эйдельштейн, за плодотворное сотрудничество.

.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике (пособие для врачей) // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2013. – №1. – С. 81–113.
2. Синопальников А.И., Зайцев А.А. «Трудная» пневмония // – М. - 2010. – 56 с.
3. Ebeledike C., Ahmad T. Pediatric Pneumonia [Электронный ресурс](дата обращения:04.09.2024) In: StatPearls Publishing. – 2024. – PMID: 30725625.
4. Внебольничная пневмония у детей: клиническое руководство / Под. ред. Н.А. Геппе. – М.: МедКом-Про. – 2020. – 80 с.
5. Пневмония (внебольничная): Клинические рекомендации [Электронный ресурс] (дата обращения 04.09.2024) / Союз педиатров России, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, 2022. – 78 с.
6. Таточенко, В.К. Внебольничные пневмонии у детей – проблемы и решения // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 9–21.
7. Ефимов Е.И., Мазепа В.Н., Бруснигина Н.Ф., Черневская О.М., Орлова К.А., Махова М.А., Сперанская Е.В., Кленина Н.Н., Скобло Л.Е. Выявление редких труднокультивируемых форм возбудителей воспалительных заболеваний органов дыхания с использованием метода ПЦР: методические рекомендации (МР 4.2.0060-12) // Бюллетень нормативных и методических документов госсанэпиднадзора. – Москва, 2012. – Выпуск 4. – Декабрь (50). – С. 136–143.
8. Козырев Е.А. Клинико-этиологическая характеристика внебольничной пневмонии у детей: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.22. – Санкт-Петербург, 2023. – 156 с.

9. Чубукова О.А. Совершенствование эпидемиологического и микробиологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за внебольничными пневмониями: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Нижний Новгород, 2012. – 26 с.
10. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых. Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике: пособие для врачей. – М., 2010. – 60 с.
11. Синопальников А.И., Фесенко О.В., Тихонов Ю.Г., Дуганов В.К. Тяжелая внебольничная пневмония: этиологическая структура // Антибиотики и химиотерапия. – 2001. – Т. 46, № 6. – С. 6–11.
12. Сперанская Е.В., Мазепа В.Н., Ефимов Е.И., Бруснигина Н.Ф. Изучение распространенности редких и труднокультивируемых возбудителей воспалительных заболеваний органов дыхания // ЖМЭИ. – 2012. – № 5. – С. 3–8.
13. Чучалин А.Г., Яковлев С.В., Страчунский Л.С. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. – М., 2003. – 30 с.
14. Маланичева Т.Г., Можгина С.С. Заболеваемость и возрастная структура внебольничной пневмонии у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 4. – С. 127–127.
15. Зайцев А.А. Внебольничная пневмония: «Bene Dignoscitur, Bene Curator». – Consilium Medicum. – 2017. – Т. 19, № 3. – С. 55–60.
16. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: государственный доклад / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2021. – 256 с.

17. Харитонов М.А., Журкин М.А., Иванов В.В. Клинико-диагностические особенности внебольничной вирусно-бактериальной пневмонии // Практическая пульмонология. – 2016. – № 1. – С. 30–35.
18. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: государственный доклад / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2024. – 364 с.
19. Кошкарина Е.А. Современные характеристики эпидемического процесса внебольничных пневмоний: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.22. – Нижний Новгород, 2023. – 197 с.
20. Эпидемиологический атлас ПФО [Электронный ресурс]. – <http://epid-atlas.nniiem.ru/newatlaspfo/f22pstandart.php?nforma=2&ntabla=1> (дата обращения 10.09.2024).
21. Внебольничная пневмония у взрослых: Клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Российское респираторное общество, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – 2021. – 96 с.
22. Пневмония (внебольничная): Клинические рекомендации [Электронный ресурс] / Союз педиатров России, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – 2022. – 78 с.
23. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». 2021. – 1006 с.
24. Болотова Е.В., Дудникова А.В., Юсупова З.С. Внебольничная пневмония: диагностика, лечение. Особенности ведения беременных: учебное пособие. – Краснодар: Кубанский гос. мед. ун-т, 2021. – 117 с.
25. Цветкова О.А. Современные подходы к лечению внебольничных пневмоний // Российский медицинский журнал. – 2014. – № 5. – С. 379.

26. Гуцуляк С. А. Заболевания органов дыхания у детей: учебное пособие // Иркутск: ИГМУ, 2013. – 32 с.
27. Казанцев В. А. Внебольничные пневмонии: диагностика и лечение // Медицинский совет. – 2012. – № 11. – С. 22–28
28. Внебольничные пневмонии: классификация, патогенез, этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика на современном этапе: аналитический обзор. Москва, 2013. – 65 с.
29. Чубукова О.А., Шкарин В.В. Особенности эпидемиологии внебольничных пневмоний с сочетанной этиологией // Медицинский альманах. – 2017. – № 4(49). – С. 149–155.
30. Внебольничная пневмония у детей: клинические рекомендации / Под ред. проф. Царьковой С.А. – Екатеринбург: УГМУ, 2015. – 79 с.
31. Esposito S., Patria M.F., Tagliabue C., Longhi B., Papa S.S. Principi N. CAP in children // European respiratory monograph 63: Community-acquired pneumonia / ed: J. Chalmers, M. Pletz, S. Aliberti. – 2014. – Vol. 63. – P. 130–139.
32. Сергеева Е.В., Петрова С.И. Внебольничная пневмония у детей. Современные особенности // Педиатр. – 2016. – Т. 7, № 3. – С. 5–10.
33. Внебольничная пневмония у детей: клинические рекомендации. / Под ред. проф. Чучалина А.Г. – Москва: Оригинал-макет. – 2015 – 64 с.
34. Бржозовская Е.А. Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010–2017 гг.: дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2020. – 120 с.
35. Баранов А.А., Брико Н.И., Намазова-Баранова Л.С., Ряпис Л.А. Стрептококки и пневмококки: Руководство для врачей. – Феникс, 2013. – 302 с.
36. Кречикова О.И., Козлов Р.С., Богданович Т.М., Стецюк О.У., Суворов М.М., Катосова Л.К., Вишнякова Л.А. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Streptococcus pneumoniae* //

Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 1. – P. 88–98.

37. Levinson W. Review of Medical Microbiology and Immunology // Review of Medical Microbiology and Immunology, 11th edition. – 2010. – P. 642.

38. Facklam R. What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes Richard // Clinical Microbiology Reviews. – 2002. – Vol. 15, № 4. – P. 613–630.

39. Kawamura Y., Hou X.G., Sultana F., Miura H., Ezaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1995. – Vol. 45, № 2. – P. 406–408.

40. Цветкова И. А., Беланов С. С., Гостев В. В., Калиногорская О. С., Волкова М. О., Мохов А. С., Никитина Е. В., Калисникова Е. Л., Иванова К. А., Володина А. А., Сидоренко С. В. Клональная структура популяции изолятов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих в России с 1980 по 2017 гг. // Антибиотики и химиотерапия. – 2019. – № 5–6. – С 22–31.

41. Straume D., Stamsås G.A., Håvarstein L.S. Natural transformation and genome evolution in *Streptococcus pneumoniae* // Infection, Genetics and Evolution. – 2015. – Vol. 33, № 1432. – P. 371–380.

42. van der Poll T., Opal S.M. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia // The Lancet. – 2009. – Vol. 374, № 9700. – P. 1543–1556.

43. Spellerberg B., Brandt C. *Streptococcus* // In Jorgenson J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C., Funke G., Landry M.L., Richter S.S., Warnock D.W. (ed). Manual of clinical microbiology. 11th ed. – Washington, D.C.: ASM Press. – 2015. – Vol. 11. – P. 383–402.

44. Siira L., Kaijalainen T., Lambertsen L., Nahm M.H., Toropainen M., Virolainen A. From Quellung to Multiplex PCR, and Back When Needed, in

Pneumococcal Serotyping // Journal of Clinical Microbiology. – 2012. – Vol. 5, № 8. – P. 2727–2731.

45. Habib M., Porter B.D., Satzke C. Capsular Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* Using the Quellung Reaction // Journal of Visualized Experiments. – 2014. – Vol. 84, № 51208. – P. 1–4.

46. SSI Diagnostica Neufeld antisera. – 2020.
<https://www.ssidiagnostica.com/neufeld-antisera/?cid=36/>.

47. Richter S.S., Heilmann K.P., Dohrn C.L., Riahi F., Diekema D.J., Doernb G.V. Evaluation of Pneumococcal Serotyping by Multiplex PCR and Quellung Reactions // Journal of Clinical Microbiology. – 2013. – Vol. 51, № 12. – P. 4193–4195.

48. Brito D.A., Ramirez M., de Lencastre H. Serotyping *Streptococcus pneumoniae* by multiplex PCR // Journal of Clinical Microbiology. – 2003. Vol. 6, № 41. – P. 2378–2384.

49. Pai R., Gertz R.E., Beall B.J. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates // The Journal of Clinical Microbiology. – 2006. – Vol. 44. – P. 124–134.

50. Henriques-Normark B., Tuomanen E.I. The pneumococcus: Epidemiology, microbiology, and pathogenesis // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2013. – Vol. 3, № 7. – P. 1–17.

51. Lynch J.P., Zhanel G.G. *Streptococcus pneumoniae*: Epidemiology, risk factors, and strategies for prevention // Current Opinion in Pulmonary Medicine. – 2009. – Vol. 30, № 2. – P. 189–209.

52. Mehr S., Wood N. *Streptococcus pneumoniae* – a review of carriage, infection, serotype replacement and vaccination // Paediatric Respiratory Reviews. – 2012. – Vol. 13, № 4. – P. 258–264.

53. Högborg L., Geli P., Ringberg H., Melander E., Lipsitch M., Ekdahl K. Age- and Serogroup-Related Differences in Observed Durations of Nasopharyngeal Carriage of Penicillin-Resist // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – Vol. 45, № 3. P. 948–952.

54. Normark B.H., Christensson B., Sandgren A., Noreen B., Sylvan S., Burman L.G., Olsson-Liljequist B. Clonal Analysis of *Streptococcus pneumoniae* Nonsusceptible to Penicillin at Day-Care Centers with Index Cases, in a Region with Low Incidence of Resistance: Emergence of an Invasive Type 35B Clone among Carriers // *Microbial Drug Resistance*. – 2003. – Vol. 4, № 9. – P. 337–344.

55. Nunes S., Sá-Leão R., Carriço J., Alves C.R., Mato R., Avô A.B., Saldanha J., Almeida J.S., Sanches I.S., de Lencastre H. Trends in Drug Resistance, Serotypes, and Molecular Types of *Streptococcus pneumoniae* Colonizing Preschool-Age Children Attending Day Care Centers in Lisbon, Portugal: a Summary of 4 Years of Annual Surveillance // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43, № 3. – P. 1285–1293.

56. Bogaert D. de Groot R., Hermans P.W.M. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: The key to pneumococcal disease // *Review Streptococcus pneumoniae colonisation. Lancet Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. 4, № 3. – P. 144–154.

57. Харит С.М., Сидоренко С.В., Рулева А.А., Перова А.Л., Волкова М.О., Гостев В.В., Алексеенко С.И., Орлов А.В. Распространенность пневмококковых пневмоний и отитов у детей младшего возраста (предварительные данные) // *Вопросы современной педиатрии*. – 2011. – Т. 10, № 6. – С. 103–107.

58. Yatsyshina S., Mayanskiy N., Shipulina O., Kulichenko T., Alyabieva N., Katosova L., Lazareva A., Skachkova T., Elkina M., Matosova S., Shipulin G. Detection of respiratory pathogens in pediatric acute otitis media by PCR and comparison of findings in the middle ear and nasopharynx // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2016. – Vol. 85, № 1. – P. 125–130.

59. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Брико Н.И., Лобзин Ю.В., Козлов Р.С., Костинов М.П., Королёва И.С., Рудакова А.В., Сидоренко С.В., Таточенко В.К., Харит С.Р., Федосеенко М.В., Вишнёва Е.А., Селимзянова Л.Р. Вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции у детей // *Педиатрическая фармакология*. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 200–211.

60. Брико Н.И., Коршунов В.А., Намазова-Баранова Л.С., Лобзин Ю.В., Баранов А.А., Костенко Н.А., Федосеенко М.В., Вишнёва Е.А., Гринчик П.Р. Оценка эффективности вакцинации младенцев 13-валентной пневмококковой конъюгированной вакциной в рамках национального календаря профилактических прививок России // Вопросы современной педиатрии. – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 203–211.
61. Стукун Е. А., Кольцов И. П. Методологические проблемы гемофильной инфекции // Дальневосточный медицинский журнал. – 2006. – № 3. – С. 107–111.
62. Крамарь Л. В., Хлынина Ю. О. Гемофильная инфекция у детей: Проблемы и перспективы // Лекарственный вестник. – 2011. – Том 3, № 3 (43). – С. 42–48.
63. Slack M.P.E. A review of the role of *Haemophilus influenzae* in community-acquired pneumonia // Pneumonia. – 2015. -№ 6 – P. 26–43.
64. Озерецковский Н.А., Немировская Т.И. Вакцинация против гемофильной инфекции типа b в Российской Федерации и за рубежом // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – № 1(86). – С. 61–68.
65. Лев А.И. Молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*: вирулентность и устойчивость к антимикробным препаратам: дис. ... канд. биол. наук. – Оболенск. – 2018. – 182 с.
66. Панин А.Л., Богумильчик Е.А., Шаров А.Н., Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Толстиков А.В., Тешебаев Ш.Б., Ценева Г.Я., Краева Л.А., Сбойчаков В.Б., Болехан В.Н. Цианобактериальные маты как объекты мониторинга антарктических экосистем // Вестник СПбГУ. Серия 3. Биология. – 2013. – № 2. – С. 3–11.
67. Li B., Zhao Y., Liu C., Chen Z., Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae* // Future Microbiology. – 2014. – № 9. – P. 1071–1081.

68. Navon-Venezia S., Kondratyeva K., Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2017. – Vol. 41, № 3. – P. 252–275.

69. Chaudhary P., Bhandari D., Thapa K., Thapa P., Shrestha D., Chaudhary H.K., Shrestha A., Parajuli H., Gupta B.P. Prevalence of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolated From Urinary Tract Infected Patients // *Journal of Nepal Health Research Council*. – 2016. – Vol. 14, No. 33. – P. 111–115.

70. Hui D.S., Ip M., Ling T., Chang S.C., Liao C.H., Yoo C.G., Kim D.K., Yoon H.I., Udompanich V., Mogmeud S., Muttalif R., Salleh A.M., Roa C., Mendoza M., Fajardo-Ang C., Soepandi P., Isbaniah F., Burhan E., Sudarmono P., Mangunnegoro H., Liu H.H. A multicentre surveillance study on the characteristics, bacterial aetiologies and in vitro antibiotic susceptibilities in patients with acute exacerbations of chronic bronchitis // *Respirology*. – 2011. – Vol. 16, № 3. – P. 532–539.

71. Talaat M., El-Shokry M., El-Kholy J., Ismail G., Kotb S., Hafez S., Attia E., Lessa F.C. National surveillance of health care-associated infections in Egypt: Developing a sustainable program in a resource-limited country // *American Journal of Infection Control*. – 2016. – Vol. 44, № 11. – P. 1296–1301.

72. Paczosa M.K., Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2016. – Vol. 80, № 3. – P. 629–661.

73. Анганова Е.В., Ветохина А.В., Распопина Л.А., Кичигина Е.Л., Савилов Е.Д. Состояние антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae* // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2017. – № 5. – С. 70–77.

74. Ганина Е.Б. Характеристика биологических свойств *Staphylococcus aureus*, выделенных от здоровых школьников Тверской области: дис. ... канд. биол. наук. – Тверь, 2021. – 136 с.

75. Миронов А.Ю., Жилина С. В., Дмитренко О. А. Архитектоника микробной экологии в отделении гнойной хирургии ГКБ // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 7. – С. 53–58.
76. Николаева И.В., Анохин В. А. Стафилококковые инфекции в педиатрии // Практическая медицина. – 2010. – № 1 (40). – С. 24–27.
77. Кулагина, Е. П. Клиническое значение резидентного и транзитного стафилококкового бактерионосительства у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук 03.00.07 – Оренбург, 1995. – 22 с.
78. Бакшеева, С. С. Закономерности формирования эндоэкологического статуса детей в условиях крупного промышленного города: автореф. дис. ... д-ра биол. наук 03.02.08. – Красноярск, 2011. – 33 с.
79. Бакшеева, С. С. Стафилококковое бактерионосительство, как критерий экологического неблагополучия среды обитания // Современные проблемы науки и образования (Сетевое издание). – 2015. – № 6.
80. Regev-Yochay G., Dagan R., Raz M., Carmeli Y., Shainberg B., Derazne E., Rahav G., Rubinstein E. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in Children // Journal of American Medical Association. – 2004. – Vol. 292. – P. 716–720.
81. Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Мавзютов А.Р., Гриценко В.А. *Staphylococcus aureus*: генетическое разнообразие с учетом источника выделения // БОНЦ УрО РАН. – 2018. – № 3. С. 1–11.
82. Mulcahy M.E., Geoghegan J.A., Monk I.R., O'Keeffe K.M., Walsh E.J., Foster T.J., McLoughlin R.M. Nasal colonization by *Staphylococcus aureus* depends upon clumping factor B binding to the squamous epithelial cell envelope protein loricrin // PLOS Pathogens. – № 8 (12). – e1003092.
83. Винокуров А.С., Смирнова А.Д., Беленькая О.И., Юдин А.Л., Юматова Е.А. Клинико-рентгенологические варианты поражения легких при инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus* // Клиническая практика. – 2021. – № 3. – С. 71–89.

84. Боронина Л.Г. Распространение *Moraxella catarrhalis* при респираторных инфекциях у детей и антибиотикорезистентность // Вестник Уральского государственного медицинского университета. – 2018. – № 3. – С. 14–21.

85. Aebi C. *Moraxella catarrhalis* – pathogen or commensal? // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2011. – Vol. 697. – P. 107–116.

86. Brook I., Gober A. E. Recovery of potential pathogens and interfering bacteria in the nasopharynx of otitis media-prone children and their smoking and nonsmoking parents // *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery*. – 2005. – Vol. 131(6). – P. 509–512.

87. Руководство по медицинской микробиологии. Книга III. Том первый. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. /Колл. авторов// Составитель А.С. Лабинская, редактор Н.Н. Костюкова. – М.: БИНОМ, 2020. – 752 с.

88. Краева Л.А., Бургасова О.А., Петрова И.С., Самойлова А.А., Рогачёва Е.В., Таранова М.В., Беспалова Г.И. Оценка антибиотикочувствительности штаммов *Moraxella catarrhalis*, выделенных от пациентов с осложненным течением острых респираторных вирусных инфекций и других острых респираторных заболеваний // *Инфекционные болезни*. – 2021. – № 19(3). – С. 85–91.

89. Макарова М.А. Гетерогенность популяции патогенных *Escherichia coli* -возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации: дис. ... д-ра мед. наук. – Санкт-Петербург, 2021. – 250 с.

90. Горелов А.В., Бондарева А.В., Подколзин А.Т. Клинико-эпидемиологическая характеристика энтероаггративного эшерихиоза у детей // *Инфекционные болезни*. – 2013. – Т. 11, № 3. – С. 22–26.

91. Adeolu M., Alnajar S., Gupta R.S. Genome-based phylogeny and taxonomy of the Enterobacterales: proposal Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam.

nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov. and Budviciaceae fam. nov. // *Int J System Evolution Microbiol.* – 2016. – Vol. 66. – P. 5575–5599.

92. Adwan G. K., Bourince H. Molecular characterization of some *E. coli* strains theoretically responsible for both intestinal and extraintestinal infections // *International journal of medical research & health sciences.* – 2016. – Vol. 5(6). – P. 158–163.

93. Chase-Topping M.E., Rosser T., Allison L.J., Courcier E., Evans J., McKendrick I. J., Pearce M.C., Handel I., Caprioli A., Karch H., Hanson M.F., Pollock K.G.J., Locking M.E., Woolhuse M.E.J., Matthews L., owJ.C. L, Gally D.L. Pathogenic potential to humans of bovin *Escherichia coli* O26, Scotland // *Emerging Infectious Diseases.* – 2012. – Vol. 18(3). – P. 439– 448.

94. Дружинин В.Г., Буслаев В.Ю., Баранова Е.Д., Нечаева Л.В. Роль микробиоты в поддержании гомеостаза и индукции мутагенеза в соматических клетках человека // *Фундаментальная и клиническая медицина.* – 2018. – Т.3, № 4. – С. 83–92.

95. Conway T., Cohen P.S. Commensal and pathogenic *Escherichia coli* metabolism in the gut // *Microbiology Spectrum.* – 2015. – Vol. 3(3).

96. Иванова Е. И. Попкова С.М., Джигоев Ю.П., Ракова Е.Б. Выявление генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию, у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из кишечного биотопа детей // *Бюллетень ВШЦ СО РАМН.* – 2013. – № 2(90). – С. 111–114.

97. Stoppe N.C., Silva J. S., Carlos C., Sato M.I.Z., Saraiva A.M., Ottoboni L.M.M., Torres T.T. Worldwide phylogenetic group patterns of *Escherichia coli* from commensal human and wastewater treatment plant isolates // *The Frontiers in Microbiology.* – 2017. – Vol. 8. – Article 2512.

98. Vila J.J., Sáez-López E., Johnson J.R., Römling U., Dobrindt U., Cantón R., Giske C.G., Naas T., Carattoli A., Martínez-Medina M., Bosch J., Retamar P., Rodríguez-Baño J., Baquero F., Soto S. M. *Escherichia coli*: an old

friend with new tidings // FEMS Microbiology Reviews. – 2016. – Vol. 40(4). – P. 437–463.

99. Banjo M., Iguchi J.A., Seto K., Kikuchi T., Harada T., Scheutz F., Iyoda S. Escherichia coli H-genotyping PCR: a complete and practical platform for molecular H typing / M. Banjo, // Journal of Clinical Microbiology. – 2018. – Vol. 56(6). – e00190–18.

100. Orskov F., Orskov I. Escherichia coli serotyping and disease in man and animals // Canadian Journal of Microbiology. – 1992. – Vol. 38(7). – P. 99–704.

101. Lob S.H., Lob S.H., Badal R.E., Bouchillion S.K., Hawser S.P., Hackel M.A., Hoban D.J. Epidemiology and susceptibility of Gram-negative appendicitis pathogens: SMART 2008–2010 // Surgical Infections. – 2013. – Vol. 14(2). – P. 203–208.

102. Poolman J.T., Wacker M. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli, a common human pathogen: challenges for vaccine development and progress in the field // Journal of Infectious Diseases. – 2016. – Vol. 213(1). – P. 6–13.

103. Lindstedt B.A., Finton M.D., Porcellato D., Brandal L.T. High frequency of hybrid Escherichia coli strains with combined Intestinal Pathogenic Escherichia coli (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples // BMC Infectious Diseases. – 2018. – Vol. 18(1). doi: 10.1186/s12879-018-3449-2

104. Таточенко В.К., Бакрадзе М.Д. Педиатру на каждый день – 2022. Лихорадки. Справочник по диагностике и лечению. – М.: ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, 2022. – 440 с.

105. Saraya T. The history of Mycoplasma pneumoniae pneumonia // Frontiers in Microbiology. – 2016. – № 7. – P. 364.

106. Gupta R.S., Sawnani S., Adeolu M., Alnajar S., Oren A. Necessity and rationale for the propose DNA mechanges in the classification of Mollicutes species // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2020. – № 70. – P. 1431–1438.

107. Gupta R.S., Sawnani S., Adeolu M., Alnajar S., Oren A. Phylogenetic framework for the phylum Tenericutes based on genome sequence data: proposal for the creation of a new order Mycoplasmodiales ord. nov., containing two new families Mycoplasmodaceae fam. nov. and Metamycoplasmataceae fam. nov. harbouring Eperythrozoon, Ureaplasma and five novel genera // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 2018. – № 111(9). – P. 1583–1630.

108. Hu J., Ye Y., Chen X., Xiong L., Xie W., Liu P. Insight into the pathogenic mechanism of *Mycoplasma pneumoniae* // *Current Microbiology*. – 2023. – № 80(1). – P. 14.

109. Эйдельштейн И.А. *Mycoplasma pneumoniae* – современные данные о строении, молекулярной биологии и эпидемиологии возбудителя // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2023. – Т. 25, № 4. – С. 332–349.

110. Himmelreich R., Hilbert H., Plagens H., Pirkl E., Li B.C., Herrmann R. Complete sequence analysis of the genome of the bacterium *Mycoplasma pneumoniae* // *Nucleic Acids Research*. – 1996. – № 24(22). – P. 4420–4449.

111. Сперанская Е.В. Частота обнаружения труднокультивируемых микроорганизмов – возбудителей инфекций респираторного тракта у детей и взрослых и оптимизация способа их детекции: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.02.03. – Нижний Новгород. – 2015. – 113 с.

112. Рачина С.А., Бобылев А.А. Атипичные возбудители внебольничной пневмонии: от эпидемиологии к особенностям диагностики и лечения // *Практическая пульмонология*. – 2016. – № 2. – С. 20–27.

113. Nakane D., Adan-Kubo J., Kenri T., Miyata M. Isolation and characterization of P1 adhesin, a leg protein of the gliding bacterium *Mycoplasma pneumoniae* // *Journal of Bacteriology*. – 2011. – № 193(3). – P. 715–722.

114. Waites K.B., Simecka J.W., Talkington D.F., Atkinson T.P. Pathogenesis of *Mycoplasma pneumoniae* infections: adaptive immunity, innate immunity, cell biology, and virulence factors // In: *Community-Acquired Pneumonia*. Birkhäuser Basel. – 2007. – Vol. 16, № 3. – P. 162 – 169.

115. Kannan T.R., Baseman J.B. ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2006. – № 103(17). – P. 6724– 6729.

116. Becker A., Kannan T.R., Taylor A.B., Pakhomova O.N., Zhang Y., Somarajan S.R., et al. Structure of CARDS toxin, a unique ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin from *Mycoplasma pneumoniae* // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2015. – № 112(16). – P. 5165–5170.

117. Jacobs E., Ehrhardt I., Dumke R. New insights in the outbreak pattern of *Mycoplasma pneumoniae* // International Journal of Medical Microbiology. – 2015. – № 305(7). P. 705–708.

118. Waites K.B., Talkington D.F. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen // Clinical Microbiology Reviews. – 2004. – № 17(4). P. 697–728.

119. Meyer Sauter P.M., Moeller A., Rely C., Berger C., Plecko B., Nadal D.; Swiss Pediatric Surveillance Unit (SPSU). Swiss national prospective surveillance of paediatric *Mycoplasma pneumoniae*-associated encephalitis // Swiss Medical Weekly. – 2016. – № 11. P. 146.

120. Kammer J., Ziesing S., Davila L., Bültmann E., Illsinger S., Das A.M., et al. Neurological manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection in hospitalized children and their long-term follow-up // Neuropediatrics. – 2016. – № 47 (05). – P. 308– 317.

121. Narita M. Pathogenesis of neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection // Pediatric Neurology. – 2009. – № 41(3). P. 159–166.

122. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н. Д. Ющука, Ю. Я. Венгерова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 1104 с.

123. Sachse K., Bavoil P.M., Kaltenboeck B., Stephens R.S., Kuo C.C., Rosselló-Móra R., Horn M. Emendation of the family Chlamydiaceae: Proposal of

a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species // Systematic and Applied Microbiology. – 2015. – № 38(2). – P. 99–103.

124. Литусов Н.В. Хламидии: иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2017. – 28 с.

125. Бондарева Н.Е. Механизмы персистенции хламидий и совершенствование диагностики хронических хламидийных инфекций: дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2020. – 172 с.

126. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных хламидийной инфекцией. – М., 2013. – 17 с.

127. Пневмония, вызванная хламидиями у детей и взрослых: клинические рекомендации / Ассоциация врачей инфекционистов Санкт-Петербурга и Ленинградской области (МОО «АВИСПО»), Евро-азиатское общество по инфекционным болезням (МОО «ЕАОИБ»). – 2019.

128. Гранитов В. М. Хламидиозы: учеб. пособие по подгот. врачей в системе последиплом. образования. – Москва: Мед. кн.; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2002. – 190 с.

129. Roosevelt G.E. Pediatric Respiratory Emergencies. // In: Diseases of the Lungs. Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice, Ninth Edition. – 2018. – Chapter 169. – P. 2090–2098.

130. Tsai M.H., Huang Y.C., Chen C.J., Lin P.Y., Chang L.Y., Chiu C.H., Tsao K.C., Huang C.G., Lin T.Y. Chlamydial pneumonia in children requiring hospitalization: effect of mixed infection on clinical outcome. – Journal of Microbiology Immunology and Infection. – 2005. – № 38(2). P. 117–122.

131. Тимченко О.Л. Хламидийные инфекции, протекающие с поражением респираторного тракта // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2015. – № 4. – С. 43–50.

132. Троицкая Т.Э., Сотникова Е.Д. Особенности лечения орнитоза у попугаев // Вестник РУДН. Серия Агрономия и животноводство. – 2015. – № 2. – С. 88–104.

133. МУК 4.2.2217-07 Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены, 2007. – 27 с.

134. Cazalet C., Rusniok C., Brüggemann H., Zidane N., Magnier A., Ma L., Tichit M., Jarraud S., Bouchier C., Vandenesch F., Kunst F., Etienne J., Glaser P., Buchrieser C. Evidence in the *Legionella pneumophila* genome for exploitation of host cell functions and high genome plasticity // *Nature Genetics*. – 2004. – № 36(11). P.1165–73.

135. Дроница Ю.Е. Выявление и характеристика легионелл в потенциально опасных водных системах и модельных биопленках: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 03.00.07. – Москва, 2008. – 24 с.

136. Fields B.S., Benson R.F., Besser R.E. *Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2002. – № 15.

137. Воробьева Д.А. Поражения легких при гриппе у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук 14.01.08. – Москва, 2018. – 26 с.

138. Pavia A.T. What is the Role of Respiratory Viruses in Community-Acquired Pneumonia? What is the Best Therapy for Influenza and Other Viral Causes of Community-Acquired Pneumonia? // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2013. – № 27. – P. 157–175.

139. Choi S.H., Hong S.B., Ko G.B., Lee Y., Park H.J., Park S.Y., Moon S.M., Cho O.H., Park K.H., Chong Y.P., Kim S.H., Huh J.W., Sung H., Do K.H., Lee S.O., Kim M.N., Jeong J.Y., Lim C.M., Kim Y.S., Woo J.H., Koh Y. Viral infection in patients with severe pneumonia requiring intensive care unit admission // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2012. – № 186. – P. 325–332.

140. Эсауленко Е. В., Александрович Ю.С., Бушманова А.Д., Пшениснов К.В., Новак К.Е., Басина В.В., Позднякова М.Г., Дитковская Л.В., Акименко Т. И. Вирусные пневмонии: учебное пособие для врачей // СПб.: изд-во СПбГПМУ, 2021. – 100 с.

141. Qu J.X., Gu L., Pu Z.H., Yu X.M., Liu Y.M., Li R., Wang Y.M., Cao B., Wang C. Viral etiology of community-acquired pneumonia among adolescents and adults with mild or moderate severity and its relation to age and severity // BMC Infectious Diseases. – 2015. – № 89.

142. Ковтун О.П., Романенко В.В. Эффективность пневмококковых конъюгированных вакцин следующего поколения в разных регионах мира // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 18–25.

143. Tricarico S., McNeil H.C., Cleary D.W., Head M.G., Lim V., Yap I.K.S., Wie C.C., Tan C.S., Norazmi M.N., Aziah I., Cheah E.S.G., Faust S.N., Jefferies J.M.C., Roderick P.J., Moore M., Yuen H.M., Newell M.L., McGrath N., Doncaster C.P., Kraaijeveld A.R., Webb J.S., Clarke S.C. Pneumococcal conjugate vaccine implementation in middle-income countries // Pneumonia. – 2017. – Т. 9, № 6. – 15 с. doi: 10.1186/s41479-017-0030-5

144. Литусов Н.В. Частная вирусология: иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2018. – 200 с.

145. Полянин Д.А., Женихов А.В., Мамедов Э.Ю. Вирусные пневмонии: грипп, COVID-19, аденовирус, риновирус // Молодой учёный. – 2023. – № 37(484). – С. 45–46.

146. Таксономия вирусов на сайте Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV). <https://ictv.global/taxonomy> (дата обращения: 31 июля 2024).

147. Пиневиц А. В., Сироткин А. К., Гаврилова О. В., Потехин А. А. Вирусология: учебник. – СПб.: Издательство СПбУ, 2012. – С. 391–393.

148. Яцышина С.Б. Пневмовирусы в инфекционной патологии человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 6. – С. 95–105.

149. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник: в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2016. – Т. 2. – 480 с.

150. Морозова М.И., Мельников В.Л., Митрофанова Н.Н. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций: учебное пособие // Пенза: Изд-во ПГУ, 2015. – 80 с.
151. Haney J., Vijayakrishnan S., Streetley J., Dee K., Goldfarb D.M., Clarke M., Mullin M., Carter S.D., Bhella D., Murcia P.R. Coinfection by influenza A virus and respiratory syncytial virus produces hybrid virus particles // *Nature Microbiology*. – 2022. – № 7. – P. 1879–1890.
152. Ясный И. Обзор новостей биофармы за 2023 год // URL: <https://biomolecula.ru/articles/obzor-novostei-biofarmy-za-2023-god>
153. Козулина И.С., Самсыгина Г.А., Исаева Е.И. Метапневмовирус: один из лидирующих вирусов, вызывающих респираторные заболевания у детей // *Педиатрия*. – 2011. – Т. 90, № 2. – С. 108–112.
154. Жилина Е.А., Соколовская В.В., Грекова А.И., Шевченко С.С., Смолянкин Н.Н. Метапневмовирусная и бокавирусная инфекции в сезоне 2017–2018 гг. // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 225–229.
155. Харламова Ф.С., Кладова О.В., Учайкин В.Ф. Метапневмовирусные и бокавирусные респираторные инфекции в структуре ОРВИ у детей // *Детские инфекции*. – 2015. – № 2. – С. 5–8.
156. Швец Е.Ю. Клинико-эпидемиологические особенности и диагностика бокавирусной инфекции у детей: автореферат дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 26 с.
157. Тюменцев А.И. Молекулярно-генетическая характеристика бокавирусов, циркулирующих в Новосибирске: автореферат дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск., 2015. – 21 с.
158. Таксономия вирусов на сайте Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV). <https://ictv.global/taxonomy> (дата обращения: 31 июля 2024).
159. Керр Дж., Котмор С., Блум М. Парвовирусы. CRC Press, 2005. – С. 171–185.

160. Кондратьева Т.Ю., Швец Е.Ю., Евсеева Е.Л., Горелов А.В. Эпидемиологические аспекты бокавирусной инфекции у детей // Инфекционные болезни. – 2008. – № 6(2). – С. 10–16.
161. Allander T., Jartti T., Gupta S. Niesters H.G., Lehtinen P., Osterback R., Vuorinen T., Waris M., Bjerkner A., Tiveljung-Lindell A., van den Hoogen B.G., Hyypiä T., Ruuskanen O. Human bocavirus and acute wheezing in children // *Clinical Infectious Diseases*. – 2007. – № 44. – P. 904–910.
162. Львов Н. И. Аденовирусная инфекция у военнослужащих: клиника, диагностика и лечение: дис. ... д-ра мед. наук. – СПб.: ВМА им. Кирова, 2016. – С. 22. – 313 с.
163. Яцышина С.Б., Самчук В.В., Васильев В.В., Агеева М.Р., Воробьева Н.С., Савочкина Ю.А., Буланенко В.П., Шипулин Г.А., Малеев В.В. Аденовирусная пневмония с летальным исходом у взрослых // *Терапевтический архив*. – 2014. – Т. 86, № 11. – С. 55–59.
164. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // *Инфекция и иммунитет*. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 221–246.
165. Su S., Wong G., Shi W., Liu J., Lai A.C.K., Zhou J., Liu W., Bi Y., Gao G.F. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses // *Trends of Microbiology*. – 2016. – № 24(6). – P. 490–502.
166. Похиленко В. Д. Как микробиом легких борется с бактериальной и вирусной инфекцией: монография. – Чебоксары: ЦНС «Интерактив плюс». – 2020. – 68 с.
167. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 23. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200212-sitrep-23-ncov.pdf> (дата обращения 29.08.2024).

168. Yan R., Zhang Y., Li Y., Lu Xia, Guo Y., Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 // *Science*. – 2020. – Vol. 367, № 6485. – P. 1444–1448.

169. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARSCoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor // *Cell*. – 2020. – № 181. – P. 1–10.

170. Spichak T.V., Yatsyshina S.B., Katosova L.K., Kim S.S., Korppi M.O. Is the role of rhinoviruses as causative agents of pediatric community-acquired pneumonia over-estimated? // *European Journal of Pediatrics*. – 2016. – V. 175. №12. – P. 1951–1958.

171. National Center of Biotechnology Information. GeneBank https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000859985.2 (дата обращения 29.08.2024)

172. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / под ред. В. А. Исакова. 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 670 с.

173. Шахгильдян В.И. Клиническая характеристика, диагностика и лечение цитомегаловирусной инфекции // *Медицинская кафедра*. – 2003. – № 1. – С. 51–59.

174. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. Пневмония. – М.: МИА, 2006. – 464 с.

175. Limaye A.P., Boeckh M. CMV in critically ill patients: pathogen or bystander? // *Reviews in medical virology*. – 2010. – Vol. 20, № 6. – P. 372–379.

176. Шахгильдян В.И. Диагностика и лечение цитомегаловирусной инфекции у беременных и новорожденных // *Неонатология: Новости. Мнения. Обучение*. – 2017. – № 3 (17). – С. 70–82. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/diagnostika-i-lechenie-tsitomegalovirusnoy-infektsii-u-beremennyh-i-novorozhdennyh> (дата обращения: 29.08.2024).

177. Гранитов В.Н. Герпесвирусная инфекция. – М.: Медицинская книга, 2001. – 80 с.
178. Knezevic A., Martic J., Stanojevic M., Jankovic S., Nedeljkovic J., Nikolic L., Pasic S., Jankovic B., Jovanovic T. Disseminated neonatal herpes caused by herpes simplex virus types 1 and 2 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 302–304.
179. *Fields Virology*, 6th Edition / edited by David M. K., Peter M. H. // USA. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 2456 p.
180. Харламова Ф.С., Егорова Н.Ю., Шамшева О.В., Учайкин В.Ф., Молочкова О.В., Новосад Е.В., Лебедева Т.М., Симонова Е.В. Роль герпесвирусной инфекции IV, V и VI типов в инфекционной и соматической патологии у детей // *Педиатрия*. – 2017. – Т. 96, № 4. – С. 42–47.
181. Connolly S.A., Jardetzky T.S., Longnecker R. The structural basis of herpesvirus entry // *Nature Reviews Microbiology*. – 2021. – № 19(2). – P. 110–121.
182. Wang H., Yao Y., Huang C., Chen Q., Chen J., Chen Z. Immunization with cytomegalovirus envelope glycoprotein M and glycoprotein N DNA vaccines can provide mice with complete protection against a lethal murine cytomegalovirus challenge // *Virologica sinica*. – 2013. – № 28(3). – P. 174–182.
183. Marti-Carreras J., Maes P. Human cytomegalovirus genomics and transcriptomics through the lens of next-generation sequencing: revision and future challenges // *Virus genes*. – 2019. – № 55(2). – P.138–164.
184. Damme E. V., Looock M. V. Functional annotation of human cytomegalovirus gene products: an update // *Frontiers in microbiology*. – 2014. – Vol. 5, № 218. – 12 p.
185. Javarama V., Marcello J., Ohagen A., Gibaja V., Lunderville D., Horrigan J., Chapman J., Lazo A. Development of models and detection methods for different forms of cytomegalovirus for the evaluation of viral inactivation agents // *Transfusion*. – 2006. – Vol. 46, № 9. – P. 1580–1588. doi: 10.1111/j.1537-2995.2006.00926.x

186. Wang G.C. Kao W.H., Murakami P., Xue Q.L., Chiou R.B., Detrick B., McDyer J.F., Semba R.D., Casolaro V., Walston J.D., Fried L.P. Cytomegalovirus Infection and the Risk of Mortality and Frailty in Older Women: A Prospective Observational Cohort Study // *American Journal of Epidemiology*. – 2010. – Vol. 171, № 10. – P. 1144–1152.

187. Cheeran M.C.J., Lokensgard J. R., Schleiss M.R. Neuropathogenesis of Congenital Cytomegalovirus Infection: Disease Mechanisms and Prospects for Intervention // *Clinical Microbiology Review*. – 2009. – Vol. 22, № 1. – P. 99–126.

188. Бутакова Л.В., Сапега Е.Ю., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Присяжнюк Е.Н., Савосина Л.В. Мониторинг респираторных вирусов у больных внебольничными пневмониями в период пандемии COVID-19 в г. Хабаровске в 2020 году // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. – 2021. – Выпуск 82. – С. 21–27.

189. Shen Z. Shang S.Q., Zou C.C., Zheng J.Y., Yu Z.S. The detection and clinical features of human cytomegalovirus infection in infants // *Pediatric and developmental pathology*. – 2010. – Vol. 29(6). – P. 393–400.

190. Таточенко В.К., Бакрадзе М.Д. Лихорадки Справочник по диагностике и лечению Глава 4. Пневмонии Внебольничные пневмонии <https://praesens.ru/rubricator/brochures/8f9c1cca-48d7-44fe-879c-6c5e9162c698/>

191. Методические указания МУ 3.1.2/4.2.3973-23 Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями. – 63 с.

192. Рачина С.А., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Особенности микробиологической диагностики при внебольничной пневмонии у взрослых // *Практическая пульмонология*. – 2016. – № 4. – С. 40–47.

193. МР 4.2.0114-16. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии. Методические рекомендации. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2017. – 64 с.

194. Яцышина С.Б., Карпова Т.И., Мариненко О.В., Дронина Ю.Е., Галстян Г.М., Тартаковский И.С. Применение ПЦР для диагностики легионеллезной инфекции у гематологических больных // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т. 17. № 1. – С. 52–56.
195. Зубков М.Н. Микробиологическая диагностика при легочных заболеваниях. В кн.: Респираторная медицина. Под ред. Чучалина А.Г. – М.: Гэотар-Медиа, 2007. – Т. 1. – С. 238–252.
196. Козлов Р.С., Сухорукова М.В., Сивая О.В., Иванчик Н.В.; исследовательская группа ПЕГАС. Чувствительность к антимикробным препаратам клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных в различных регионах РФ в 2010–2013 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т.17, № 2; приложение 1. – С. 31.
197. Lim W.S., Baudouin S.V., George R.C., Hill A.T., Jamieson C., Le Jeune I., Macfarlane J.T., Read R.C., Roberts H.J., Levy M.L., Wani M., Woodhead M.A.; Pneumonia Guidelines Committee of the BTS Standards of Care Committee. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. // Thorax. – 2009. – Vol. 64, Suppl. III. – P. 1–55.
198. Garcia L.S., Isenberg H.D. Clinical microbiology procedures handbook. 3rd edition and 2007 update. – Washington, DC: ASM Press, 2010. – 2681 p.
199. Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A., Bartlett J.G., Campbell G.D., Dean N.C., Dowell S.F., File T.M. Jr., Musher D.M., Niederman M.S., Torres A., Whitney C.G.; Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults // Clinical Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 44, suppl. 2. – P. 27–72.

200. Синопальников А.И. Бактериальная пневмония. В кн.: Респираторная медицина. Под ред. Чучалина А.Г. – М.: Гэотар-Медиа, 2007. – Т. 1. – С. 474–509.

201. Мавзютова Г.А., Кузовкина О.З., Мирсаяпова И.А. Диагностическое значение современных методов микробиологической верификации внебольничной пневмонии в клинической практике // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 12. – С. 31–34.

202. Campbell S.G., Marrie T.J., Anstey R., Dickinson G., Ackroyd-Stolarz S. The contribution of blood cultures to the clinical management of adult patients admitted to the hospital with community-acquired pneumonia: a prospective observational study // Chest. – 2003. – Vol. 123, № 4. – P. 1142–1150.

203. Metersky M.L., Ma A., Bratzler D.W., Houck P.M. Predicting bacteremia in patients with community-acquired pneumonia // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2004. – Vol. 169. – P. 342–347.

204. Lee A., Mirrett S., Reller L.B., Weinstein M.P. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – Vol. 45, № 11. – P. 3546–3548.

205. Махова М.А., Бруснигина Н.Ф., Уткин О.В., Сахарнов Н.А. Молекулярно-генетические методы индикации и идентификации бактериальных и вирусных возбудителей внебольничной пневмонии, включая COVID-19: аналитический обзор. – Нижний Новгород, 2021. – 74 с.

206. Рачина С.А., Козлов Р.С. Современные подходы к микробиологической диагностике при внебольничной пневмонии // Пульмонология. – 2010. – № 5. – С. 5–14.

207. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Тартаковский И.С., Карпова Т.И., Дронина Ю.Е., Садретдинова О.В., Козлов Р.С., Бобылева З.Д., Лещенко И.В., Михайлова Д.О., Рачина С.А. Диагностика и лечение легионеллезной инфекции. Методические рекомендации // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 4–13.

208. МР 4.2.0089-14. Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности. Методические рекомендации. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015. – 19 с.

209. Протасова И.Н., Перьянова О.В., Ильенкова Н.А. Этиологическая диагностика внебольничной пневмонии у детей // Пульмонология. – 2014. – № 5. – 78–82.

210. Стулова М.В., Кудряшева И.А., Полунина О.С., Черенова Л.П., Аршба Т.Е., Лисина О.А., Казакова Е.А. Сравнительный клинко-лабораторный анализ COVID-19 ассоциированной пневмонии с внебольничной пневмонией бактериальной этиологии // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29905> (дата обращения: 07.09.2021).

211. Бруснигина Н.Ф., Мазепа В. Н., Самохина Л. П., Черневская О. М., Орлова К. А., Сперанская Е. В., Скобло Л. Е., Кленина Н. Н., Барышева Н. Н. Этиологическая структура внебольничной пневмонии // Медицинский альманах. – 2009. – Т. 7, № 2. – С. 118–121.

212. Holter J.C., Müller F., Bjorang O., Samdal H.H., Marthinsen J.B., Jenum P.A., Ueland T., Froland S.S., Aukrust P., Husebye E., Heggelund L. Etiology of community-acquired pneumonia and diagnostic yields of microbiological methods: a 3-year prospective study in Norway // BMC Infectious Diseases. – 2015. – № 15. – P. 64.

213. Бакштановская И.В., Степанова Т.Ф., Шаруха Г.В., Летюшев А.Н., Степанова К.Б., Логинова Н.В., Панина Ц.А., Зматракова Е.А., Косырева А.Н., Бартусевич А.З., Леонтьева С.А., Вишнякова А.О. Результаты выявления SARS-CoV-2 и других возбудителей внебольничных пневмоний методом ПЦР в Тюменской области // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 3. – С. 146–149.

214. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., Твердохлебова Т.И., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Алешукина А.В., Слись С.С. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 4. – С. 99–105.

215. МУ 1.3.2569-09. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности. I-IV групп патогенности. Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 51 с.

216. Волков А.Н., Начева Л.В. Молекулярно-генетические методы в практике современных медико-биологических исследований. Часть I: теоретические основы ПЦР-диагностики // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2020. – Т. 5, № 4. – С. 133–140.52.

217. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – М.: Мир, 2002. – 589 с.

218. Bustin S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // Journal of Molecular Endocrinology. – 2000. – № 5. – P. 169–193.

219. Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases // Journal of Infection and Chemotherapy. – 2009. – Vol. 15, № 2. – P. 62–69.

220. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28, № 12. – P. e63.

221. Карташов М.Ю., Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Найденова Е.В., Терновой В.А., Перспективы применения петлевой изотермической амплификации в диагностике опасных инфекционных болезней, вызванных

вирусами I группы патогенности // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – № 2. – С. 22–30.

222. Kanekoa H., Kawanab T., Fukushimaa E., Suzutania T. Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. – 2007. – Vol. 70, № 3. – P. 499–501.

223. Francois P., Tangomo M., Hibbs J., Bonetti E.-J., Boehme C.C., Notomi T., Perkins M.D., Schrenzel J., Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications // FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2011. – Vol. 62, № 1. – P. 41–48.

224. Parida M., Horioke K., Ishida H., Dash P.K., Saxena P., Jana A.M., Islam M.A., Inoue S., Hosaka N., Morita K. Rapid Detection and Differentiation of Dengue Virus Serotypes by a Real-Time Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay // Journal of Clinical Microbiology. – 2005. – Vol. 43, № 6. – P. 2895–2903.

225. Li S., Fang M., Zhou B., Ni H., Shen K., Zhang H., Han Yu, Yin J., Chang V., Xu G., Cao G. Simultaneous detection and differentiation of dengue virus serotypes 1–4, Japanese encephalitis virus, and West Nile virus by a combined reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay // Virology Journal. – 2011. – № 8. – P. 360.

226. Tiana B., Qiua Z., Mab J., Gómez de la Torrea T.Z., Johanssonc C., Svedlindh P., Strömberg M. Attomolar Zika virus oligonucleotide detection based on loop-mediated isothermal amplification and AC susceptometry // Biosensors and Bioelectronics Volume. – 2016. – № 86. – P. 420–425.

227. Parida M.M., Santhosh S.R., Dash P. K., Tripathi N.K., Lakshmi V., Mamidi N., Shrivastva A., Gupta N., Saxena P., Pradeep Babu J., Lakshmana Rao P.V., Morita K. Rapid and Real-Time Detection of Chikungunya Virus by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – Vol. 45, № 2. – P. 351–357.

228. Hayasaka D., Aoki K., Morita K. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification // *Virology Journal*. – 2013. – Vol. 10, № 1. – P. 68.

229. Hong T.C., Mai Q.L., Cuong D.V., Parida M., Minekawa H., Notomi T., Hasebe F., Morita K. Development and evaluation of a new isothermal loop amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome. Coronavirus // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2004. – Vol. 42, № 5. – P. 1956–1961.

230. Shirato K., Semba S., El-Kafravi S.A., Hassan A.M., Tolah A.M., Takayama I., Kageyama T., Notomi T., Kamitani V., Matsuyama S., Azhar E.I. Development of fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) using quenching probes for the detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus // *Journal of Virological Methods*. – 2018. – Vol. 258. – P. 41–48.

231. Nguyen T, Duong Bang D, Wolff A. 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the Road for Rapid Detection and Point-of-Care Diagnostics // *Micromachines (Basel)*. – 2020. – Vol. 11, № 3. – P. 306.

232. Семенцова А.О., Дедков В.Г., Терновой В.А., Чуб Е.В., Пьянков С.А., Агафонов А.П., Максютков Р.А., Малеев В.В., Попова А.Ю. Клиническая лабораторная диагностика лихорадки Эбола. Анализ существующих методик и диагностических средств // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2018. – № 3.

233. Parida M., Posadas G., Inoue S., Hasebe F., Morita K. Real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of West Nile virus // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2004. – Vol. 42, № 5. – P. 1956–1961.

234. Waller J.V., Kaur P., Tucker A., Lin K.K., Diaz M.J., Henry T.S., Hope M. Diagnostic tools for Coronavirus disease (COVID-19): Comparing CT

and RT-PCR viral nucleic acid testing // American Journal of Roentgenology. – 2020. – P. 215.

235. Long C., Xu H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., Zeng B., Li Z., Li X., Li H. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? // European Journal of Radiology. – 2020. – Vol. 126. – e108961.

236. Udugama B., Kadhiresan P., Kozlowski H.N., Malekjahani A., Osborne M., Li V.Y.C., Chen H., Mubareka S., Gubbay J.B., Chan W.C.W. Diagnosing COVID-19: The disease and tools for detection // ACS Nano. – 2020. – Vol. 14, № 4. – P. 3822–3835.

237. Временные методические рекомендации профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) версия 9 от 26.10.2020. URL: <https://static-0.minzdrav.gov.ru> (дата обращения: 07.09.2024)].

238. Wilson M.R., Naccache S.N., Samayoa E., Biagtan M., Bashir H., Yu G., Salamat S.M., Somasekar S., Federman S., Miller S., Sokolic R., Garabedian E., Candotti F., Buckley R.H., Reed K.D., Meyer T.L., Seroogy C.M., Galloway R., Henderson S.L., Gern J.E., DeRisi J.L., Chiu C.Y. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing // New England Journal of Medicine. – 2014. – Vol. 370, № 25. – P. 2408–2417.

239. Chiu C.Y., Miller S.A. Clinical metagenomics // Nature Reviews Genetics. – 2019. – Vol. 20, № 6. – P. 341–355.

240. Forbes J.D., Knox N.C., Ronholm J., Pagotto F., Reimer A. Metagenomics: The Next Culture-Independent Game Changer // Frontiers in Microbiology. – 2017. – № 8. – P. 1069.

241. Внебольничные пневмонии у беременных: дифференциальная диагностика, особенности лечения, акушерская тактика в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19. МКБ-10 (J13–J16 и J18; U07.1, U07.2): Учебное пособие / под ред. проф. В. Ф. Беженаря, проф. И. Е. Зазерской. – Санкт-Петербург: ЭкоВектор, 2020. – 95 с.

242. Wu X., Li Y., Zhang M., Li M., Zhang R., Lu X., Gao W., Li Q., Xia Y., Pan P., Li Q. Etiology of Severe Community-Acquired Pneumonia in Adults Based on Metagenomic Next-Generation Sequencing: A Prospective Multicenter Study // *Infectious Diseases and Therapy*. – 2020. – № 9. – P. 1003–1015.

243. Sun T., Wu X., Cai Y., Zhai T., Huang L., Zhang Y., Zhan Q. Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogenic Diagnosis and Antibiotic Management of Severe Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2021. – № 11. – P. 661589.

244. Xie F., Duan Z., Zeng W., Xie S., Xie M., Fu H., Ye Q., Xu T., Clinical metagenomics assessments improve diagnosis and outcomes in community-acquired pneumonia // *BMC Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 21. – P. 352.

245. Wang H., Lu Z., Bao Y., Yang Y., de Groot.R., Dai W., de Jonge M.I., Zheng Y. Clinical diagnostic application of metagenomic next-generation sequencing in children with severe nonresponding pneumonia // *PLOS ONE*. – 2020. – Vol. 15, № 6. – e0232610.

246. NCBI.NLM.GENBANK URL:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (дата обращения 26.08.2024.)

247. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями // *Журнал МедиАль*. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 6–28.

248. Elberse K., Witteveen S., van der Heide H., van de Pol., Schot C., van der Ende A., Berbers G., Schouls L. Sequence diversity within the capsular genes of *Streptococcus pneumoniae* serogroup 6 and 19 // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 9. – P. e25018.

249. Миронов К.О., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Янушевич Ю.Г., Шеленков А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Козлов Р.С., Акимкин В.Г. Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от больных

инвазивными пневмококковыми инфекциями, с использованием высокопроизводительного секвенирования // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – Т. 97, № 2. – С. 113–118.

250. Зарипова А.З., Валиева Р.И., Баязитова Л.Т., Целищева М.В. Диагностика пневмококковых инфекций респираторного тракта // Практическая пульмонология. – 2018. – № 4. – С. 74–80.

251. Garaizar J., Rementeria A., Porwollik S. DNA microarray technology: a new tool for the epidemiological typing of bacterial pathogens? // FEMS immunology and medical microbiology. – 2006. – Vol. 47, No. 2. – P. 178–189.

252. Bednár M. DNA microarray technology and application // Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. – 2000. – Vol. 6, No. 4. – P. 796–800.

253. Hall D. A., Ptacek J., Snyder M. Protein Microarray Technology // Mechanisms of ageing and development. – 2007. – Vol. 128, No. 1. – P. 161–167.

254. Bertone P., Snyder M. Advances in functional protein microarray technology // The FEBS journal. – Vol. 272, No. 21. – P. 5400–5411.

255. Gardner S.N., Jaing C.J., McLoughlin K.S., Slezak T.R. A microbial detection array (MDA) for viral and bacterial detection // BMC Genomics. – 2010. – Vol. 11 – P. 668.1–668.21.

256. Thissen J.B., McLoughlin K., Gardner S., Gu P., Mabery S., Slezak T., Jaing C. Analysis of sensitivity and rapid hybridization of a multiplexed Microbial Detection Microarray // Journal of Virological Methods. – 2014. – Vol. 201. – P.73–78.

257. Thissen J. B., Be N. A., McLoughlin K., Gardner S., Rack P. G., Shapero M. H., Rowland R., Slezak T., Jaing C. J. Axiom Microbiome Array, the next generation microarray for high-throughput pathogen and microbiome analysis // PLoS One. – 2019. – Vol. 14. – P. e0212045.1–e0212045.17.

258. Axiom™ Microbiome, 24 array plate – URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/902903#/902903> (дата обращения 03.09.2024).

259. Shen H., Shi W., Wang J., Wang M., Li J., Zhang C., Nie K., Yang M., Zhang Y., Li A., Tan W., Ma X. Development of a new resequencing pathogen microarray based assay for detection of broad-spectrum respiratory tract viruses in patients with community-acquired pneumonia // PLoS One – 2013. – Vol. 8. – P. e75704.1–e75704.11
260. Leski T.A., Lin B., Malanoski A.P., Stenger D.A. Application of resequencing microarrays in microbial detection and characterization // Future Microbiology. – 2012. – Vol. 7. – P. 625–637.
261. Gardner S.N., Jaing C.J., McLoughlin K.S., Slezak T.R. A microbial detection array (MDA) for viral and bacterial detection // BMC Genomics. – 2010. – Vol.11 – P.668.1–668.21.
262. Axiom™ Microbiome, 96 array plate – URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/902904?SID=srch-srp-902904#/902904?SID=srch-srp-902904> (дата обращения 03.09.2024).
263. Ma X., Li Y., Liang Y., Liu Y., Yu L., Li C., Liu Q., Chen L. Development of a DNA microarray assay for rapid detection of fifteen bacterial pathogens in pneumonia // BMC Microbiology. – 2020. – Vol. 20. – P. 177.1–177.13.
264. Aanensen D.M., Mavroidi A., Bentley S.D., Reeves P.R., Spratt B.G. Predicted functions and linkage specificities of the products of the Streptococcus pneumoniae capsular biosynthetic loci // Journal of Bacteriology. – 2007. – Vol. 189. – P. 7856–7876.
265. Brugger S.D., Frey P., Aebi S., Hinds J., Mühlemann K. Multiple colonization with S. pneumoniae before and after introduction of the seven-valent conjugated pneumococcal polysaccharide vaccine // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – P. e11638.1–e11638.8.
266. Raymond F., Boucher N., Allary R., Robitaille L., Lefebvre B., Tremblay C., Corbeil J., Gervais A. Serotyping of Streptococcus pneumoniae Based on Capsular Genes Polymorphisms // PLoS ONE – 2013. – Vol. 8. – P.e76197.1–e76197.12.

267. Cai L., Kong F., Wang Q., Wang H., Xiao M., Sintchenko V., Gilbert G.L. A new multiplex PCR-based reverse line-blot hybridization (mPCR/RLB) assay for rapid staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing // *Journal of Medical Microbiology*. – 2009. – Vol. 58. – P.1045–1057.

268. O'Sullivan M.V.N., Kong F., Sintchenko V., Gilbert G.L. Rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission in hospitals by use of phage-derived open reading frame typing enhanced by multiplex PCR and reverse line blot assay // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2010. – Vol. 48. – P. 2741–2748.

269. Wölfel R., Paweska J.T., Petersen N., Grobbelaar A.A., Leman P.A., Hewson R., Georges-Courbot M.C., Papa A., Heiser V., Panning M., Günther S., Drosten C. Low-density macroarray for rapid detection and identification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2009. – Vol. 47, No. 4. – P.1025–1030.

270. Khan S., Nakajima R., Jain A., de Assis R.R., Jasinskas A., Obiero J.M., Adenaiye O., Tai S., Hong F., Milton D.K., Davies H., Felgner P.L. Analysis of Serologic Cross-Reactivity Between Common Human Coronaviruses and SARS-CoV-2 Using Coronavirus Antigen Microarray // *bioRxiv* – 2020. – Mar 25;2020.03.24.006544.

271. Khan S., Nakajima R., Jain A., de Assis R.R., Jasinskas A., Obiero J.M., Adenaiye O., Tai S., Hong F., Milton D.K., Davies H., Felgner P.L. Analysis of Serologic Cross-Reactivity Between Common Human Coronaviruses and SARS-CoV-2 Using Coronavirus Antigen Microarray // *bioRxiv* – 2020. – Mar 25;2020.03.24.006544.

272. Kunnath-Velayudhan S., Salamon H., Wang H.Y., Davidow A.L., Molina D.M., Huynh V.T., Cirillo D.M., Michel G., Talbot E.A., Perkins M.D., Felgner P.L., Liang X., Gennaro M.L. Dynamic antibody responses to the *Mycobacterium tuberculosis* proteome // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* – 2010. – Vol. 107. – P. 14703–14708.

273. Deng J., Bi L., Zhou L., Guo S.J., Fleming J., Jiang H.W., Zhou Y., Gu J., Zhong Q., Wang Z.X., Liu Z., Deng R.P., Gao J., Chen T., Li W., Wang J.F., Wang X., Li H., Ge F., Zhu G., Zhang H.N., Gu J., Wu F.L., Zhang Z., Wang D., Hang H., Li Y., Cheng L., He X., Tao S.C., Zhang X.E. Mycobacterium tuberculosis proteome microarray for global studies of protein function and immunogenicity // Cell Reports. – 2014. – Vol. 9. – P. 2317–2329.

274. He X., Jiang H.W., Chen H., Zhang H.N., Liu Y., Xu Z.W., Wu F.L., Guo S.J., Hou J.L., Yang M.K., Yan W., Deng J.Y., Bi L.J., Zhang X.E., Tao S.C. Systematic Identification of Mycobacterium tuberculosis Effectors Reveals that BfrB Suppresses Innate Immunity // Molecular & Cellular Proteomics. – 2017. – Vol. 16. – P. 2243–2253.

275. Olaya-Abril A., Jiménez-Munguía I., Gómez-Gascón L., Obando I., Rodríguez-Ortega M.J. A Pneumococcal Protein Array as a Platform to Discover Serodiagnostic Antigens Against Infection // Molecular & Cellular Proteomics. – 2015. – Vol. 14. – P. 2591–2608.

276. Wang H., Wu X., Zhang X., Hou X., Liang T., Wang D., Teng F., Dai J., Duan H., Guo S., Li Y., Yu X. SARS-CoV-2 Proteome Microarray for Mapping COVID-19 Antibody Interactions at Amino Acid Resolution // ACS Central Science. – 2020. – Vol. 6. – P. 2238–2249.

277. Jiang H.W., Li Y., Zhang H.N., Wang W., Yang X., Qi H., Li H., Men D., Zhou J., Tao S.C. SARS-CoV-2 proteome microarray for global profiling of COVID-19 specific IgG and IgM responses // Nature Communications. – 2020. – Vol. 11. – P. 3581.1–3581.11.

278. Song L., Wallstrom G., Yu X., Hopper M., Van Duine J., Steel J., Park J., Wiktor P., Kahn P., Brunner A., Wilson D., Jenny-Avital E.R., Qiu J., Labaer J., Magee D.M., Achkar J.M. Identification of Antibody Targets for Tuberculosis Serology using High-Density Nucleic Acid Programmable Protein Arrays // Molecular & Cellular Proteomics. – 2017. – Vol. 16. – P. S277–S289.

279. Montor W.R., Huang J., Hu Y., Hainsworth E., Lynch S., Kronish J.W., Ordonez C.L., Logvinenko T., Lory S., La Baer J. Genome-wide study of

Pseudomonas aeruginosa outer membrane protein immunogenicity using self-assembling protein microarrays // *Infection and Immunity*. – 2009. – Vol. 77. – P. 4877–4886.

280. Yang L., Yang Z., Cheng L., Cheng J., Cheng L., Sun Y., Li W., Song K., Huang W., Yin Y., Tao S., Zhang Q. Lectin Microarray Combined with Mass Spectrometry Identifies Haptoglobin-Related Protein (HPR) as a Potential Serologic Biomarker for Separating Nonbacterial Pneumonia from Bacterial Pneumonia in Childhood // *Proteomics. Clinical applications*. – 2018. – Vol. 12. – P. e1800030.

281. Жаркова Л.П., Стецюк О.У., Андреева И.В., Егорова О.А. Современные тенденции применения защищенных аминопенициллинов для лечения инфекций респираторного тракта в амбулаторной практике // *Фарматека*. – 2011. – № 4. – С. 8–16.

282. Козлов Р.С. Пневмококки: уроки прошлого – взгляд в будущее // Смоленск: МакМАХ, 2010. – 127 с.

283. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009 // *Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*. – Stockholm: ECDC, 2010. – 208 с.

284. Козлов Р. С., Чагарян А. Н., Козлова Л. В., Муравьев А. А. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации // *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия*. – 2011. – № 13(2). – С. 177–187.

285. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O., Lazareva A., Katosova L., Ivanenko A., Kulichenko T., Namazova-Baranova L., Baranov A. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia // *Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – № 20. – P. 58–62.

286. Сивая О.В., Козлов Р.С., Кречикова О.И., Иванчик Н.В., Катосова Л.К., Гудкова Л.В. Антибиотикорезистентность *Haemophilus influenzae* в России: результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2014. – № 1.

287. Blasi F., Farrell D.J., Dubreuil L. Antibacterial activity of telithromycin and comparators against pathogens isolated from patients with community-acquired respiratory tract infections: the Prospective Resistant Organism Tracking and Epidemiology for the Ketolide Telithromycin study year 5 (2003–004) // Diagnostic microbiology and infectious disease. – 2009. – № 63(3). – P. 302–310.

288. Решедько Г.К., Козлов Р.С. Состояние резистентности к антиинфекционным препаратам в России / Под редакцией Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. – Смоленск, 2007. – С. 32–46.

289. Alqurashi AM., AbuTwibah M. Invitro ciprofloxacin resistance profiles among gram-negative bacteria isolated from clinical specimens in a teaching hospital // Journal Pakistan Medical Association. – 2010. – № 60(8). – P. 625–627.

290. Bébéar C., Pereyre S., Peuchant O. *Mycoplasma pneumoniae*: susceptibility and resistance to antibiotics // Future of Microbiology. – 2011. – № 6(4). – P. 423–431.

291. Bébéar C.M., Pereyre S. Mechanisms of drug resistance in *Mycoplasma pneumoniae* // Current Drug Targets – Infectious Disorders. – 2005. – № 5(3). – P. 263–271.

292. Pereyre S., Guyot C., Renaudin H., Charron A., Bebear C., Bebear C.M. In vitro selection and characterization of resistance to macrolides and related antibiotics in *Mycoplasma pneumoniae* // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2004. – № 48(2). – P. 460–465.

293. Morozumi M., Iwata S., Hasegawa K., Chiba N., Takayanagi R., Matsubara K., et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2008. – № 52(1). – P. 348–350.

294. Matsuda K., Narita M., Sera N., Maeda E., Yoshitomi H., Ohya H. Gene and cytokine profile analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infection in Fukuoka, Japan // *BMC Infection Diseases*. – 2013. – № 13(1). – P. 591.

295. Pereyre S., Goret J., Bébéar C. *Mycoplasma pneumoniae*: current knowledge on macrolide resistance and treatment // *Frontiers in Microbiology*. – 201. – № 7. – P. 974.

296. Эйдельштейн И.А., Эйдельштейн М.В., Романов А.В., Зайцев А.А., Раковская И.В., Бархатова О.И., Антипушина Д.Н., Козлов Р.С. Четыре случая выявления мутаций устойчивости в гене 23S рРНК *Mycoplasma pneumoniae*, выделенных от военнослужащих с пневмонией, находящихся на лечении в военном госпитале // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2017. – № 19(3). – С. 248–253

297. Gruson D., Pereyre S., Renaudin H., Charron A., Bebear C., Bebear C.M. In vitro development of resistance to six and four fluoroquinolones in *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma hominis*, respectively // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2005. – P. 49(3). – P. 1190–1193.

298. Degrange S., Renaudin H., Charron A., Pereyre S., Bebear C., Bebear C.M. Reduced susceptibility to tetracyclines is associated in vitro with the presence of 16S rRNA mutations in *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma pneumoniae* // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2008. – № 61(6). – P. 1390–1392.

299. Сидоренко С. В., Тишков В. И. молекулярные основы резистентности к антибиотикам // *Успехи и биологической химии*. – 2004. – Т. 44. – С. 263–236

300. Stetsiouk O.U., Kozlov R.S., Poupard J.A. Curbing pneumococcal resistance in orphanages: interventions on the basis of prospective surveillance of

nasopharyngeal isolates // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2006. – № 12(S4). – C. 1484.

301. Grohs P., Trieu-Cuot P., Podglajen I., Grondin S., Firon A., Poyart C., Varon E., Gutmann L. Molecular basis for different levels of tet(M) expression in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2012. – № 6(10). – P. 5040–5045.

302. Oggioni M.R., Iannelli F., Pozzi G. Characterization of cryptic plasmids pDP1 and pSMB1 of *Streptococcus pneumonia* // *Plasmid*. – 1999. – Vol. 41(1). – P. 70–72.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АМП – антимикробный препарат
БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ВП – внебольничная пневмония
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ВПГЧ – вирус парагриппа человека
ИСМП – инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи
ИФА – иммуноферментный анализ
ИХА – иммунохроматографический анализ
ИГХИ – иммуногистохимическое исследование
кДНК – комплементарная ДНК
КТ – компьютерная томография
ЛЦР – лигазная цепная реакция
МАНК – методы амплификации нуклеиновых кислот
МИФ – метод иммунофлюоресценции
МКБ-10 – Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра
ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
ОРЗ – острое респираторное заболевание
ОТ-ПЦР (RT-PCR) – ПЦР с с реакцией обратной транскрипции
п.н. – пар нуклеотидов
ПКВ – пневмококковая конъюгированная вакцина
ПНЧП – пенициллиночувствительные пневмококки
ППВ – пневмококковая полисахаридная вакцина
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РН – реакция нейтрализации
РИФ – реакция иммунофлюоресценции
РНГА – реакция непрямой гемагглютинации
РНК – рибонуклеиновая кислота
рРНК – рибосомальная РНК
мРНК – матричная (информационная) РНК
РСВ – респираторно-синцитиальный вирус
РСК – реакция связывания комплемента
РТГА – реакция торможения гемагглютинации
СМП – среднемноголетний показатель
ЦНИИЭ – Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора
ЦНС – центральная нервная система
CARDS-токсин (от англ. Community-Acquired Respiratory Distress Syndrome Toxin)
COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019 года (от англ. COronaVirus Disease 2019)
DEC – кишечные патотипы *E. coli* (diarrheagenic *E. coli*)

ExPEC – внекишечные патотипы *E. coli* (extraintestinal *E. coli*)
 HBoV – бокавирус человека
 HCov – коронавирус человека
 HSVI – вирус простого герпеса 1-го типа
 HSVII – вирус простого герпеса 2-го типа
 ICTV – Международном комитете по таксономии вирусов (от англ. International Committee on Taxonomy of Viruses)
 IgG – иммуноглобулины класса G
 IgM – иммуноглобулины класса M
 LAMP – петлевая изотермическая амплификация (от англ. Loop-mediated isothermal AMPlification)
 MALDI-TOF MS – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с времяпролетным разделением (от англ. Matrix-Assisted Lazer Desorption / Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)
 MERS – коронавирус, вызвавший вспышку ближневосточного респираторного синдрома (от англ. Middle East Respiratory Syndrome)
 MLST – мультилокусное секвенирование-типирование (от англ. Multilocus sequence typing)
 MLVA – мультилокусный анализ областей генома с варьибельным числом tandemных повторов (от англ. Multiple Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis)
 mNGS – метагеномное секвенирование следующего поколения (от англ. metagenomic NGS)
 MRSA – метициллинорезистентный *Staphylococcus aureus*
 MSSA – метициллиночувствительный *Staphylococcus aureus*
 MOMP – большой белок внешней мембраны (от англ. Major Outer Membrane Protein)
 NASBA – реакция амплификации молекул рРНК (от англ. Nucleic Acid Sequence-Based Amplification)
 NGS – секвенирование следующего поколения (от англ. Next Generation Sequencing)
 OMP2 – белок внешней мембраны (от англ. Outer membrane protein)
 PAI – остров патогенности (от англ. pathogenicity island)
 POMP – полиморфный белок внешней мембраны (от англ. Polymorphic Membrane Protein)
 RACE-PCR – с быстрой амплификацией концов кДНК)
 SARS-CoV-2 – новый коронавирус, вызвавший вспышку инфекции в 2019–2020 гг. (от англ. Severe Acute Respiratory Syndrome related CoronaVirus 2)
 SSCP-анализ – анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных молекул
 TWAR – возбудитель тайваньской острой респираторной инфекции (от англ. TW – Taiwan, AR – acute respiratory)
 WGS – полногеномное секвенирование (от англ. Whole Genome Sequencing)