

ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК МЕНИНГОКОККА, ПНЕВМОКОККА, ГЕМОФИЛЬНОЙ ПАЛОЧКИ И СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ А В БИОПТАТАХ АДЕНОИДОВ У ДЕТЕЙ

С.Ю. Комбарова¹, А.М. Бичучер¹, Ю.Л. Солдатский², Р.Ю. Юнусова¹, Т.А. Скирда¹, И.Г. Мартыненко¹, Л.И. Головина¹, С.Р. Эдгем², Т.В. Северин², В.Г. Мельников¹

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ГБУЗ Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

Резюме. Менингококковая, пневмококковая, стрептококковая группы А и гемофильная инфекции имеют разнообразные формы проявления — от бактерионосительства до генерализованных, угрожающих жизни состояний. Вместе с тем взаимосвязь между носительством возбудителей этих инфекций и развитием заболевания все еще остается не полностью изученной. Для диагностики носительства менингококка, пневмококка, гемофильной палочки и стрептококка группы А с помощью ПЦР были исследованы биоптаты аденоидных вегетаций у 112 детей, которым в плановом порядке была проведена аденотомия. ДНК хотя бы одного из четырех детектируемых видов микроорганизмов обнаружена в 104 образцах (92,86%), из них: ДНК менингококка — в одном образце (0,9%), пневмококка — в 98 (87,5%), гемофильной палочки — в 19 (16,96%), стрептококка группы А — в 42 (37,5%) образцах. Не найдено ни одного из указанных видов микроорганизмов у 8 детей (7,14%). *S. pneumoniae*, в отсутствие других исследуемых видов бактерий был обнаружен в 54 образцах (48,2%), *S. pyogenes* — в 5 образцах (4,5%). Одновременно два вида искомым бактерий встречались в следующих сочетаниях: *N. meningitidis* и *S. pneumoniae* — в 1 образце (0,9%), *S. pneumoniae* и *H. influenzae* — в 7 образцах (6,3%); *H. influenzae* и *S. pyogenes* — в 1 образце (0,9%); *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* — в 25 образцах (22,3%). Три вида бактерий — *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. pyogenes* — были одновременно выявлены у 11 пациентов (9,8%). Проведенное серогруппирование менингококка не подтвердило его принадлежности ни к одной из 6 наиболее распространенных в мире серогрупп, ответственных за эпидемические подъемы заболеваемости (А, В, С, W-135, X, Y). Прослеживается явная тенденция преобладания ДНК *S. pyogenes* в биоптатах аденоидов у детей с диагнозом «Гипертрофия аденоидов и миндалин», по сравнению с диагнозом «Гипертрофия аденоидов». Обращает на себя внимание высокий удельный вес носительства пневмококка (87,5%), установленный в нашем исследовании. Носители, являющиеся резервуаром вирулентных пневмококков, представляют опасность как для самих себя, так и для окружающих. Таким образом, ПЦР-исследование биоптатов аденоидов является перспективным направлением дальнейших исследований, так как возможность выявления некультивируемых форм микроорганизмов в клинических образцах будет способствовать более точной оценке уровня носительства менингококков, пневмококков, гемофильной палочки и стрептококков группы А.

Ключевые слова: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, бактерионосительство, биоптаты аденоидов, ПЦР.

Адрес для переписки:

Комбарова Светлана Юрьевна
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (495) 452-20-36. Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: kombarova311@bk.ru

Contacts:

Svetlana Yu. Kombarova
125212, Russian Federation, Moscow, Admiral Makarov str., 10,
G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and
Microbiology.
Phone: +7 (495) 452-20-36. Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: kombarova311@bk.ru

Библиографическое описание:

Комбарова С.Ю., Бичучер А.М., Солдатский Ю.Л., Юнусова Р.Ю., Скирда Т.А., Мартыненко И.Г., Головина Л.И., Эдгем С.Р., Северин Т.В., Мельников В.Г. Выявление ДНК менингококка, пневмококка, гемофильной палочки и стрептококка группы А в биоптатах аденоидов у детей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 1. С. 111–120. doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1163

Citation:

Kombarova S.Yu., Bichucher A.M., Soldatsky Yu.L., Yunusova R.Yu., Skirda T.A., Martynenko I.G., Golovina L.I., Edgem S.R., Severin T.V., Melnikov V.G. Detection of meningococcus, pneumococcus, Haemophilus influenzae, and group A streptococcus DNA in pediatric adenoid biopsats // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 1, pp. 111–120. doi: 10.15789/2220-7619-DOM-1163

DETECTION OF MENINGOCOCCUS, PNEUMOCOCCUS, HAEMOPHILUS INFLUENZAE, AND GROUP A STREPTOCOCCUS DNA IN PEDIATRIC ADENOID BIOPSTATS

Kombarova S.Yu.^a, Bichucher A.M.^a, Soldatsky Yu.L.^b, Yunusova R.Yu.^a, Skirda T.A.^a, Martynenko I.G.^a, Golovina L.I.^a, Edgem S.R.^b, Severin T.V.^b, Melnikov V.G.^a

^a G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b Morozovskaya Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

Abstract. Meningococcal, pneumococcal, streptococcal A and *Haemophilus influenzae* infections are manifested in different clinical forms, ranging from bacterial carriage to generalized life-threatening conditions. However, a connection between bacterial carriage and disease development has not been fully explored. A PCR assay was performed with adenoid biopsy samples collected from 112 children after planned adenotomy to detect *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *H. influenzae* carriage. A DNA specific to at least one of the four studied microbial species was found in 104 samples (92.86%) so that: meningococcal DNA was detected in one sample (0.9%), pneumococcal — in 98 (87.5%), *H. influenzae* — in 19 (16.96%), and streptococcal A — in 42 (37.5%) samples. However, none of these species was found in 8 children (7.14%). A sole *S. pneumoniae* was detected in 54 samples (48.2%), whereas *S. pyogenes* — in 5 samples (4.5%). Moreover, two bacterial species were simultaneously as follows: *N. meningitidis* and *S. pneumoniae* — in 1 sample (0.9%), *S. pneumoniae* and *H. influenzae* — in 7 samples (6.3%); *H. influenzae* and *S. pyogenes* — in 1 sample (0.9%); *S. pneumoniae* and *S. pyogenes* — in 25 samples (22.3%). A triple combination consisting of *S. pneumoniae*, *H. influenzae* and *S. pyogenes* bacteria were detected together in 11 patients (9.8%). Meningococcal serogrouping revealed no connection with any of the 6 most common global serogroups responsible for epidemic incidence rise (A, B, C, W-135, X, Y). A clear tendency for prevalence of *S. pyogenes* DNA in adenoid pediatric biopsies in children diagnosed with “Adenoids and tonsils hypertrophy” vs. “Adenoids hypertrophy” was observed. It is noteworthy, a high relative prevalence of pneumococcal carriage (87.5%), found by us was of special importance. Pediatric carriers serving as a reservoir for virulent pneumococcal species pose a threat both for themselves and surrounding people. Thus, PCR-based data of adenoid biopsies may be a promising approach for future studies, as a potential to identify live viable but nonculturable bacteria in clinical specimens will contribute to a more accurate assessment of carriage rate of meningococci, pneumococci, *H. influenzae* and group A streptococci.

Key words: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, bacterial carriage, adenoid biopstats, PCR.

Введение

Менингококковая, пневмококковая, стрептококковая А и гемофильная инфекции относятся к группе болезней, имеющих разнообразные формы проявления — от бактерионосительства до генерализованных, угрожающих жизни человека состояний, среди которых выделяют гнойные бактериальные менингиты (ГБМ), являющиеся тяжелой инвазивной патологией, при которой в гнойный воспалительный процесс вовлекаются оболочки головного и спинного мозга. Заболевание может развиваться в любом возрасте, но наиболее уязвимы дети первых трех лет жизни [4, 9].

Основными этиологическими агентами ГБМ, на долю которых приходится более 90% этиологически расшифрованных случаев, являются менингококк, пневмококк и гемофильная палочка типа b. Таксономически *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* принадлежат к разным родам и даже семействам бактерий, но имеют и некоторое сходство. Данные бактерии могут населять слизистые оболочки верхних дыхательных путей, не вызывая у людей признаков заболевания (феномен бактерионосительства). Все три

микроорганизма объединяет способность формировать капсулу, что является важнейшим свойством патогенности. Однако капсулообразование часто реализуется только при инвазии тканей и диссеминации внутри организма хозяина [5].

Еще одним представителем рода *Streptococcus*, имеющим медицинское значение и способным бессимптомно персистировать на слизистых оболочках человека, является стрептококк группы А (*Streptococcus pyogenes*). С ним связан исключительно широкий спектр инфекционной патологии и осложнений: от первичных гнойно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов и кожи до вторичных форм с выраженным аутоиммунным компонентом патогенеза (ревматизм, гломерулонефрит, васкулиты), а также инвазивных или генерализованных форм (пневмония, некротический фасциит, миозит, менингит, перитонит, остеомиелит, сепсис, синдром токсического шока и др.) [1].

Поскольку бактерионосители являются резервуаром инфекции, не вызывает сомнений важность оценки уровня носительства менингококка, пневмококка, гемофильной палочки и стрептококка группы А в различных коллективах, особенно среди детей. Для этого требуются

наиболее чувствительные и специфичные методы выявления бактерий в клиническом материале. Возможности бактериологического метода диагностики в данном случае весьма ограничены, поскольку *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* и *H. influenzae* в носоглотке носителей образуют биопленку, которая в основном состоит из бактерий, не способных расти на питательных средах [5, 13, 29]. Показано, что культивируемые бактерии составляют только небольшую часть от популяции микроорганизмов, которые населяют слизистую оболочку носоглотки. Наиболее полно микробный состав той или иной экологической ниши может быть охарактеризован только с помощью современных молекулярных технологий [15].

Есть сведения, что использование иммуногистохимического метода диагностики на основе меченых моноклональных антител к белку менингококка Pore A позволяет выявить *N. meningitidis* в тканях аденоидов в 4 раза чаще, чем в мазках из носоглотки с помощью традиционного микробиологического метода [26]. Показано также, что выявление менингококка в тканях удаленных аденоидов с помощью ПЦР является более эффективным методом, по сравнению с иммуногистохимическим исследованием и традиционным микробиологическим посевом [14]. На преимущества метода ПЦР указывают и результаты Rizek и соавт. [25]. Слизь из носоглотки от 190 здоровых людей была исследована на содержание *N. meningitidis* двумя методами — бактериологическим и ПЦР. Благодаря использованию техники посева материала на питательные среды было выявлено 23 (12,1%) бактерионосителя, а с помощью ПЦР менингококки были обнаружены у 132 (69,5%) обследуемых.

Итак, роль бактерионосителей в поддержании эпидемического процесса менингококковой, пневмококковой, стрептококковой А и гемофильной инфекции может оказаться более значимой, чем принято было считать. Результаты приведенных выше работ дают основания полагать, что выявление бактериальной ДНК в биоптатах аденоидных вегетаций с помощью ПЦР может оказаться эффективным методическим приемом для оценки уровня носительства *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* и *H. influenzae*.

Цель исследования: проведение скрининга биоптатов аденоидов у детей, подвергшихся аденотомии в плановом порядке, на наличие ДНК *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. pyogenes* для оценки уровня носительства этих бактерий.

Исследование одобрено Этическим комитетом ГБУЗ «Морозовская ДГКБ Департамента здравоохранения г. Москвы».

Материалы и методы

Клинические образцы. Биоптаты аденоидных вегетаций получены во время аденотомии у 112 клинически здоровых детей, проживающих в Москве и Московской области, в возрасте от 1 года до 12 лет, планово госпитализированных в оториноларингологическое отделение Морозовской ДГКБ в 2016 и в 2017 гг. с диагнозами «Гипертрофия аденоидов» (86 детей) и «Гипертрофия аденоидов и небных миндалин» (26 детей) для хирургического лечения. В 2016 г. обследовано 50 детей, в 2017 г. — 62 ребенка. Всем пациентам в предоперационном периоде было рекомендовано в течение 7 дней до госпитализации проводить орошение рото- и носоглотки коммерческими растворами антибиотиков и антисептиков (Фрамицетин; Дексаметазон + Неомицин + Полимиксин В + Фенилэфрин; Бензилдиметилмиристоиламино-пропиламмоний).

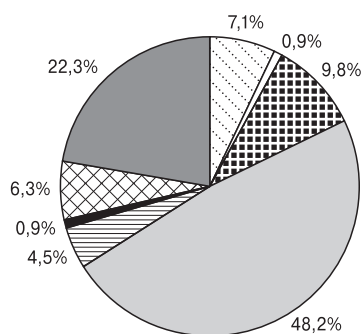
Методика получения биоптатов. Под наркозом после интубации трахеи в полость рта вводили роторасширитель и поднимали мягкое небо при помощи стерильных катетеров, проведенных через полость носа. Аспирировали слизь из полости носа и носоглотки. Конхотомом из средней части гипертрофированной лимфоидной ткани носоглотки получали два образца (один — для гистологического исследования, второй — для проведения настоящего исследования), затем приступали к стандартной аденотомии при помощи микродебридера. Биопсийные образцы немедленно замораживали при температуре -20°C и хранили до исследования не более двух недель. При гистологическом исследовании биоптатов аденоидов клеточной атипии не было выявлено ни в одном случае.

Экстракция ДНК. К каждому образцу массой приблизительно 200 мг добавляли по 200 мкл стерильного охлажденного до $+4^{\circ}\text{C}$ физиологического раствора и стерильный шарик из нержавеющей стали диаметром 7 мм. Пробирки с образцами и шариками помещали в лабораторный гомогенизатор «TissueLyser LT» (Qiagen, Германия). Гомогенизацию проводили в течение 5 мин, режим — 30 встряхиваний в секунду. Экстракцию ДНК из образцов проводили с помощью набора реагентов для выделения общей ДНК «QIAamp DNA Mini Kit (50)» (Qiagen, Германия), согласно инструкции. Очищенную ДНК хранили при температуре -20°C .

ПЦР. Обнаружение ДНК *N. meningitidis*, *H. influenzae* и *S. pneumoniae* в клиническом материале проводили методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с помощью набора реагентов «АмплиСенс *N. meningitidis*/*H. influenzae*/*S. pneumoniae*-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции к набору. Для подтвержде-

Таблица 1. Частота встречаемости ДНК *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes* в биоптатах аденоидовTable 1. The frequency of occurrence of DNA of *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. pyogenes* in adenoid biopsies

Год и количество обследованных детей Year and number of children examined	2016 г. N = 50		2017 г. N = 62		2016–2017 гг. N = 112	
	Количество Number	%	Количество Number	%	Количество Number	%
ДНК бактерий DNA of bacteria						
Не выявлено Not detected	5	10,0	3	4,8	8	7,14
<i>N. meningitidis</i>	1	2	0	–	1	0,9
<i>S. pneumoniae</i>	45	90	53	85	98	87,5
<i>H. influenzae</i>	4	8	15	24	19	16,96
<i>S. pyogenes</i>	16	32	26	42	42	37,5



- ДНК искомым микроорганизмам не выявлены
DNA of the desired microorganisms was not detected
- ДНК *N. meningitidis* и *S. pneumoniae*
DNA *N. meningitidis* и *S. pneumoniae*
- ДНК *S. pneumoniae* + *H. influenzae* + *S. pyogenes*
DNA *S. pneumoniae* + *H. influenzae* + *S. pyogenes*
- ДНК *S. pneumoniae*
DNA *S. pneumoniae*
- ДНК *S. pyogenes*
DNA *S. pyogenes*
- ДНК *H. influenzae* + *S. pyogenes*
DNA *H. influenzae* + *S. pyogenes*
- ДНК *S. pneumoniae* + *H. influenzae*
DNA *S. pneumoniae* + *H. influenzae*
- ДНК *S. pneumoniae* + *S. pyogenes*
DNA *S. pneumoniae* + *S. pyogenes*

Рисунок. Удельный вес биоптатов аденоидов, содержащих ДНК детектируемых видов бактерий, как по отдельности, так и в комбинации между собой

Figure. The proportion of biopsy specimens of adenoids containing DNA of bacterial species under study, both individually and in combination with each other

ния выявления ДНК менингококка положительный образец был верифицирован с помощью протокола, рекомендованного ВОЗ для обнаружения *N. meningitidis* на основании выявления видового гена *sodC* [18]. Амплификация ДНК и визуализация результатов проводились на приборе «Rotor-Gene Q» (Qiagen, Германия).

Серогруппирование *N. meningitidis* проводили с помощью ПЦР-праймеров для амплификации уникальных консервативных участков генов, кодирующих капсульные полисахариды серогрупп А, В, С, W-135, X, Y [18]. Данный метод позволяет определять генетически детерминированную способность к капсулообразованию, что является немаловажным, так как при носительстве способность к капсулообразованию у менингококков может фенотипически не проявляться [31].

Обнаружение ДНК *S. pyogenes* проводили с помощью набора реагентов Стрептопол-А-РВ (Литех, Россия) согласно инструкции к набору.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с определением стандартной ошибки (m) для экстенсивных показателей, доверительного коэффициента по Стьюденту (t). Достоверным считался результат при величине $t > 2$. Разность результатов считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты молекулярного тестирования биоптатов лимфоаденоидной ткани носоглотки от 112 детей представлены в таблице 1. ДНК хотя бы одного из четырех детектируемых видов микроорганизмов обнаружена в 104 образцах (92,86%), из них: ДНК менингококка — в одном образце (0,9%), пневмококка — в 98 (87,5%), гемофильной палочки — в 19 (16,96%), стрепто-

Таблица 3. Частота встречаемости ДНК *S. pyogenes* в биоптатах аденоидов, полученных от детей возрастом от одного года до 12 лет и от 3 до 8 лет, в зависимости от клинического диагнозаTable 3. The frequency of occurrence of *S. pyogenes* DNA in adenoid biopsy specimens obtained from children aged from one to 12 years and from 3 to 8 years, depending on the clinical diagnosis

Период обследования Examination period	2016–2017 гг. Year of 2016–2017							
Возраст детей Age of children	от одного года до 12 лет from 1 to 12 years				от 3 до 8 лет from 3 to 8 years			
Количество детей Number of children	n = 112				n = 96			
Диагноз Diagnosis	Гипертрофия Hypertrophy							
	аденоидов adenoids n = 86		аденоидов и миндалин adenoids and tonsils n = 26		аденоидов adenoids n = 74		аденоидов и миндалин adenoids and tonsils n = 22	
	Количество Number	%	Количество Number	%	Количество Number	%	Количество Number	%
<i>S. pyogenes</i>	30	34,9%	12	46,1%	25	33,8%	11	50,0%

Обсуждение

Поводом к проведению данной работы послужила необходимость поиска оптимальной методологии для уточнения роли бактерионосителей *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *S. pyogenes* в эпидемическом процессе. Нами проведена оценка уровня носительства микроорганизмов, которые при определенных условиях могут вызывать заболевания с широким спектром клинических проявлений, в том числе, тяжелую инвазивную патологию. Об уровне носительства судили косвенно, по числу образцов клинического материала, в которых с помощью коммерческих наборов для ПЦР выявляли ДНК искомым бактерий. Само по себе обнаружение микробной ДНК не всегда свидетельствует о присутствии соответствующих бактерий в образце, так как ДНК может сохраняться в тканях и после элиминации живых особей под воздействием антимикробных препаратов или защитных механизмов организма хозяина. Поэтому ПЦР не позволяет со 100%-й вероятностью подтверждать носительство в момент обследования пациента, а также судить о его длительности. Положительные результаты ПЦР свидетельствуют только о том, что пациент являлся бактерионосителем либо на момент обследования, либо в течение какого-то времени до начала обследования.

В качестве исследуемого материала было решено использовать биоптаты аденоидов, полученных от детей, госпитализированных в клинику для плановой аденотомии. Из данных литературы следует, что в тканях гипертрофи-

рованных миндалин могут обнаруживаться множественные воспалительные локусы, в результате чего аденоидные вегетации, даже в отсутствии клинических признаков воспаления, становятся очагом аутоинфекции с возможностью генерализации инфекционного процесса [11].

Особое внимание в данной работе было привлечено к выявлению менингококков, поскольку именно они являются основными возбудителями ГБМ [4, 9]. Мы обнаружили ДНК менингококка лишь в одном из 112 образцов тканей аденоидов, то есть в изученной популяции детей уровень носительства менингококка в тканях аденоидов составил 0,9%. Много это или мало?

Greiner и соавт. [14], проверив с помощью ПЦР биоптаты аденоидов двух групп обследуемых — 26 человек от 2 до 36 лет из Оксфорда и 72 человек от 3 до 15 лет, проживавших в Цюрихе, обнаружили ДНК менингококка в первой группе в 53,8% случаев, во второй группе обследуемых ее не обнаружили вообще. Разброс полученных результатов оказался очень значительным. Для сравнения, по данным микробиологических и ПЦР-исследований материала из носоглотки, полученного от лиц разного возраста и проживающих в различных странах, уровень носительства менингококка также широко варьировал — от 1,3 до 36% [3, 11, 32]. Высокая вариабельность показателя распространенности носительства менингококка может быть связана с множеством факторов: используемым методом детекции, возрастом обследуемых, местом и временем года, в которое проводилось исследование, эпидемиологической ситуаци-

ей в регионе, составом изучаемых коллективов (здоровые добровольцы, призывники, паломники, дети после антибиотикотерапии при подготовке к плановой операции и т.д.). Таким образом, установленный нами уровень носительства менингококка (0,9%) вполне укладывается в общую статистику.

Существует мнение, что уровень менингококкового носительства коррелирует с частотой встречаемости генерализованных форм менингококковой инфекции в популяции [3, 22]. Исходя из результатов нашего исследования, уровень бактерионосительства соответствует межэпидемическому периоду менингококковой инфекции, наблюдаемому в г. Москве с 1991 г. Согласно данным Роспотребнадзора, в Москве показатели заболеваемости генерализованными формами менингококковой инфекции среди детей до 14 лет были низкими и составляли: в 2016 г. — 1,45, в 2017 г. — 1,7 на 100 тыс. детского населения (Форма Федерального статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»). При этом выявленный менингококк не принадлежал ни к одной из серогрупп (А, В, С, W135), определяющих заболеваемость генерализованными формами менингококковой инфекции в г. Москве [6].

Отдельного обсуждения заслуживает вопрос о патогенетической связи «здорового» носительства возбудителей ГБМ в носоглотке и генерализацией инфекционного процесса. В настоящее время общепринятой является теория гематогенного пути диссеминации возбудителя с последующим инфицированием мозговых оболочек. Однако в 2010 г. Sjolinder и Jonsson показали в эксперименте на трансгенных мышах, экспрессирующих один из рецепторов адгезии менингококка — человеческий белок CD46, что возбудитель способен попадать в оболочки мозга со слизистой оболочки носа по обонятельным нервам. Авторы подтверждают свое заключение на основании анализа клинически и бактериологически установленных случаев менингита без признаков бактериемии [27].

Немаловажно, что феномен проникновения в спинномозговую жидкость по обонятельным нервам выявлен и для пневмококка, а также для ряда вирусов [21]. В связи с этим настораживает высокий удельный вес носительства пневмококка (87,5%), установленный в нашем исследовании.

S. pneumoniae в настоящее время является одним из основных бактериальных патогенов человека. Среди детей в возрасте до 5 лет ежегодно в мире регистрируется около 15 млн случаев тяжелых пневмококковых заболеваний (включая пневмонию, менингит и сепсис), приводящих к летальному исходу приблизительно

в 500 тыс. случаев [23]. Известно, что в возникновении инвазивных форм пневмококковой инфекции наиболее существенное значение имеют 20 из 96 известных серотипов пневмококков [1]. В данной работе серотипирования пневмококков не проводилось. Однако предыдущие исследования, проведенные с нашим участием, показали, что большинство серотипов штаммов *S. pneumoniae* от носителей (90%) относятся к вирулентным, входящим в состав 13-валентной пневмококковой вакцины [10]. Следовательно, носители пневмококков являются резервуаром возбудителя и могут представлять опасность как для окружающих, так и для самих себя, с точки зрения развития аутоинфекции.

Бактериологическое исследование носоглоточной слизи показало, что около половины детей (как организованных, так и не организованных) являются носителями пневмококков [2]. Русецким Ю.Ю. и соавт. [11] с помощью бактериологического метода установлено, что при посеве слизи из носоглотки показатели микробной обсемененности оказываются достоверно ниже, чем при исследовании биоптатов аденоидной ткани. Это свидетельствует о возможной недооценке уровня бактериальной контаминации в случае применения традиционных методов обследования пациентов (мазок из носоглотки). При этом пневмококк являлся доминирующим видом в составе микрофлоры биоптатов аденоидов. Эти данные согласуются с результатами и нашей работы. Однако в нашем ПЦР-исследовании пневмококк выявлялся в ткани аденоидов у детей в 1,4 раза чаще, чем в работе Русецкого Ю.Ю. и соавт. [11].

Следует остановиться и на обнаруженной нами тенденции преобладания *S. pyogenes* в биоптатах аденоидов у детей с диагнозом «Гипертрофия аденоидов и миндалин» по сравнению с диагнозом «Гипертрофия аденоидов» (50,0% против 33,8%, $p > 0,05$). Судя по данным Ramirez и соавт. [24] и Lindroos [20], случаи сочетанной гипертрофии аденоидов и небных миндалин указывают на наличие у детей хронического рецидивирующего воспаления в рото- и носоглотке, в этиологии которого наибольшее значение имеют стрептококки группы А. Изолированная гипертрофия аденоидов чаще протекает без клинических признаков воспаления, с чем, по-видимому, и связана меньшая частота выделяемости *S. pyogenes*. Следует также отметить, что Ramirez и соавт. [24] обнаружили *S. pyogenes* в биоптатах аденоидной ткани в 2 раза чаще, чем в мазках из носоглотки.

Таким образом, нами подтверждена высокая информативность использования биоптатов аденоидов и ПЦР для изучения уровня носительства менингококка, пневмококка, ге-

мофильной палочки и стрептококка группы А. Данная методика позволяет с наибольшей полнотой выявлять в клиническом материале персистирующие микроорганизмы, в том числе, некультивируемые. В конечном итоге предложенный подход будет способствовать более точному определению уровня носительства изучаемых микроорганизмов и установлению момента его повышения. Исследование будет продолжено с увеличением количества обследуемых пациентов и расширения методических приемов.

В настоящем исследовании все случаи детекции менингококка и гемофильной палочки были связаны с одновременным выявлением пневмококка. Стрептококки группы А также в большинстве случаев обнаруживались вместе с пневмококками. На основании этих наблюдений можно выдвинуть предположение об отсутствии антагонизма между изучаемыми микроорганизмами. В то же время имеются данные о существовании естественного антагонизма между представителями нор-

мальной микробиоты и потенциально патогенными микроорганизмами (патобионтами) [19]. Носительство патобионтов можно расценивать как дисбиоз, развивающийся на фоне нарушения колонизационной резистентности. Следовательно, применение антибиотиков с целью санации бактерионосителей лишь усугубляет дисбиоз, а также способствует формированию лекарственной устойчивости патобионтов [7, 8, 12]. Восстановление состава микробиоты носоглотки с помощью пробиотиков, то есть резидентных бактерий, обитающих на слизистых оболочках человека в норме, позволит проводить элиминацию патобионтов «экологически щадящим» способом [16, 17]. Повысить терапевтическую эффективность пробиотиков возможно, к примеру, с помощью выращивания их в виде биопленок [30], а также — при использовании аутопробиотиков [28]. Такие подходы планируется применить в наших дальнейших исследованиях по санации носителей патобионтов, обитающих на слизистой оболочке носоглотки.

Список литературы/References

1. Баранов А., Брико Н., Намазова-Баранова Л., Ряпис Л. Стрептококки и пневмококки. Ростов-на-Дону: Феникс, 2013. 301 с. [Baranov A., Briko N., Namazova-Baranova L., Ryapis L. Streptococci and Pneumococci. *Rostov-on-Don: Foenix, 2013. 301 p. (In Russ.)*]
2. Бахарева Н.В., Протасова И.Н., Перьянова О.В., Кукушкина И.П., Мемнонова С.В., Коваль М.В. Бактерионосительство пневмококков среди детей города Красноярска // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012. № 4. С. 73–77. [Bakhareva N.V., Protasova I.N., Peryanova O.V., Kukushkina I.P., Memnonova S.V., Koval' M.V. Streptococcus pneumoniae carriage in children of Krasnoyarsk city. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinoprophylaxis, 2012, no. 4, pp. 73–77. (In Russ.)*]
3. Королева И.С., Максина Т.А., Закроева И.М., Лыткина И.Н., Пяева А.П., Маликов В.Е., Соловьева Л.Я. Критерии значимости менингококкового носительства в очагах менингококковой инфекции // Медицинский алфавит. 2013. Т. 4, № 24. С. 31–33. [Koroleva I.S., Maksina T.A., Zakroeva I.M., Lytkina I.N., Pyaeva A.P., Malikov V.E., Solovieva L.A. Criteria for the importance of meningococcal carriage in meningococcal foci infections. *Meditinskiy Alfavit = Medical Alphabet, 2013, vol. 4, no. 24, pp. 31–33. (In Russ.)*]
4. Королева М.А., Покровский В.И., Миронов К.О., Платонов А.Е., Шипулин Г.А., Белошицкий Г.В., Закроева И.М., Мельникова А.А., Кошкина Н.А., Королева И.С. Эпидемиологический мониторинг за гнойными бактериальными менингитами в историческом и современных аспектах // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2014. № 2. С. 73–79. [Koroleva M.A., Pokrovsky V.I., Mironov K.O., Platonov A.E., Shipulin G.A., Beloshitsky G.V., Zakroeva I.M., Melnikova A.A., Koshkina N.A., Koroleva I.S. Epidemiological monitoring of purulent bacterial meningitides: historical and present-day aspects. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues, 2014, no. 2, pp. 73–79. (In Russ.)*]
5. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. От безвредного носительства к гнойному бактериальному менингиту // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2013. № 2. С. 46–52. [Kostykova N.N., Bekhalo V.A. From the carriage to purulent meningitis. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues, 2013, no. 2, pp. 46–52. (In Russ.)*]
6. Миронов К.О. Клональные комплексы Neisseria meningitidis, циркулирующие на территории России, и их роль в эпидемическом процессе менингококковой инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2016. № 6. С. 52–61. [Mironov K.O. Clonal complex of Neisseria meningitidis, circulating in the regions of Russia and their role in epidemic process of meningococcal infection. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues, 2016, no. 6, pp. 52–61. (In Russ.)*]
7. Мулюкин А.Л., Сузина Н.Е., Мельников В.Г., Гальченко В.Ф., Эль-Регистан Г.И. Состояние покоя и фенотипическая вариабельность у Staphylococcus aureus и Corynebacterium pseudodiphtheriticum // Микробиология. 2014. Т. 83, № 1. С. 15–27. [Muliukin A.L., Suzina N.E., Mel'nikov V.G., Gal'chenko V.F. Dormant state and phenotypic variability of Staphylococcus aureus and Corynebacterium pseudodiphtheriticum. *Mikrobiologiya = Microbiology, vol. 83, no. 1, pp. 15–27. (In Russ.)*]
8. Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. Антибиотикорезистентность в современном мире // Педиатрическая фармакология. 2017. Т. 14, № 5. С. 341–354. [Namazova-Baranova L.S., Baranov A.A. Antibiotic resistance in modern world. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology, 2017, vol. 14, no. 5, pp. 341–354. doi: 10.15690/pf.v14i5.1782 (In Russ.)*]

9. Покровский В.И., Фаворова Л.А., Костюкова Н.Н. Менингококковая инфекция. М.: Медицина, 1976. 272 с. [Pokrovskiy V.I., Favorova L.A., Kostyukova N.N. Meningococcal infection. Moscow: Medicine, 1976. 272 p. (In Russ.)]
10. Протасова И.Н., Перьянова О.В., Бахарева Н.В., Салмина А.Б., Рева И.В., Такано Т., Ивао Я., Ямамото Т., Сидоренко С.В., Мельников В.Г. Чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей города Красноярск // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014. Т. 16, № 2. С. 144–148. [Protasova I.N., Peryanova O.V., Bakhareva N.V., Salmina A.B., Reva I.V., Takano T., Ivaoy Y., Yamamoto T., Sidorenko S.V., Melnikov V.G. Antimicrobial susceptibility of pediatric Streptococcus pneumoniae isolates in Krasnoyarsk. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2014, vol. 16, no. 2, pp. 144–148. (In Russ.)]
11. Русецкий Ю.Ю., Седых Т.К., Чернышенко И.О., Смирнова В.А. Сравнительное бактериологическое исследование микрофлоры поверхности и биоптатов миндалин у детей с патологией лимфоаденоидного глоточного кольца // Педиатрия. 2012. Т. 91, № 2. С. 52–56. [Rusetskiy Yu.Yu., Sedykh T.K., Chernyshenko I.O., Smirnova V.A. Comparative bacteriological study of surface microflora and tonsil biopsies in children with lymphadenoid pharyngeal ring pathology. *Pediatrya = Russian Pediatrics*, 2012, vol. 91, no. 2, pp. 52–56. (In Russ.)]
12. Чагина И.А., Борисова О.Ю., Мельников В.Г., Ивашинникова Г.А., Пименова А.С., Донских Е.Е., Кафарская Л.И., Алешкин В.А. Чувствительность штаммов *Corynebacterium diphtheriae* к антибактериальным препаратам // Журнал эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. 2014. № 4. С. 8–13. [Chagina I.A., Borisova O.Iu., Mel'nikov V.G., Ivashinnikova G.A., Pimenova A.S., Donskikh E.E., Kafarskaia L.I., Aleshkin V.A. Sensitivity of *Corynebacterium diphtheriae* strains to antibacterial preparations. *Zhurnal Mikrobiologii i Immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, no. 4, pp. 8–13. (In Russ.)]
13. Blanchette-Cain K., Hinojosa C.A., Akula Suresh Babu R., Lizcano A., Gonzalez-Juarbe N., Munoz-Almagro C., Sanchez C.J., Bergman M.A., Orihuela C.J. Streptococcus pneumoniae biofilm formation is strain dependent, multifactorial, and associated with reduced invasiveness and immunoreactivity during colonization. *mBio*, 2013, vol. 4, no. 5: e00745-13. doi: 10.1128/mBio.00745-13
14. Greiner O., Berger C., Day P.J.R., Meier G., Tang C.M., Nadal D. Rates of detection of Neisseria meningitidis in tonsils differ in relation to local incidence of invasive disease. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, vol. 40, no. 11, pp. 3917–3921. doi: 10.1128/JCM.40.11.3917-3921.2002
15. Johnston J.J., Douglas R. Adenotonsillar microbiome: an update. *Postgrad. Med. J.*, 2018, vol. 94, no. 1113, pp. 398–403. doi: 10.1136/postgradmedj-2018-135602
16. Kanmani P., Clua P., Vizoso Pinto M.G., Rodriguez C., Salva S., Alvarez S., Melnikov V., Kitazawa H., Villena J. Respiratory commensal bacteria *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* improves resistance of infant mice to respiratory syncytial virus and Streptococcus pneumoniae superinfection. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8: 1613. doi: 10.3389/fmicb.2017.01613
17. Kiryukhina N.V., Melnikov V.G., Suvorov A.V., Morozova Yu.A., Ilyin V.K. Use of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* for elimination of Staphylococcus aureus from the nasal cavity in volunteers exposed to abnormal microclimate and altered gaseous environment. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 2013, vol. 5, no. 4, pp. 233–238. doi: 10.1007/s12602-013-9147-x
18. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by N. meningitidis, H. influenzae and S. pneumoniae. WHO Manual, 2nd ed. WHO/IVB.11.09, 2011.
19. Krismser B., Weidenmaier C., Zipperer A., Peschel A. The commensal lifestyle of Staphylococcus aureus and its interactions with the nasal microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2017, vol. 15, no. 11, pp. 675–687. doi: 10.1038/nrmicro.2017.104
20. Lindroos R. Bacteriology of the tonsil core in recurrent tonsillitis and tonsillar hyperplasia — a short review. *Acta Otolaryngol.*, 2000, suppl. 543, pp. 206–208.
21. Mori J., Nishiyama Y., Yokoshi N., Kimuri Y. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J. Neurovirol.*, 2005, vol. 11, pp. 129–137.
22. Neal K.R., Nguyen-Van-Tam J.S., Jeffrey N., Slack R.C., Madeley R.J., Ait-Tahar K., Job K., Wale M.C., Ala'Aldeen D.A. Changing carriage rate of Neisseria meningitidis among university students during the first week of term: cross sectional study. *BMJ*, 2000, vol. 320, no. 7238, pp. 846–849.
23. O'Brien K.L., Wolfson L.J., Watt J.P., Henkle E., Deloria-Knoll M., McCall N., Lee E., Mulholland K., Levine O.S., Cherian T., Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*, 2009, vol. 374, pp. 893–902. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61204-6
24. Ramirez A., Peidrola D., Lopez A., Martinez M.D., Ros M.J., Corral J.L., Arteaga E. Beta-hemolytic streptococci in tonsil hypertrophy and recurrent tonsillitis. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 1997, vol. 15, no. 6, pp. 315–318.
25. Rizek C.F., Luiz A.M., Assis G.R., Costa S.F., Levin A.S., Lopez M.H. Comparison of methods to identify Neisseria meningitidis in asymptomatic carriers. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 2016, vol. 58, no. 121112: 60.
26. Sim R.J., Harrison M.M., Moxon E.R., Tang C.M. Underestimation of meningococci in tonsillar tissue by nasopharyngeal swabbing. *Lancet*, 2000, vol. 356, pp. 1653–1654.
27. Sjolinder H., Jonsson A.B. Olfactory nerve — a novel invasion route of Neisseria meningitidis to reach the meninges. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 11: e14034. doi: 10.1371/journal.pone.0014034
28. Suvorov A., Karaseva A., Kotyleva M., Kondratenko Y., Lavrenova N., Korobeynikov A., Kozyrev P., Kramskaya T., Leontieva G., Kudryavtsev I., Guo D., Lapidus A. and Ermolenko E. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9: 1869.
29. Tan S.Y., Chew S.C., Tan S.Y., Givskov M., Yang L. Emerging frontiers in detection and control of bacterial biofilms. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2014, vol. 26, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.copbio.2013.08.002
30. Villena J., Laino J., Suvorov A., Melnikov V.G., Alvarez S. Immunobiotic and recombinant lactic acid bacteria: soldiers in the fight against Streptococcus pneumoniae. *Recent Trends Immunol.*, 2015, 30 p. URL: <https://smjournals.com/ebooks/recent-trends-in-immunology/chapters/RTI-15-03.pdf>

31. Weber M.V., Claus H., Maiden M.C., Frosch M., Vogel U. Genetic mechanisms for loss of encapsulation in polysialyltransferase-genes-positive meningococci isolated from healthy carriers. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2006, vol. 296, no. 7, pp. 475–484.
32. Wilder-Smith A., Paton N.I., Barkham T.M., Earnest A. Meningococcal carriage in Umra pilgrims returning from Saudi Arabia. *J. Travel Med.*, 2003, vol. 10, no. 3, pp. 147–149.

Авторы:

Комбарова С.Ю., д.б.н., зам. директора по научной работе, руководитель лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Бичучер А.М., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Солдатский Ю.Л., д.м.н., профессор, зав. оториноларингологическим отделением ГБУЗ «Морозовская ДГКБ Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия;

Юнусова Р.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Скирда Т.А., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Мартыненко И.Г., научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Головина Л.И., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Эдгем С.Р., к.м.н., врач-оториноларинголог ГБУЗ Морозовская ДГКБ Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

Северин Т.В., врач-оториноларинголог ГБУЗ Морозовская ДГКБ Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

Мельников В.Г., к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия.

Authors:

Kombarova S.Yu., PhD, MD (Biology), Deputy Director on Science, Head of Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Bichucher A.M., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Soldatsky Yu.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Department of Otorhinolaryngology of Morozovskaya Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation;

Yunusova R.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Skirda T.A., PhD (Medicine), Principal Investigator, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Martynenko I.G., Researcher, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Golovina L.I., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Edgem S.R., PhD (Medicine), Otorhinolaryngologist, Morozovskaya Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation;

Severin T.V., Otorhinolaryngologist, Morozovskaya Children's City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation;

Melnikov V.G., PhD (Medicine), Principal Investigator, Laboratory of Coccoid Infections of G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.