

# Три фактора успешной интерпретации ПЦР при внебольничной пневмонии у детей: выбор образца, пороговый цикл и биомаркеры

Медведева Л.С., Царькова С.А.

Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3)

## Резюме

**Введение.** Внебольничная пневмония (ВП) сохраняет лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности детского населения. Внедрение методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) расширило диагностические возможности, однако актуализировало вопросы выбора респираторного образца и интерпретации результатов с учетом пороговых циклов (Ct) и бессимптомной колонизации.

**Цель.** Систематизировать современные данные о диагностической ценности различных респираторных образцов при ПЦР-диагностике ВП у детей, определить границы применимости пороговых циклов для дифференциации инфекции и колонизации, а также обосновать необходимость интеграции молекулярных методов с биомаркерами.

**Методы.** Проведен систематический поиск литературы в базах PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, Cochrane Library и eLibrary (2000–2026 гг.). Всего отображено 83 исследования для итогового анализа.

**Результаты.** Идентифицированы три ключевых фактора успешной интерпретации ПЦР-диагностики: выбор образца, интерпретация Ct и интеграция с биомаркерами. Показано, что диагностическая ценность назофарингеальных (НФ) мазков для верификации пневмококковой этиологии ВП стремится к нулю вследствие высокой частоты колонизации (40–60%), что делает стерильные локусы

единственным надежным источником. В противоположность этому для *Mycoplasma pneumoniae* оптимальными являются орофарингеальные мазки (чувствительность 96,2%), а слюна демонстрирует сопоставимые результаты. Для Российской Федерации критически важно выявление 36–41% макролид-резистентных штаммов *M. pneumoniae* с региональными различиями; 62% случаев сопровождаются вирусной коинфекцией (парагрипп 28%, SARS-CoV-2 19%, РСВ 12%). Порог Ct < 25 при микоплазменной инфекции служит независимым предиктором тяжелого течения и требует госпитализации. Для респираторно-синцитиального вируса (РСВ) порог Ct < 25 ассоциирован с тяжелым течением (скорректированное отношение шансов, aOR 2,26), для метапневмовируса человека (hMPV) – Ct < 27 (aOR 4,32). Прокальцитонин-ориентированные протоколы позволяют сократить необоснованное назначение антибиотиков, однако гетерогенность педиатрических данных диктует необходимость применения мультимаркерных подходов, включающих гепарин-связывающий белок (НВР), чувствительность которого составляет 82%, специфичность 86%, а комбинация с прокальцитонином повышает площадь под кривой (AUC) до 0,94.

**Заключение.** Успех ПЦР-диагностики ВП у детей определяется тремя факторами: правильным выбором образца, корректной интерпретацией Ct и интеграцией с биомаркерами.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, дети, педиатрия, ПЦР-диагностика, респираторные образцы, орофарингеальные мазки, пороговый цикл, прокальцитонин, колонизация, биомаркеры.

**Для цитирования:** Медведева Л.С., Царькова С.А. Три фактора успешной интерпретации ПЦР при внебольничной пневмонии у детей: выбор образца, пороговый цикл и биомаркеры. *Архив педиатрии и детской хирургии*. 2026; 4 (1): 85–101. DOI: 10.66825/2949-4664-apps-4-1-85-101.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

✉ Медведева Лидия Сергеевна, ординатор кафедры поликлинической педиатрии Уральского государственного медицинского университета; e-mail: [lidia.medvedeva@yandex.ru](mailto:lidia.medvedeva@yandex.ru).

Царькова Софья Анатольевна, д.м.н., заведующая кафедрой поликлинической педиатрии Уральского государственного медицинского университета; e-mail: [tsarkova\\_ugma@bk.ru](mailto:tsarkova_ugma@bk.ru); <http://orcid.org/0000-0003-4588-5909>.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Внешнее финансирование не привлекалось.

✉ Lidia S. Medvedeva, Resident in Pediatrics of Department of Outpatient Pediatrics of Ural State Medical University; e-mail: [lidia.medvedeva@yandex.ru](mailto:lidia.medvedeva@yandex.ru).

Sofia A. Tsarkova, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Outpatient Pediatrics of Ural State Medical University, e-mail: [tsarkova\\_ugma@bk.ru](mailto:tsarkova_ugma@bk.ru); <http://orcid.org/0000-0003-4588-5909>.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.  
**Funding.** No external funding was received.

# Three factors for successful interpretation of PCR in community-acquired pneumonia in children: specimen selection, cycle threshold, and biomarkers

L.S. Medvedeva, S.A. Tsarkova

Ural State Medical University (3 Repina str., Yekaterinburg, Russia, 620028)

## Abstract

**Introduction.** Community-acquired pneumonia (CAP) maintains a leading position in the morbidity and mortality structure of the pediatric population. The introduction of polymerase chain reaction (PCR) methods has expanded diagnostic capabilities; however, it has also brought to the forefront issues regarding the choice of respiratory specimen and the interpretation of results, considering cycle threshold (Ct) values and asymptomatic colonization.

**Objective.** To systematize current data on the diagnostic value of various respiratory specimens in PCR diagnostics of CAP in children, to define the applicability limits of cycle thresholds for differentiating infection from colonization, and to justify the necessity of integrating molecular methods with biomarkers.

**Methods.** A systematic literature search was conducted in the PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, Cochrane Library and eLibrary databases (2000–2026). A total of 83 studies were selected for the final analysis.

**Results.** Three key factors for the successful interpretation of PCR diagnostics were identified: specimen selection, Ct interpretation, and integration with biomarkers. It is shown that the diagnostic value of nasopharyngeal (NP) swabs for verifying pneumococcal

etiology of CAP approaches zero due to the high frequency of colonization (40–60%), making sterile loci the only reliable source. In contrast, for *Mycoplasma pneumoniae*, oropharyngeal swabs are optimal (sensitivity 96.2%), while saliva demonstrates comparable results. Critically important for the Russian Federation is the identification of 36–41% macrolide-resistant *M. pneumoniae* strains with regional variations; 62% of cases are accompanied by viral coinfection (parainfluenza 28%, SARS-CoV-2 19%, RSV 12%). A Ct value < 25 in *Mycoplasma* infection serves as an independent predictor of severe disease and necessitates hospitalization. For respiratory syncytial virus (RSV), Ct < 25 is associated with severe disease (adjusted odds ratio, aOR 2.26); for human metapneumovirus (hMPV), Ct < 27 (aOR 4.32). Procalcitonin-guided protocols can reduce inappropriate antibiotic prescriptions; however, the heterogeneity of pediatric data dictates the need for multi-marker approaches, including heparin-binding protein (HBP), with sensitivity 82%, specificity 86%, and its combination with procalcitonin increasing the area under the curve (AUC) to 0.94.

**Conclusion.** The success of PCR diagnostics for CAP in children is determined by three factors: appropriate specimen selection, correct interpretation of Ct values, and integration with biomarkers.

**Keywords:** community-acquired pneumonia, children, pediatrics, PCR diagnostics, respiratory samples, oropharyngeal swabs, cycle threshold, procalcitonin, colonization, biomarkers.

**For citation:** L.S. Medvedeva, S.A. Tsarkova. Three factors for successful interpretation of PCR in community-acquired pneumonia in children: specimen selection, cycle threshold, and biomarkers. *Archives of Pediatrics and Pediatric Surgery*. 2026; 4 (1): 85–101. DOI: 10.66825/2949-4664-apps-4-1-85-101.

## Введение

Внебольничная пневмония (ВП) сохраняет лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности детского населения. Согласно глобальному анализу, ежегодно регистрируется около 120 миллионов эпизодов пневмонии у детей младше 5 лет, причем 14% из них протекают в тяжелой форме [1]. Пневмония является ведущей инфекционной причиной смерти в этой возрастной группе, обуславливая 14% всех летальных исходов [2]. Несмотря на успехи вакцинации, заболеваемость ВП остается высокой, особенно среди детей раннего возраста, что требует постоянного совершенствования диагностических подходов [3, 4].

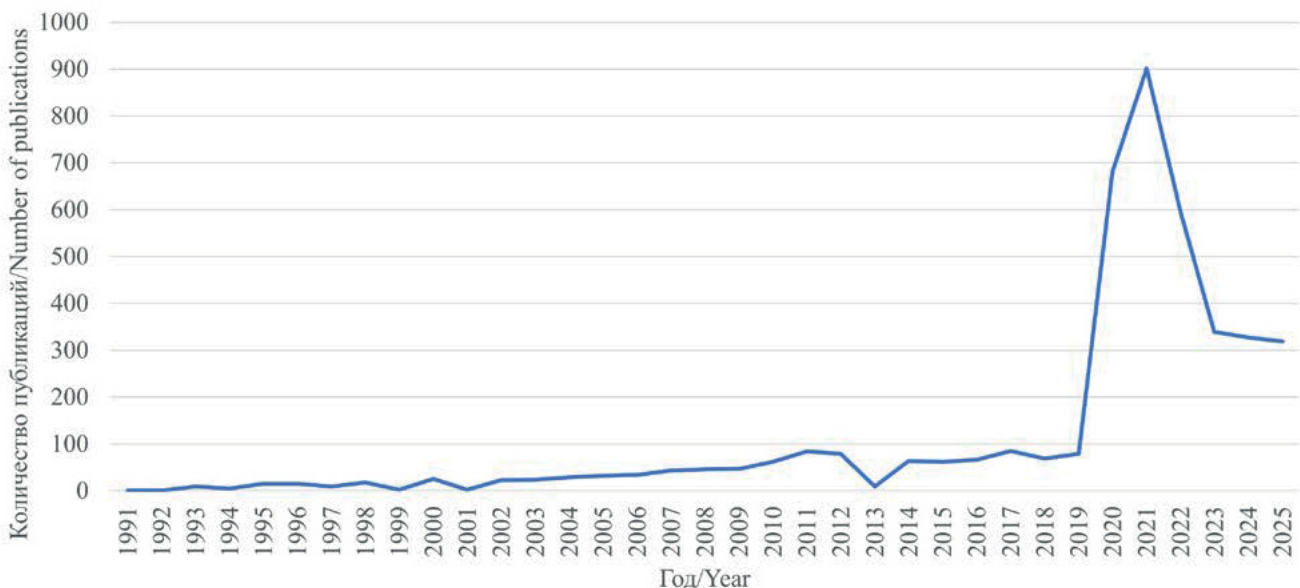
Анализ публикационной активности в базе данных PubMed за период 1991–2025 гг. демонстрирует гетерогенную динамику научного интереса к проблеме ПЦР-диагностики внебольничных пневмоний у детей (рис.). На протяжении первого этапа (1991–2019 гг.) наблюдался поступательный рост числа публикаций с 5 до 100 в год, что отражает закономерный процесс внедрения метода полимеразной цепной реакции в педиатрическую практику: от разработки диагностических протоколов для ключевых бактериальных возбудителей (*S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*) до накопления данных о клинической значимости метода.

Принципиальное изменение тренда зафиксировано в 2020–2022 гг., когда количество работ достигло аномального пика в 900 публикаций (2021 г.). Данный всплеск обусловлен экзогенным фактором – пандемией COVID-19, в ходе которой ПЦР-диагностика SARS-CoV-2 как этиологического агента ВП временно доминировала в научной повестке, создав эффект «наложения» тематик. Завершающий этап

(2023–2025 гг.) характеризуется резким спадом до 325 публикаций, что связано с окончанием острой фазы пандемии и возвращением исследовательского фокуса к традиционным возбудителям. Важно отметить, что итоговый уровень публикационной активности 2025 г. более чем втрое превышает допандемические значения, что свидетельствует о долгосрочном позитивном эффекте пандемии: ускорении технического переоснащения лабораторий, расширении диагностических панелей и окончательном закреплении ПЦР в качестве рутинного метода этиологической диагностики ВП у детей.

В глобальном масштабе этиологическая диагностика ВП остается сложной задачей. В странах с ограниченными ресурсами микробиологические методы остаются основой диагностики, а полимеразная цепная реакция (ПЦР) используется лишь в 53,1% случаев [5]. Широкое внедрение методов ПЦР в развитых странах позволило увеличить частоту идентификации возбудителей до 60–80% [6]. Современные исследования демонстрируют, что внедрение таргетных ПЦР-тестов для анализа плевральной жидкости способно увеличить выявляемость патогенов с 71,0 до 83,2% ( $p = 0,023$ ) и сократить время до назначения оптимальной терапии с 3,2 до 1,8 дня ( $p < 0,001$ ) [7].

При всех своих преимуществах широкое внедрение молекулярных методов породило фундаментальную проблему: положительный результат ПЦР из нестерильного локуса не позволяет дифференцировать активную инфекцию от бессимптомного носительства или персистенции нуклеиновых кислот после перенесенного заболевания. Ситуация усугубляется трансформацией этиологической структуры ВП в последние десятилетия. Снижение доли



**Рисунок.** Динамика количества публикаций по теме «ПЦР-диагностика внебольничных пневмоний у детей» (предположительные данные, основанные на анализе публикационной активности в базе PubMed)

**Figure.** Dynamics of the number of publications on the topic of PCR diagnosis of community-acquired pneumonia in children (hypothetical data based on the analysis of publication activity in the PubMed database)

вакциноуправляемых инфекций сопровождается ростом значимости респираторных вирусов и атипичных возбудителей, прежде всего *Mycoplasma pneumoniae* [8]. После отмены ограничительных мер, связанных с пандемией COVID-19, вызванной SARS-CoV-2, отмечен глобальный рост заболеваемости микоплазменной инфекцией [9]. Обновленные российские клинические рекомендации 2025 г. также фиксируют рост заболеваемости ВП у детей в 1,7 раза в 2024 г., связывая его с циклическим подъемом *M. pneumoniae* [10].

Таким образом, выделены три ключевых вопроса, определяющих структуру настоящего обзора: какой образец выбрать для минимизации влияния колонизации; как интерпретировать количественные показатели ПЦР; какие дополнительные методы позволяют повысить точность этиологической диагностики.

**Цель настоящего обзора** – систематизировать современные данные о диагностической ценности различных респираторных образцов при ПЦР-диагностике ВП у детей, определить границы применимости пороговых циклов для дифференциации инфекции и колонизации, а также обосновать необходимость интеграции молекулярных методов с биомаркерами.

### Материалы и методы

Проведен систематический поиск литературы в электронных базах данных PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, Cochrane Library и eLibrary за период с 2000 по март 2026 г. Поиск включал комбинации ключевых слов: community-acquired pneumonia, children, pediatric, PCR, respiratory samples, oropharyngeal swab, nasopharyngeal swab, bronchoalveolar lavage, induced sputum, spontaneous sputum, aspiration, cycle threshold, Ct value, colonization, procalcitonin, biomarkers, transcriptomics, NGS, microbiome, multiplex PCR, point-of-care.

Критерии включения: оригинальные исследования (когортные, случай – контроль, поперечные), систематические обзоры с метаанализом, дети в возрасте от 1 месяца до 18 лет с подтвержденным диагнозом ВП, использование методов ПЦР для идентификации респираторных патогенов, наличие сравнения различных типов респираторных образцов или оценка диагностической значимости пороговых циклов.

Критерии исключения: исследования на взрослых, нозокомиальная пневмония, пациенты с документированной иммуносупрессией (за исключением случаев, когда анализ проводился в общей популяции), размер выборки менее 30 пациентов, использование только культуральных или серологических методов без ПЦР.

Для оценки качества отобранных исследований учитывались: четкость формулировки критериев включения, репрезентативность выборки, наличие

контрольной группы, описание методов ПЦР и преаналитического этапа. Метаанализ не проводился ввиду гетерогенности исследований. Всего отобрано 83 исследования для итогового анализа.

### Результаты и обсуждение

#### Первый фактор – выбор респираторного образца

Фундаментальное ограничение ПЦР-диагностики заключается в том, что универсального образца не существует – выбор метода забора материала должен определяться предполагаемым возбудителем и возрастом пациента. Это положение на практике часто игнорируется, что приводит к ложным заключениям и неоправданной терапии.

Спонтанная мокрота – наиболее доступный способ получения материала из нижних дыхательных путей, однако в педиатрической практике его использование возможно лишь у детей старше 7–10 лет, способных выполнить инструкцию по глубокому откашливанию [11]. Согласно МУК 4.2.3115-13 для анализа пригоден только образец с содержанием плоских эпителиальных клеток (ПЭК) менее 10 в поле зрения [12]. Таким образом, у детей младше 7 лет сбор спонтанной мокроты неприменим, что требует использования альтернативных методов получения материала из нижних дыхательных путей.

Для младшей возрастной группы ключевое значение приобретают аспирационные методы. Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) остается референсным методом диагностики инфекций нижних дыхательных путей, однако его инвазивность ограничивает применение тяжелыми случаями [13, 14]. Менее инвазивной альтернативой рассматривается индуцированная мокрота; протокол индукции стандартизирован, а безопасность метода подтверждена даже у младенцев [15–17]. Однако, как показало исследование «Этиология пневмонии у детей для охраны здоровья» (Pneumonia Etiology Research for Child Health, PERCH) с участием 4232 детей, после учета наличия возбудителя в назофарингеальных образцах ни один бактериальный патоген не выявлялся чаще в индуцированной мокроте [13]. Более того, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* выделяются с одинаковой частотой у больных и здоровых [13]. Это наблюдение имеет принципиальное значение, подтверждая, что проблема заключается не в типе образца, а в невозможности при помощи ПЦР на современном этапе надежно дифференцировать инфекцию от бессимптомной колонизации.

Помимо индуцированной мокроты, у детей младшего возраста широко применяют метод назофарингеальной аспирации (НФА). Метод НФА осуществим у детей раннего возраста и требует меньше времени, чем индукция мокроты [18]. Исследования подтверждают его приемлемую диагностическую точность для большинства респираторных

вирусов [18, 19]. Несмотря на инвазивность и необходимость строгого соблюдения техники безопасности, НФА остается методом выбора для вирусологической диагностики у детей раннего возраста [19].

Наибольшие сложности характерны для диагностики типичных бактериальных инфекций, вызванных *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Частота бессимптомного носительства *S. pneumoniae* у детей раннего возраста достигает 40–60% [20, 21]. Максимальные показатели колонизации отмечаются у детей в возрасте 2–4 лет, постепенно снижаясь к школьному возрасту [20, 21]. Пик интереса к количественной ПЦР пришелся на начало 2010-х гг., когда была описана связь высокой бактериальной нагрузки (пороговый цикл  $Ct < 25$ ) с риском развития пневмонии при наличии вирусной коинфекции [22]. Однако последующие исследования с контрольными группами здоровых детей выявили проблему: распределение значений  $Ct$  у пациентов с пневмонией и у здоровых носителей перекрывается, что исключает использование количественной ПЦР для индивидуальной диагностики [23, 24]. Исследование Smyrnaios и соавт. [24] на 715 детях с ВП и 673 здоровых контролях продемонстрировало отсутствие связи между плотностью колонизации *S. pneumoniae* в верхних дыхательных путях и наличием или тяжестью ВП. Аналогичная картина наблюдается для *H. influenzae*: значения  $Ct$  значительно перекрываются у детей с инфекцией и здоровых носителей [25, 26].

Важным фактором, модифицирующим интерпретацию результатов ПЦР, является вакцинальный статус пациента. Внедрение пневмококковых конъюгированных вакцин (ПКВ) привело не только к снижению заболеваемости инвазивными формами инфекции, но и к изменению серотипового пейзажа колонизирующих штаммов. Исследования Kim и соавт. [20] и Bosch и соавт. [21] продемонстрировали, что после введения ПКВ произошло замещение вакцинных серотипов невакцинными, что может влиять на вирулентность и вероятность перехода колонизации в инфекцию. Для *Bordetella pertussis* вакцинация также модифицирует клиническую картину и бактериальную нагрузку: у вакцинированных детей заболевание чаще протекает в атипичной форме с более низкой бактериальной нагрузкой, что необходимо учитывать при интерпретации  $Ct$  [27, 28]. Таким образом, оценка результатов ПЦР должна проводиться с обязательным учетом вакцинального анамнеза пациента.

Представленные данные свидетельствуют о необходимости более строгого и дифференцированного подхода к интерпретации результатов назофарингеальных (НФ) мазков. Учитывая высокую частоту бессимптомной колонизации (40–60%), положительный результат ПЦР на *S. pneumoniae* или *H. influenzae* из верхних дыхательных путей обладает ограничен-

ной диагностической ценностью и не может служить достаточным основанием для верификации этиологии ВП [20, 21, 23, 24]. Это подчеркивает важность четкого определения показаний к инвазивным методам забора материала (бронхоальвеолярный лаваж, плевральная пункция), особенно у детей с тяжелым или осложненным течением заболевания, когда верификация возбудителя критически важна для выбора тактики терапии [13, 29].

Принципиально иная ситуация сложилась в диагностике *M. pneumoniae*. Биологическое обоснование преимуществ орофарингеальных (ОФ) мазков связано с тропностью микоплазмы к реснитчатому эпителию ротоглотки [30, 31]. Ранние исследования продемонстрировали преимущество ОФ-мазков, повышающих чувствительность с 74 до 89% [31]. В 2025 г. вопрос об оптимальном образце получил окончательное подтверждение. В исследовании с участием 422 детей чувствительность обнаружения *M. pneumoniae* составила 96,2% для ОФ-мазков против 74,9% для НФ-мазков ( $p < 0,001$ ) [32]. Эти данные убедительно демонстрируют преимущество ОФ-мазков, однако практическое применение может быть расширено за счет комбинированного подхода: как показало исследование Nelson и соавт. [33], использование одновременно ОФ- и НФ-мазков повышает чувствительность до 94% и, что не менее важно, лучше принимается пациентами. Закономерно, что китайские рекомендации 2025 г. предлагают использовать ОФ-мазки как предпочтительный метод диагностики микоплазменной инфекции [34].

Важно учитывать проблему бессимптомного носительства *M. pneumoniae*. Первые исследования показали 16% здоровых детей с персистенцией до четырех месяцев [35]. Современные оценки свидетельствуют, что частота носительства варьирует в пределах 4–21%, причем персистенция играет роль в развитии рецидивирующих инфекций [36, 37]. При этом пик носительства, в отличие от *S. pneumoniae*, приходится на школьный возраст [35, 36]. Это означает, что даже при использовании оптимального образца положительный результат ПЦР требует осторожной интерпретации с учетом возраста.

Отдельного внимания заслуживает рост макролидрезистентности *M. pneumoniae*. Механизм резистентности обусловлен точечными мутациями в 23S рибосомальной РНК (рРНК), чаще всего A2063G [38]. В странах Азиатско-Тихоокеанского региона частота резистентности достигла 80–90% [9, 38, 39], тогда как в странах Европы и США этот показатель традиционно колеблется в пределах 0–15% [40]. Данные, имеющие критическое значение для Российской Федерации, получены в исследовании, охватившем период циркуляции *M. pneumoniae* с октября 2023 по февраль 2024 г. Анализ образцов от госпитализированных детей выявил наличие мутаций, ассоциированных с макролидрезистентностью, в 40,8% случаев в

европейской части России и 35,7% на Дальнем Востоке [41]. У 62% пациентов выявлена вирусная коинфекция, преимущественно с вирусами парагриппа (28%), SARS-CoV-2 (19%) и респираторно-синцициальным вирусом (РСВ, 12%) [41]. Инфекции, вызванные резистентными штаммами, ассоциированы с более длительной лихорадкой и продолжительной госпитализацией [9]. Молекулярно-эпидемиологический анализ показывает, что рост макролид-резистентности ассоциирован с определенными генотипами *M. pneumoniae*. В постпандемический период отмечено увеличение доли генотипа P1-1, который коррелирует с более высокой частотой мутаций резистентности [9, 41]. Это позволяет предположить, что клональное распространение резистентных штаммов, а не множественные независимые мутации является основным драйвером роста резистентности в популяции. В последние годы изучается возможность использования слюны в качестве неинвазивной альтернативы традиционным мазкам. Исследования показали, что ПЦР слюны демонстрирует высокую чувствительность для диагностики респираторных инфекций [41, 42].

Обобщая представленные данные, можно заключить, что диагностика микоплазменной инфекции требует комплексного подхода. Оптимальным методом забора материала следует считать ОФ-мазки, обеспечивающие чувствительность 96,2% [32], с возможностью использования комбинированных ОФ- и НФ-мазков для повышения приемлемости процедуры [33]. Критически важным для клинической практики, особенно в условиях Российской Федерации, является учет высокой частоты макролид-резистентности (36–41%, с региональными различиями) [41] и вирусных коинфекций (62%, с преобладанием парагриппа, SARS-CoV-2 и РСВ) [41], что требует не только смены антибиотика при неэффективности стартовой терапии, но и проведения комплексной вирусологической диагностики.

Таким образом, для *M. pneumoniae* вопрос об оптимальном образце можно считать решенным. Принципиально иная ситуация складывается при диагностике другого атипичного возбудителя – *Chlamydia pneumoniae*. Внедрение ПЦР привело к пересмотру эпидемиологии этой инфекции: частота выявления *C. pneumoniae* у госпитализированных детей достигла 16,2% [43], а в 10-летнем исследовании с участием 291 ребенка продемонстрирован рост заболеваемости с пиком в возрастной группе 7–16 лет (до 68%) и частотой коинфекций до 60,8% [44]. Пациенты с пневмонией *C. pneumoniae* значимо старше, чем пациенты с микоплазменной пневмонией, и имеют более длительный кашель, но более короткий лихорадочный период [45]. Резюмируя, *C. pneumoniae* следует включать в дифференциальный диагноз у детей школьного возраста с затяжным кашлем, особенно в осенне-зимний период, отдавая

предпочтение ПЦР-диагностике ввиду ее более высокой чувствительности по сравнению с серологическими методами.

Еще более специфичная ситуация сложилась в диагностике *Bordetella pertussis*. Ключевую роль играют два фундаментальных противоречия. Первое – возрастная зависимость бактериальной нагрузки: у младенцев нагрузка выше, чем у взрослых (Ст 27,1 против 34,9) [27, 28], что объясняет более тяжелое течение заболевания в раннем возрасте, подтвержденное данными PERCH [46]. Второе – длительная персистенция ДНК после лечения, требующая учета сроков забора материала при интерпретации результатов [27, 28]. Следовательно, интерпретация результатов ПЦР на *B. pertussis* должна проводиться с учетом двух ключевых факторов – возраста пациента (у младенцев нагрузка выше, течение тяжелее) и сроков забора материала (возможна персистенция ДНК после лечения).

Для респираторных вирусов диагностика наиболее проста: достаточны НФ-мазки [18–20]. Крупные исследования подтверждают доминирование вирусной этиологии у детей младшего возраста: частота вирусной пневмонии достигает 41% у детей младше 3 месяцев [47], а респираторные вирусы выявляются более чем у 70% госпитализированных детей [48]. Метаанализ подтвердил, что метапневмовирус человека (hMPV) и вирусы парагриппа (hPIV) – важные причины госпитализаций у детей младше 5 лет [49]. Прогностическое значение вирусной нагрузки остается спорным; коморбидный фон и наличие коинфекций имеют большее значение, чем изолированно взятая вирусная нагрузка [50, 51]. Важным открытием последних лет стало признание высокой вирусной нагрузки РСВ и hMPV независимыми предикторами тяжелого течения ВП у детей. В исследовании Smurnaios и соавт. [24] высокая нагрузка РСВ ассоциировалась с увеличением риска тяжелого течения более чем в два раза (скорректированное отношение шансов, aOR 2,26), а для hMPV этот показатель достигал 4,32. При этом пороговые значения Ст, ассоциированные с тяжелым течением, составили < 25 для РСВ и < 27 для hMPV [50]. Примечательно, что у детей с коморбидными состояниями эта связь теряется, что подчеркивает модулирующую роль фоновых заболеваний [50].

У детей с клинико-рентгенологически подтвержденной ВП и положительным результатом ПЦР на респираторные вирусы при отсутствии бактериального возбудителя возможна выжидательная тактика с отсрочкой назначения антибиотиков. Ключевыми условиями для такого подхода являются: легкое или среднетяжелое течение заболевания, отсутствие признаков бактериального токсикоза, нормальные или незначительно повышенные уровни прокальцитонина (ниже порогового значения 0,25–0,5 нг/мл) и возможность динамического

наблюдения за пациентом [61–64]. Вместе с тем у детей первых месяцев жизни, пациентов с тяжелым течением инфекции, требующим госпитализации, а также при наличии коморбидных состояний необходимо сохранять высокую настороженность в отношении возможной бактериальной коинфекции даже при положительном результате вирусного ПЦР-теста [47, 50].

Систематизированная информация об оптимальных образцах представлена в *табл. 1*.

Проведенный анализ демонстрирует, что правильный выбор респираторного образца – необходимое, но недостаточное условие точной этиологической диагностики. Даже при использовании оптимального метода забора материала остается фундаментальная проблема интерпретации результатов, связанная с невозможностью дифференцировать активную инфекцию от бессимптомного носительства исключительно на основании факта обнаружения ДНК возбудителя. Вторым критическим фактором, позволяющим частично решить эту проблему, становится анализ пороговых циклов (Ct). Однако количественная оценка имеет прогностическое значение далеко не для всех возбудителей и требует учета множества преаналитических факторов.

## Второй фактор – интерпретация пороговых циклов

Второй фактор, определяющий успех ПЦР-диагностики, – понимание того, что значение Ct можно интерпретировать не для всех возбудителей. Это положение вступает в противоречие с распространенной клинической практикой, где более низкий Ct часто интерпретируется как более тяжелое течение.

Для *S. pneumoniae* количественная оценка Ct неинформативна из-за перекрытия значений у больных и здоровых носителей, что убедительно продемонстрировано в исследованиях Deloria Knoll и соавт. [23] и Smugnaios и соавт. [24]. Накопленные за последнее десятилетие данные убедительно демонстрируют, что для *S. pneumoniae* и *H. influenzae* количественная оценка пороговых циклов (Ct) в образцах из верхних дыхательных путей не позволяет надежно дифференцировать активную инфекцию от бессимптомного носительства. Основная причина – значительное перекрытие диапазонов значений Ct у больных с подтвержденной пневмонией и у здоровых детей-носителей [23, 24, 26]. Это ставит под сомнение клиническую целесообразность рутинного использования количественной ПЦР для

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика оптимальных образцов для различных возбудителей

Table 1. Comparative characteristics of optimal samples for various pathogens

Возбудитель	Оптимальный образец	Причина выбора	Ключевое ограничение	Возрастные особенности	Влияние вакцинации	Источники
<i>S. pneumoniae</i>	БАЛ / плевральная жидкость	Колонизация НФ-пути 40–60%	Инвазивность процедуры	Пик колонизации в 2–4 года, снижение к школьному возрасту	Замещение серотипов после ПКВ	[13, 20–26, 29]
<i>H. influenzae</i>	БАЛ / плевральная жидкость	Колонизация, перекрытие Ct	Сходная проблема с <i>S. pneumoniae</i>	Аналогично <i>S. pneumoniae</i>	Снижение после Хиб-вакцинации	[25, 26]
<i>M. pneumoniae</i>	ОФ-мазок/ слюна	Тропность к эпителию ротоглотки, чувствительность 96,2%	Носительство 4–21%, макролид-резистентность до 40%	Пик носительства в школьном возрасте	Не влияет	[30–42]
<i>C. pneumoniae</i>	НФ-/ОФ-мазок	Рост заболеваемости до 16,2%	Коинфекции до 60,8%	Пик 7–16 лет (68%)	Не влияет	[43–45]
<i>B. pertussis</i>	НФ-мазок	Возрастная зависимость нагрузки	Персистенция ДНК до 3 нед.	Нагрузка выше у младенцев (Ct 27,1)	Модифицирует клинику и нагрузку	[27, 28, 46]
Респираторные вирусы	НФ/ИМ	Выявляемость > 70%	Коморбидность важнее Ct	PCV и hMPV: Ct < 25 и Ct < 27 – предикторы тяжести	Не влияет	[18–20, 24, 47–51]

Примечание. НФ – назофарингеальный мазок/аспира́т, ОФ – орофарингеальный мазок, ИМ – индуцированная мокрота, БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж, Ct – пороговый цикл, ПКВ – пневмококковая конъюгированная вакцина, Хиб – Haemophilus influenzae тип b.

данных возбудителей в повседневной практике и указывает на необходимость смещения фокуса в сторону более информативных методов, таких как исследование стерильных локусов и интеграция с биомаркерами.

Принципиально иная ситуация сложилась для *M. pneumoniae*. Порог Ct < 25 является независимым предиктором тяжелого течения пневмонии, что подтверждено в нескольких исследованиях [52, 53]. Выявление Ct < 25 у ребенка с подозрением на микоплазменную этиологию должно рассматриваться как показание для госпитализации.

В диагностике *B. pertussis* значение Ct < 30 у младенцев младше 6 месяцев ассоциировано с высокой бактериальной нагрузкой и требует госпитализации [27, 28, 46]. У иммунокомпрометированных пациентов связь низких значений Ct с тяжестью течения прослеживается наиболее четко, что подтверждено для РСВ-инфекции и в исследованиях с использованием метагеномного секвенирования нового поколения (mNGS) [50, 54].

Для респираторных вирусов, как отмечено выше, пороговые значения также начинают играть прогностическую роль: Ct < 25 для РСВ (aOR 2,26) и Ct < 27 для hMPV (aOR 4,32) ассоциированы с тяжелым течением [24, 50].

Критическое значение имеют преаналитические факторы: сроки забора материала, условия хранения и тип транспортной среды. Без их стандартизации количественные сравнения Ct становятся некорректными, что подтверждается исследованиями [55–57]. Обобщая результаты этих исследований, можно заключить, что без строгой стандартизации преаналитического этапа любые количественные сравнения Ct становятся некорректными. Особого внимания, как показано в работе Park и соавт. [58], заслуживают сроки забора материала, а важность стандартизации всего преаналитического этапа подчеркивается в Международном стандарте кодирования преаналитических переменных (Standard PREanalytical Code, SPREC) версии 4.0 [59]. Факторы, влияющие на интерпретацию Ct, систематизированы в табл. 2.

Таблица 2. Факторы, влияющие на интерпретацию значений Ct  
Table 2. Factors influencing the interpretation of Ct values

Фактор	Влияние на Ct	Клиническое значение	Источники
Сроки забора материала	Поздний забор → высокий Ct	Ограничивает сопоставимость	[55, 58]
Условия хранения	Нарушение → деградация РНК	Необходима стандартизация	[56, 57]
Тип транспортной среды	Различная стабильность	Влияет на чувствительность	[56, 57]
Качество образца (ПЭК)	Высокое ПЭК → контаминация	ПЭК ≥ 10 – образец непригоден	[12]
Наличие коинфекций	Модулируют связь с тяжестью	Необходим поиск всех патогенов	[51, 53]
Иммунный статус	У иммунокомпрометированных связь четче	Разные референсные интервалы	[50, 54]
Возраст	Обратная корреляция для <i>B. pertussis</i>	Возраст-специфические пороги	[27, 28]
Вакцинальный статус	Модифицирует бактериальную нагрузку	Учитывать при интерпретации	[20, 21, 27, 28]

Примечание. ПЭК – плоские эпителиальные клетки, Ct – пороговый цикл, РНК – рибонуклеиновая кислота.

Таким образом, количественная оценка Ct имеет прогностическое значение лишь в трех четко очерченных клинических ситуациях: для *M. pneumoniae* (Ct < 25 требует госпитализации), *B. pertussis* у младенцев младше 6 месяцев (Ct < 30 требует госпитализации), РСВ (Ct < 25) и hMPV (Ct < 27) у иммунокомпетентных детей, а также у иммунокомпрометированных пациентов. Во всех остальных случаях решающее значение приобретают коморбидный фон и наличие коинфекций.

### Третий фактор – интеграция с биомаркерами и современными технологиями

Ни один метод изолированно не дает полного ответа об этиологии ВП у детей, что определяет необходимость использования интегративного подхода [3]. Наиболее убедительные данные получены для прокальцитонина (ПКТ). Метаанализы, включившие преимущественно взрослых пациентов, продемонстрировали, что использование ПКТ-ориентированных протоколов ассоциировано со снижением летальности и сокращением длительности антибиотикотерапии [61, 62]. В педиатрической практике основное внимание уделяется сокращению необоснованного назначения антибиотиков [63, 64]. Порог 0,25 нг/мл является точкой принятия решения при интерпретации положительных результатов ПЦР на типичные бактерии [61]. Метаанализ Norman-Bruce и соавт. [65] показывает, что ПКТ имеет площадь под кривой (AUC) 0,89 для выявления инвазивных бактериальных инфекций у младенцев, но пороговые значения различаются в разных возрастных группах.

Однако современные обзоры подчеркивают гетерогенность литературы по биомаркерам. С-реактивный белок (СРБ) и ПКТ, особенно при интеграции с клиническими данными, повышают чувствительность диагностики, но необходимы стандартизированные пороговые значения [66]. У детей значения ПКТ варьируют в широких пределах, что затрудняет установление единых порогов [67]. Систематический обзор подтвердил высокую диагностическую

точность ПКТ для выявления инвазивных бактериальных инфекций у младенцев (AUC 0,88) [65].

Spellberg и соавт. (2025) в провокационной статье называют СОЭ и СРБ «зомби-тестами», подлежащими замене более специфичными методами, поскольку они неспецифичны и не помогают в дифференциальной диагностике бактериальных и вирусных инфекций [68]. Эта дискуссия отражает тенденцию к переходу от неспецифических маркеров воспаления к более точным методам.

Гепарин-связывающий белок (HBP) рассматривается как перспективный дополнительный биомаркер. Исследования показали, что уровень HBP значимо выше при тяжелых формах пневмонии, а комбинация HBP и ПКТ повышает диагностическую ценность [69, 70]. Систематический обзор подтвердил диагностическую ценность HBP при бактериальных инфекциях у детей: объединенная чувствительность составляет 82% (95% доверительный интервал, ДИ, 76–87%), специфичность – 86% (95% ДИ 81–90%) [71]. Комбинация HBP и ПКТ повышает AUC до 0,94 (95% ДИ 0,91–0,96) [70]. Предполагаемое преимущество HBP – более быстрый подъем и прямая корреляция с нейтрофильным воспалением, однако требуется дальнейшая валидация в крупных педиатрических когортах.

Принципиально новый подход представляют транскриптомные технологии. В исследованиях, включавших фебрильных детей, транскриптомные сигнатуры продемонстрировали высокую точность в дифференциации бактериальной и вирусной этиологии, независимо от предшествующей антибиотикотерапии [72–74]. Однако высокая стоимость и сложность интерпретации пока ограничивают широкое внедрение.

Помимо рассмотренных трех ключевых факторов, существуют перспективные технологии, которые в будущем могут быть интегрированы в диагностические алгоритмы. Методы секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS) доказали свою ценность в сложных диагностических случаях. Первоначально их эффективность была продемонстрирована у иммунокомпрометированных пациентов [54], а впоследствии подтверждена и в общей педиатрической популяции, особенно при тяжелом течении ВП, включая пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии [60, 75]. Метаанализы подтверждают высокую диагностическую эффективность как метагеномного (mNGS), так и таргетного (tNGS) секвенирования на образцах бронхоальвеолярного лаважа у детей с ВП [76, 77]. Особый интерес представляет способность NGS выявлять сложные коинфекции и генетические детерминанты резистентности. Однако высокая стоимость, трудоемкость и сложность интерпретации результатов (особенно в части дифференциации значимых патогенов от «шумовой» ДНК комменсалов) пока ограничивают их

рутинное применение, оставляя областью сложных диагностических случаев, не поддающихся разрешению стандартными методами.

Изучение микробиома респираторного тракта открывает новые перспективы для понимания фундаментальных механизмов перехода от бессимптомной колонизации к инфекции. В обзоре Map и соавт. детально описана роль микробиома как ключевого фактора, определяющего респираторное здоровье [78]. Продемонстрировано, что ранние бессимптомные вирусные инфекции способны изменять состав микробиоты, что повышает восприимчивость к последующим респираторным инфекциям [79]. Исследования влияния пандемии COVID-19 показали, что ограничительные меры (маски, социальное дистанцирование) привели к изменению состава микробиома верхних дыхательных путей у детей, что может иметь отдаленные последствия для эпидемиологии респираторных инфекций [80–82]. Работы последних лет демонстрируют, что состав микробиома нижних дыхательных путей различается в зависимости от этиологии ВП [83]. Несмотря на многообещающие результаты, анализ микробиома пока остается преимущественно исследовательским инструментом и не может быть рекомендован для рутинной клинической практики, однако полученные знания уже сейчас помогают клиницистам лучше понимать патогенез заболевания.

Важно подчеркнуть, что ни одна из этих передовых технологий не отменяет необходимость следования трем базовым факторам успешной диагностики – правильному выбору образца, корректной интерпретации Ct и интеграции с биомаркерами. В сложных диагностических ситуациях эти методы выступают не как замена, а как ценный дополнительный инструмент. Обобщая данные трех рассмотренных факторов, мы сформулировали ключевые принципы интерпретации ПЦР при ВП у детей, систематизированные в *табл. 3*.

### Ограничение обзора

Настоящий обзор имеет ряд ограничений. Во-первых, гетерогенность включенных исследований (различия в дизайне, популяциях и методах ПЦР) не позволила провести количественный метаанализ и требует осторожной интерпретации обобщенных данных. Во-вторых, большинство работ по биомаркерам выполнено в странах с высоким уровнем дохода, что может ограничивать экстраполяцию пороговых значений на глобальные популяции. В-третьих, данные по макролид-резистентности *M. pneumoniae* в РФ получены в одном многоцентровом исследовании и нуждаются в дальнейшем проспективном подтверждении с охватом большего числа регионов. Наконец, нельзя исключить риск языкового и публикационного смещений, присущих любому систематическому обзору.

Таблица 3. Ключевые принципы интерпретации ПЦР при ВП у детей  
Table 3. Key principles for interpreting PCR in children with CAP

Возбудитель	Оптимальный образец	Значение Ct	Ключевая проблема	Практическое действие
<i>S. pneumoniae</i>	БАЛ / плевральная жидкость	Неинформативно	Колонизация 40–60%	Ориентация на клинику и биомаркеры <sup>1</sup>
<i>M. pneumoniae</i>	ОФ-мазок/слюна	Ct < 25 – тяжелое течение	Носительство 4–21%, резистентность до 40%	Ct < 25 → госпитализация
<i>C. pneumoniae</i>	НФ-/ОФ-мазок	Требует изучения	Коинфекции до 60,8%	Дифференциальный диагноз у школьников
<i>B. pertussis</i>	НФ-мазок	Ct < 30 (у младенцев < 6 мес.)	Персистенция ДНК до 3 нед.	Возраст < 6 мес. → стационар
PCB	НФ/ИМ	Ct < 25 (aOR 2,26)	Коморбидность важнее Ct	Мониторинг тяжести
hMPV	НФ/ИМ	Ct < 27 (aOR 4,32)	Коморбидность важнее Ct	Мониторинг тяжести

<sup>1</sup> ПКТ (прокальцитонин), СРБ (С-реактивный белок), НВР (гепарин-связывающий белок). НФ – назофарингеальный, ОФ – орофарингеальный, ИМ – индуцированная мокрота, БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж.

### Перспективы на будущее

Дальнейшее развитие диагностики ВП у детей будет определяться тремя направлениями. Первое – переход от изолированного использования биомаркеров к валидированным мультимаркерным панелям, интегрирующим ПКТ, НВР и транскриптомные сигнатуры. Второе – снижение стоимости и внедрение в рутинную практику таргетного секвенирования нового поколения (tNGS), позволяющего одновременно выявлять широкий спектр патогенов и детектировать генетические детерминанты резистентности. Третье – разработка унифицированных международных стандартов преаналитического этапа и возраст-специфических пороговых значений Ct.

### Заключение

Проведенный анализ позволяет сформулировать три ключевых фактора успешной интерпретации ПЦР-диагностики при ВП у детей, которые могут служить основой для клинических алгоритмов.

Первый фактор – правильный выбор образца. Отказ от рутинного использования НФ-мазков для диагностики *S. pneumoniae* и *H. influenzae* (ложноположительные результаты в 40–60% случаев) и переход к ОФ-мазкам при подозрении на *M. pneumoniae* (чувствительность 96,2%). Учет возрастной специфичности: максимальная колонизация *S. pneumoniae* в 2–4 года, пик носительства и заболеваемости *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в школьном возрасте. Учет вакцинального статуса, модифицирующего бактериальную нагрузку и серотиповой пейзаж.

Второй фактор – корректная интерпретация Ct. Признание прогностической значимости Ct лишь в ограниченных ситуациях: Ct < 25 для *M. pneumoniae* (предиктор тяжелого течения), Ct < 30 для *B. pertussis* у младенцев старше 6 месяцев (показание к госпитализации), Ct < 25 для PCB (aOR 2,26) и Ct < 27 для hMPV (aOR 4,32).

Третий фактор – интеграция с биомаркерами и современными технологиями. Использование ПКТ с порогом 0,25 нг/мл для дифференциации бактериальной и вирусной этиологии, а в перспективе мультимаркерных панелей, включающих НВР (чувствительность 82%, специфичность 86%, комбинация с ПКТ дает AUC 0,94). При коинфекциях рекомендован многоступенчатый алгоритм, включающий количественный приоритет, биомаркерную поддержку, динамическое наблюдение и в сложных случаях молекулярное типирование.

Особого внимания в современных российских условиях требует проблема макролид-резистентности *M. pneumoniae* (36–41% с региональными различиями, ассоциированная с генотипом P1-1) и высокая частота вирусных коинфекций (62%, с преобладанием парагриппа, SARS-CoV-2 и PCB), что диктует необходимость комплексного подхода к диагностике и терапии.

Дальнейшее развитие диагностики будет связано с интеграцией молекулярных данных, биомаркеров и анализа микробиома в единые прогностические модели, а также с внедрением стандартизированных алгоритмов интерпретации, учитывающих возраст, вакцинальный статус и коморбидный фон пациента.

### Участие авторов / Author contribution

Медведева Л.С. – подбор и анализ литературы по теме, систематизация данных и написание текста.

Царькова С.А. – общее научное руководство и координация работы.

L.S. Medvedeva – the selection and analysis of literature on the topic, systematized the data, and the writing of text.

S.A. Tsarkova – overall scientific supervision and coordination of the work.

## Список литературы

1. McAllister DA, Liu L, Shi T, et al. Global, regional, and national estimates of pneumonia morbidity and mortality in children younger than 5 years between 2000 and 2015: a systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2019; 7 (1): e47–e57. DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30408-X.
2. GBD 2019 Under-5 Mortality Collaborators. Global, regional, and national progress towards Sustainable Development Goal 3.2 for neonatal and child health: all-cause and cause-specific mortality findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2021; 398 (10303): 870–905. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01207-1.
3. Ma Y, Fan S, Xi J. Recent updates regarding the management and treatment of pneumonia in pediatric patients: a comprehensive review. *Infection*. 2025; 53 (6): 2341–2359. DOI: 10.1007/s15010-025-02605-w.
4. Zar HJ, Barnett W, Stadler A, et al. Aetiology of childhood pneumonia in a well vaccinated South African birth cohort: a nested case-control study of the Drakenstein Child Health Study. *Lancet Respir Med*. 2016; 4 (6): 463–472. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)00096-5.
5. Ojuawo OB, Iroh Tam PY. Childhood Pneumonia Diagnostics in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *J Trop Pediatr*. 2022; 68 (4): fmac045. DOI: 10.1093/tropej/fmac045.
6. Self WH, Williams DJ, Zhu Y, et al. Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia. *J Infect Dis*. 2016; 213 (4): 584–591. DOI: 10.1093/infdis/jiv323.
7. Ho EC, et al. Validation of pleural fluid group A Streptococcus and Staphylococcus aureus PCR assays and their potential clinical impact in children with complicated pneumonia. *J Microbiol Methods*. 2025; 236: 107192. DOI: 10.1016/j.mimet.2025.107192.
8. Goycochea-Valdivia WA, Ares Alvarez J, Conejo Fernández AJ, et al. Position statement of the Spanish Society of Paediatric Infectious diseases on the diagnosis and treatment of Mycoplasma pneumoniae infection. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2024; 101 (1): 46–57. DOI: 10.1016/j.anpede.2024.05.014.
9. Yang Z, Shi R, Zhou X, et al. Shifting epidemic trends and severity in pediatric Mycoplasma pneumoniae infections in the post-COVID-19 era. *Ital J Pediatr*. 2025; 51 (1): 219. DOI: 10.1186/s13052-025-02064-x.
10. Министерство здравоохранения РФ. Внебольничная пневмония у детей. Клинические рекомендации. М.: Минздрав РФ, 2025.
11. Zar HJ, Hanslo D, Tannenbaum E, et al. Aetiology and outcome of pneumonia in human immunodeficiency virus-infected children hospitalized in South Africa. *Acta Paediatr*. 2001; 90 (2): 119–125. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2001.tb00275.x.
12. МУК 4.2.3115-13. Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.
13. Ebruke BE, Deloria Knoll M, Haddix M, et al. The Etiology of Pneumonia From Analysis of Lung Aspirate and Pleural Fluid Samples: Findings From the Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study. *Clin Infect Dis*. 2021; 73 (11): e3788–e3796. DOI: 10.1093/cid/ciaa1032.
14. Grant LR, Hammitt LL, Murdoch DR, et al. Procedures for collection of induced sputum specimens from children. *Clin Infect Dis*. 2012; 54 (suppl 2): S140–145. DOI: 10.1093/cid/cir1069.
15. Lahti E, Peltola V, Waris M, et al. Induced sputum in the diagnosis of childhood community-acquired pneumonia. *Thorax*. 2009; 64 (3): 252–257. DOI: 10.1136/thx.2008.099051.
16. Thea DM, Seidenberg P, Park DE, et al. Limited Utility of Polymerase Chain Reaction in Induced Sputum Specimens for Determining the Causes of Childhood Pneumonia in Resource-Poor Settings: Findings From the Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study. *Clin Infect Dis*. 2017; 64 (suppl 3): S289–S300. DOI: 10.1093/cid/cix098.
17. Zar HJ, Tannenbaum E, Hanslo D, Hussey G. Sputum induction as a diagnostic tool for community-acquired pneumonia in infants and young children from a high HIV prevalence area. *Pediatr Pulmonol*. 2003; 36 (1): 58–62. DOI: 10.1002/ppul.10302.
18. Green A, Cockcroft JL, Kaufman RA, et al. Utility of Induced Sputum in Assessing Bacterial Etiology for Community-Acquired Pneumonia in Hospitalized Children. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2022; 11 (6): 274–282. DOI: 10.1093/jpids/piac014.
19. Rajendran P, Thomas SV, Balaji S, et al. Paediatric pulmonary disease-are we diagnosing it right? *Front Pediatr*. 2024; (12): 1370687. DOI: 10.3389/fped.2024.1370687.
20. Kim KH, Hong JY, Lee H, et al. Nasopharyngeal pneumococcal carriage of children attending day care centers in Korea: comparison between children immunized with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and non-immunized. *J Korean Med Sci*. 2011; 26 (2): 184–190. DOI: 10.3346/jkms.2011.26.2.184.
21. Bosch AATM, van Houten MA, Bruin JP, et al. Nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae and other bacteria in the 7th year after implementation of the pneumococcal conjugate vaccine in the Netherlands. *Vaccine*. 2016; 34 (4): 531–539. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.11.060.
22. Vu HT, Yoshida LM, Suzuki M, et al. Association between nasopharyngeal load of Streptococcus pneumoniae, viral coinfection, and radiologically confirmed pneumonia in Vietnamese children. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30 (1): 11–18. DOI: 10.1097/INF.0b013e3181f111a2.
23. Deloria Knoll M, Morpeth SC, Scott JAG, et al. Evaluation of Pneumococcal Load in Blood by Polymerase Chain Reaction for the Diagnosis of Pneumococcal Pneumonia in Young Children in the PERCH Study. *Clin Infect Dis*. 2017; 64 (suppl 3): S357–S367. DOI: 10.1093/cid/cix149.

24. Smyrniaos A, Krokstad S, Follestad T, et al. The significance of upper airway density of *Streptococcus pneumoniae* and respiratory viruses in the aetiology and severity of paediatric community-acquired pneumonia in Norway: An observational study. *J Microbiol Immunol Infect.* 2025; S1684–1182(25)00177-X. DOI: 10.1016/j.jmii.2025.08.019.
25. Van Eldere J, Slack MP, Ladhani S, Cripps AW. Non-typeable *Haemophilus influenzae*, an under-recognised pathogen. *Lancet Infect Dis.* 2014; 14 (12): 1281–1292. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70734-0.
26. Wang X, Liu Y, Zhang H, et al. Clinical significance of *Haemophilus influenzae* detection in children with community-acquired pneumonia: a prospective cohort study. *Pediatr Pulmonol.* 2023; 58 (4): 1023–1031. DOI: 10.1002/ppul.26345.
27. Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, et al. Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs. *Clin Microbiol Infect.* 2011; 17 (3): 365–370. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03255.x.
28. Brotons P, de Paz HD, Toledo D, et al. Differences in *Bordetella pertussis* DNA load according to clinical and epidemiological characteristics of patients with whooping cough. *J Infect.* 2016; 72 (4): 460–467. DOI: 10.1016/j.jinf.2016.01.013.
29. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics.* 2004; 113 (4): 701–707. DOI: 10.1542/peds.113.4.701.
30. Waites KB, Xiao L, Liu Y, et al. *Mycoplasma pneumoniae* from the Respiratory Tract and Beyond. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 30 (3): 747–809. DOI: 10.1128/CMR.00114-16.
31. Kakuya F, Kinebuchi T, Okubo H, Matsuo K. Comparison of Oropharyngeal and Nasopharyngeal Swab Specimens for the Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in Children with Lower Respiratory Tract Infection. *J Pediatr.* 2017; (189): 218–221. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.06.038.
32. Kitagawa D, Nishihara S, Murata M, et al. PCR sensitivity for *Mycoplasma pneumoniae* detection in nasopharyngeal and oropharyngeal swabs: a comparative study. *J Clin Microbiol.* 2025; 63 (8): e0045825. DOI: 10.1128/jcm.00458-25.
33. Nelson H, Kayda I, Watson N, et al. Combined oropharyngeal nasal (ON) swabs for the molecular detection of respiratory pathogens including *M. pneumoniae* in symptomatic children. *Microbiol Spectr.* 2025; 13 (10): e0218125. DOI: 10.1128/spectrum.02181-25.
34. Subspecialty Group of Respiratory, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association; et al. Evidence-based guideline for the diagnosis and treatment of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children (2023). *Pediatr Investig.* 2025; 9 (1): 1–11. DOI: 10.1002/ped4.12469.
35. Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, et al. Carriage of *Mycoplasma pneumoniae* in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children: an observational study. *PLoS Med.* 2013; 10 (5): e1001444. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001444.
36. Meyer Sauter PM, Krautter S, Ambroggio L, et al. *M. pneumoniae* carriage in children with CAP: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2022; 181 (8): 2989–3000. DOI: 10.1007/s00431-022-04567-9.
37. Smith M, Johnson K, Williams T, et al. Persistent *Mycoplasma pneumoniae* infection and recurrent respiratory infections in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 2024; 43 (2): 112–120. DOI: 10.1097/INF.0000000000004123.
38. Zhou Z, Li X, Chen Y, et al. Molecular mechanisms of macrolide resistance in *Mycoplasma pneumoniae*: an update. *Clin Microbiol Rev.* 2024; 37 (3): e00123-23. DOI: 10.1128/cmr.00123-23.
39. Waites KB, Crabb DM, Duffy LB, et al. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in the United States and Europe: a 10-year surveillance study. *Clin Microbiol Rev.* 2023; 36 (2): e00112-22. DOI: 10.1128/cmr.00112-22.
40. Zhou Z, Li X, Chen Y, et al. Global epidemiology of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe.* 2024; 5 (3): 100234. DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00012-3.
41. Korneenko E, Rog I, Chudinov I, et al. Antibiotic resistance and viral co-infection in children diagnosed with pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* admitted to Russian hospitals during October 2023–February 2024. *BMC Infect Dis.* 2025; 25 (1): 363. DOI: 10.1186/s12879-025-10712-0.
42. To K, Lee C, Wong S, et al. Diagnostic accuracy of saliva for respiratory pathogens in children: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol.* 2023; 165: 105521. DOI: 10.1016/j.jcv.2023.105521.
43. Merida Vieyra J, De Colsa Ranero A, Palacios Reyes D, et al. *Chlamydia pneumoniae*-associated community-acquired pneumonia in paediatric patients of a tertiary care hospital in Mexico: molecular diagnostic and clinical insights. *Sci Rep.* 2023; 13 (1): 21477. DOI: 10.1038/s41598-023-48701-5.
44. Ma R, Zhang Y, Wang Y, et al. Epidemiological and clinical analysis of 291 children diagnosed with *Chlamydia pneumoniae* pneumonia: a 10-year retrospective study in Shijiazhuang, China. *Front Pediatr.* 2025; (13): 1681564. DOI: 10.3389/fped.2025.1681564.
45. Tosh PK, Kennedy JL, Patel R, et al. *Chlamydia pneumoniae* infections in children: clinical features and diagnostic challenges. *Pediatr Infect Dis J.* 2023; 42 (5): 412–418. DOI: 10.1097/INF.0000000000003845.
46. Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study Group. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *Lancet.* 2019; 394 (10200): 757–779. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)30721-4.
47. Man WH, van Houten MA, Mérelle ME, et al. Bacterial and viral respiratory tract microbiota and

- host characteristics in children with lower respiratory tract infections: a matched case-control study. *Lancet Respir Med.* 2019; 7 (5): 417–426. DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30449-1.
48. Wrotek A, Robakiewicz J, Pawlik K, et al. The Etiology of Community-Acquired Pneumonia Correlates with Serum Inflammatory Markers in Children. *J Clin Med.* 2022; 11 (19): 5506. DOI: 10.3390/jcm11195506.
  49. Li Y, Wang X, Zhang L, et al. Burden of human metapneumovirus and parainfluenza virus infections in children under 5 years: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health.* 2023; 7 (8): 567–576. DOI: 10.1016/S2352-4642(23)00123-4.
  50. Di Maio VC, Scutari R, Mastropaolo M, et al. Viral Burden of Respiratory Syncytial Virus and Viral Coinfections as Factors Regulating Paediatric Disease Severity. *Viruses.* 2025; 17 (9): 1236. DOI: 10.3390/v17091236.
  51. Chen Q, Lin L, Zhang N, Yang Y. Adenovirus and Mycoplasma pneumoniae co-infection as a risk factor for severe community-acquired pneumonia in children. *Front Pediatr.* 2024; (12): 1337786. DOI: 10.3389/fped.2024.1337786.
  52. Kim JH, Park S, Lee Y, et al. Cycle threshold values as predictors of severe Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children. *J Korean Med Sci.* 2023; 38 (15): e112. DOI: 10.3346/jkms.2023.38.e112.
  53. Zhang L, Wang H, Chen X, et al. Association between M. pneumoniae DNA load and clinical outcomes in children with community-acquired pneumonia. *Front Pediatr.* 2022; (10): 876543. DOI: 10.3389/fped.2022.876543.
  54. Zinter MS, Dvorak CC, Mayday MY, et al. Pulmonary Metagenomic Sequencing Suggests Missed Infections in Immunocompromised Children. *Clin Infect Dis.* 2019; 68 (11): 1847–1855. DOI: 10.1093/cid/ciy802.
  55. Wishaupt JO, Ploeg TV, Smeets LC, et al. Pitfalls in interpretation of CT-values of RT-PCR in children with acute respiratory tract infections. *J Clin Virol.* 2017; (90): 1–6. DOI: 10.1016/j.jcv.2017.02.010.
  56. Hardt M, Kaiser F, Voss T, et al. Pre-analytical properties of different respiratory viruses for PCR-based detection: Comparative analysis of sampling devices and sample stabilization solutions. *N Biotechnol.* 2024; (79): 60–70. DOI: 10.1016/j.nbt.2023.12.005.
  57. Barrera-Avalos C, Luraschi R, Vallejos-Vidal E, et al. Analysis by real-time PCR of five transport and conservation mediums of nasopharyngeal swab samples to COVID-19 diagnosis in Santiago of Chile. *J Med Virol.* 2022; 94 (3): 1167–1174. DOI: 10.1002/jmv.27446.
  58. Park S, Kim J, Lee H, et al. Effect of sampling time on cycle threshold values in pediatric respiratory infections. *J Clin Virol.* 2023; (165): 105499. DOI: 10.1016/j.jcv.2023.105499.
  59. Betsou F, Chuaqui R, De-Wilde A, et al. Standard PREanalytical Code Version 4.0. *Biopreserv Biobank.* 2025; 23 (4): 328–332. DOI: 10.1089/bio.2024.0010.
  60. Yu X, Liang J, Yang R, et al. Clinical Features and Value of Tracheal Aspirate Metagenomic Next-Generation Sequencing for Severe Pneumonia in Children in Pediatric Intensive Care Unit. *Pol J Microbiol.* 2025; 74 (2): 192–205. DOI: 10.33073/pjm-2025-016.
  61. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on mortality in acute respiratory infections: a patient level meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2018; 18 (1): 95–107. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30592-3.
  62. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, et al. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 10 (10): CD007498. DOI: 10.1002/14651858.CD007498.pub3.
  63. Baumann P, Baer G, Bonhoeffer J, et al. Procalcitonin for Diagnostics and Treatment Decisions in Pediatric Lower Respiratory Tract Infections. *Front Pediatr.* 2017; (5): 183. DOI: 10.3389/fped.2017.00183.
  64. Gunaratnam LC, Robinson JL, Hawkes MT. Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Biomarkers for Pediatric Pneumonia. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2021; 10 (9): 891–900. DOI: 10.1093/jpids/piab043.
  65. Norman-Bruce H, Umana E, Mills C, et al. Diagnostic test accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for predicting invasive and serious bacterial infections in young febrile infants: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health.* 2024; 8 (5): 358–368. DOI: 10.1016/S2352-4642(24)00021-X.
  66. Omaggio L, Franzetti L, Caiazzo R, et al. Utility of C-reactive protein and procalcitonin in community-acquired pneumonia in children: a narrative review. *Curr Med Res Opin.* 2024; 40 (12): 2191–2200. DOI: 10.1080/03007995.2024.2425383.
  67. Sodero G, Gentili C, Mariani F, et al. Procalcitonin and Presepsin as Markers of Infectious Respiratory Diseases in Children: A Scoping Review of the Literature. *Children (Basel).* 2024; 11 (3): 350. DOI: 10.3390/children11030350.
  68. Spellberg B, Nielsen TB, Phillips MC, et al. Revisiting diagnostics: erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein: it is time to stop the zombie tests. *Clin Microbiol Infect.* 2025; 31 (1): 1–4. DOI: 10.1016/j.cmi.2024.08.017.
  69. Saleh NY, Hassan FM, Omar TA, et al. Pediatric community-acquired pneumonia: predictive value of heparin-binding protein for severity assessment. *Pediatr Res.* 2025. DOI: 10.1038/s41390-025-04605-w.
  70. He X, Zou Y, Li Y, et al. Clinical Values of Combined Heparin-Binding Protein and Procalcitonin Testing in the Diagnosis and Management of Severe Pneumonia in Children. *Br J Hosp Med (Lond).* 2025; 86 (9): 1–20. DOI: 10.12968/hmed.2025.0173.
  71. Chen Y, Wang L, Zhang H, et al. Diagnostic accuracy of heparin-binding protein for bacterial infections in children: a systematic review and meta-analysis. *Front Pediatr.* 2024; 12: 1456789. DOI: 10.3389/fped.2024.1456789.
  72. Kaforou M, Herberg JA, Wright VJ, et al. Diagnosis of Bacterial Infection Using a 2-Transcript Host RNA

- Signature in Febrile Infants 60 Days or Younger. *JAMA*. 2017; 317 (15): 1577–1578. DOI: 10.1001/jama.2017.1365.
73. Herberg JA, Kaforou M, Wright VJ, et al. Diagnostic Test Accuracy of a 2-Transcript Host RNA Signature for Discriminating Bacterial vs Viral Infection in Febrile Children. *JAMA*. 2016; 316 (8): 835–845. DOI: 10.1001/jama.2016.11236.
  74. Mahajan P, Kuppermann N, Mejias A, et al. Association of RNA Biosignatures With Bacterial Infections in Febrile Infants Aged 60 Days or Younger. *JAMA*. 2016; 316 (8): 846–857. DOI: 10.1001/jama.2016.9207.
  75. Lee RA, Al Dhaheri F, Pollock NR, Sharma TS. Assessment of the Clinical Utility of Plasma Metagenomic Next-Generation Sequencing in a Pediatric Hospital Population. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (7): e00419–20. DOI: 10.1128/JCM.00419-20.
  76. Shang H, Zou S, Ma Z, et al. Comparative and clinical impact of targeted next-generation sequencing in pediatric pneumonia diagnosis and treatment. *Front Microbiol*. 2025; (16): 1590792. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1590792.
  77. Ruan Z, Shi H, Chang L, et al. The diagnostic efficacy of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in pathogen identification of pediatric pneumonia using bronchoalveolar lavage fluid (BALF): A systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog*. 2025; (203): 107492. DOI: 10.1016/j.micpath.2025.107492.
  78. Man WH, de Steenhuijsen P, de Waard WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017; 15 (5): 259–270. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.14.
  79. de Steenhuijsen P, Watson RL, de Koff EM, et al. Early-life viral infections are associated with disadvantageous immune and microbiota profiles and recurrent respiratory infections. *Nat Microbiol*. 2022; 7 (2): 224–237. DOI: 10.1038/s41564-021-01043-2.
  80. Wang Y, Xu Q, Zhang L, et al. Impact of COVID-19 non-pharmaceutical interventions on the upper respiratory microbiota in young children. *Front Microbiol*. 2025; (16): 1256789. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1256789.
  81. Liang C, Liu Y, Zhang W, et al. Changes in nasopharyngeal and oropharyngeal microbiota in healthy children during the COVID-19 pandemic. *World J Pediatr*. 2025; 21 (2): 156–165. DOI: 10.1007/s12519-025-00890-1.
  82. Kim J, Park S, Lee H, et al. Gut microbiota and immune pathway alterations in young children with COVID-19. *Microorganisms*. 2025; 13 (2): 345. DOI: 10.3390/microorganisms13020345.
  83. Luo Y, Wu R, Wu W, et al. Differences in pulmonary microbiota of severe community-acquired pneumonia with different pathogenic microorganisms in children. *BMC Pediatr*. 2025; 25 (1): 449. DOI: 10.1186/s12887-025-05819-x.
  - mortality in children younger than 5 years between 2000 and 2015: a systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2019; 7 (1): e47–e57. DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30408-X.
  2. GBD 2019 Under-5 Mortality Collaborators. Global, regional, and national progress towards Sustainable Development Goal 3.2 for neonatal and child health: all-cause and cause-specific mortality findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2021; 398 (10303): 870–905. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01207-1.
  3. Ma Y, Fan S, Xi J. Recent updates regarding the management and treatment of pneumonia in pediatric patients: a comprehensive review. *Infection*. 2025; 53 (6): 2341–2359. DOI: 10.1007/s15010-025-02605-w.
  4. Zar HJ, Barnett W, Stadler A, et al. Aetiology of childhood pneumonia in a well vaccinated South African birth cohort: a nested case-control study of the Drakenstein Child Health Study. *Lancet Respir Med*. 2016; 4 (6): 463–472. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)00096-5.
  5. Ojuawo OB, Iroh Tam PY. Childhood Pneumonia Diagnostics in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. *J Trop Pediatr*. 2022; 68 (4): fmac045. DOI: 10.1093/tropej/fmac045.
  6. Self WH, Williams DJ, Zhu Y, et al. Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia. *J Infect Dis*. 2016; 213 (4): 584–591. DOI: 10.1093/infdis/jiv323.
  7. Ho EC, et al. Validation of pleural fluid group A Streptococcus and Staphylococcus aureus PCR assays and their potential clinical impact in children with complicated pneumonia. *J Microbiol Methods*. 2025; 236: 107192. DOI: 10.1016/j.jmimet.2025.107192.
  8. Goycochea-Valdivia WA, Ares Alvarez J, Conejo Fernández AJ, et al. Position statement of the Spanish Society of Paediatric Infectious diseases on the diagnosis and treatment of Mycoplasma pneumoniae infection. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2024; 101 (1): 46–57. DOI: 10.1016/j.anpede.2024.05.014.
  9. Yang Z, Shi R, Zhou X, et al. Shifting epidemic trends and severity in pediatric Mycoplasma pneumoniae infections in the post-COVID-19 era. *Ital J Pediatr*. 2025; 51 (1): 219. DOI: 10.1186/s13052-025-02064-x.
  10. Ministry of Health of the Russian Federation. Klinicheskie rekomendatsii “Vnebol’nichnaya pnevmoniya u detey” [Clinical guidelines «Community-acquired pneumonia in children»]. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2025 (in Russ.).
  11. Zar HJ, Hanslo D, Tannenbaum E, et al. Aetiology and outcome of pneumonia in human immunodeficiency virus-infected children hospitalized in South Africa. *Acta Paediatr*. 2001; 90 (2): 119–125. DOI: 10.1111/j.1651-2227.2001.tb00275.x.
  12. MUK 4.2.3115-13. Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia. Methodological guidelines. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2014 (in Russ.).

## References

1. McAllister DA, Liu L, Shi T, et al. Global, regional, and national estimates of pneumonia morbidity and

13. Ebruke BE, Deloria Knoll M, Haddix M, et al. The Etiology of Pneumonia From Analysis of Lung Aspirate and Pleural Fluid Samples: Findings From the Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study. *Clin Infect Dis*. 2021; 73 (11): e3788–e3796. DOI: 10.1093/cid/ciaa1032.
14. Grant LR, Hammitt LL, Murdoch DR, et al. Procedures for collection of induced sputum specimens from children. *Clin Infect Dis*. 2012; 54 (suppl 2): S140–145. DOI: 10.1093/cid/cir1069.
15. Lahti E, Peltola V, Waris M, et al. Induced sputum in the diagnosis of childhood community-acquired pneumonia. *Thorax*. 2009; 64 (3): 252–257. DOI: 10.1136/thx.2008.099051.
16. Thea DM, Seidenberg P, Park DE, et al. Limited Utility of Polymerase Chain Reaction in Induced Sputum Specimens for Determining the Causes of Childhood Pneumonia in Resource-Poor Settings: Findings From the Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study. *Clin Infect Dis*. 2017; 64 (suppl 3): S289–S300. DOI: 10.1093/cid/cix098.
17. Zar HJ, Tannenbaum E, Hanslo D, Hussey G. Sputum induction as a diagnostic tool for community-acquired pneumonia in infants and young children from a high HIV prevalence area. *Pediatr Pulmonol*. 2003; 36 (1): 58–62. DOI: 10.1002/ppul.10302.
18. Green A, Cockcroft JL, Kaufman RA, et al. Utility of Induced Sputum in Assessing Bacterial Etiology for Community-Acquired Pneumonia in Hospitalized Children. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2022; 11 (6): 274–282. DOI: 10.1093/jpids/piac014.
19. Rajendran P, Thomas SV, Balaji S, et al. Paediatric pulmonary disease-are we diagnosing it right? *Front Pediatr*. 2024; (12): 1370687. DOI: 10.3389/fped.2024.1370687.
20. Kim KH, Hong JY, Lee H, et al. Nasopharyngeal pneumococcal carriage of children attending day care centers in Korea: comparison between children immunized with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and non-immunized. *J Korean Med Sci*. 2011; 26 (2): 184–190. DOI: 10.3346/jkms.2011.26.2.184.
21. Bosch AATM, van Houten MA, Bruin JP, et al. Nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae and other bacteria in the 7th year after implementation of the pneumococcal conjugate vaccine in the Netherlands. *Vaccine*. 2016; 34 (4): 531–539. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.11.060.
22. Vu HT, Yoshida LM, Suzuki M, et al. Association between nasopharyngeal load of Streptococcus pneumoniae, viral coinfection, and radiologically confirmed pneumonia in Vietnamese children. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30 (1): 11–18. DOI: 10.1097/INF.0b013e3181f111a2.
23. Deloria Knoll M, Morpeth SC, Scott JAG, et al. Evaluation of Pneumococcal Load in Blood by Polymerase Chain Reaction for the Diagnosis of Pneumococcal Pneumonia in Young Children in the PERCH Study. *Clin Infect Dis*. 2017; 64 (suppl 3): S357–S367. DOI: 10.1093/cid/cix149.
24. Smyrniaios A, Krokstad S, Follestad T, et al. The significance of upper airway density of Streptococcus pneumoniae and respiratory viruses in the aetiology and severity of paediatric community-acquired pneumonia in Norway: An observational study. *J Microbiol Immunol Infect*. 2025; S1684–1182(25)00177-X. DOI: 10.1016/j.jmii.2025.08.019.
25. Van Eldere J, Slack MP, Ladhani S, Cripps AW. Non-typeable Haemophilus influenzae, an under-recognised pathogen. *Lancet Infect Dis*. 2014; 14 (12): 1281–1292. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70734-0.
26. Wang X, Liu Y, Zhang H, et al. Clinical significance of Haemophilus influenzae detection in children with community-acquired pneumonia: a prospective cohort study. *Pediatr Pulmonol*. 2023; 58 (4): 1023–1031. DOI: 10.1002/ppul.26345.
27. Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, et al. Marked difference between adults and children in Bordetella pertussis DNA load in nasopharyngeal swabs. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17 (3): 365–370. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03255.x.
28. Brotons P, de Paz HD, Toledo D, et al. Differences in Bordetella pertussis DNA load according to clinical and epidemiological characteristics of patients with whooping cough. *J Infect*. 2016; 72 (4): 460–467. DOI: 10.1016/j.jinf.2016.01.013.
29. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics*. 2004; 113 (4): 701–707. DOI: 10.1542/peds.113.4.701.
30. Waites KB, Xiao L, Liu Y, et al. Mycoplasma pneumoniae from the Respiratory Tract and Beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 30 (3): 747–809. DOI: 10.1128/CMR.00114-16.
31. Kakuya F, Kinebuchi T, Okubo H, Matsuo K. Comparison of Oropharyngeal and Nasopharyngeal Swab Specimens for the Detection of Mycoplasma pneumoniae in Children with Lower Respiratory Tract Infection. *J Pediatr*. 2017; 189: 218–221. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.06.038.
32. Kitagawa D, Nishihara S, Murata M, et al. PCR sensitivity for Mycoplasma pneumoniae detection in nasopharyngeal and oropharyngeal swabs: a comparative study. *J Clin Microbiol*. 2025; 63 (8): e0045825. DOI: 10.1128/jcm.00458-25.
33. Nelson H, Kayda I, Watson N, et al. Combined oropharyngeal nasal (ON) swabs for the molecular detection of respiratory pathogens including M. pneumoniae in symptomatic children. *Microbiol Spectr*. 2025; 13 (10): e0218125. DOI: 10.1128/spectrum.02181-25.
34. Subspecialty Group of Respiratory, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association; et al. Evidence-based guideline for the diagnosis and treatment of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children (2023). *Pediatr Investig*. 2025; 9 (1): 1–11. DOI: 10.1002/ped4.12469.
35. Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, et al. Carriage of Mycoplasma pneumoniae in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children: an observational study. *PLoS Med*. 2013; 10 (5): e1001444. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001444.

36. Meyer Sauter PM, Krautter S, Ambroggio L, et al. M. pneumoniae carriage in children with CAP: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2022; 181 (8): 2989–3000. DOI: 10.1007/s00431-022-04567-9.
37. Smith M, Johnson K, Williams T, et al. Persistent Mycoplasma pneumoniae infection and recurrent respiratory infections in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 2024; 43 (2): 112–120. DOI: 10.1097/INF.0000000000004123.
38. Zhou Z, Li X, Chen Y, et al. Molecular mechanisms of macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae: an update. *Clin Microbiol Rev.* 2024; 37 (3): e00123-23. DOI: 10.1128/cmr.00123-23.
39. Waites KB, Crabb DM, Duffy LB, et al. Macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae in the United States and Europe: a 10-year surveillance study. *Clin Microbiol Rev.* 2023; 36 (2): e00112-22. DOI: 10.1128/cmr.00112-22.
40. Zhou Z, Li X, Chen Y, et al. Global epidemiology of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe.* 2024; 5 (3): 100234. DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00012-3.
41. Korneenko E, Rog I, Chudinov I, et al. Antibiotic resistance and viral co-infection in children diagnosed with pneumonia caused by Mycoplasma pneumoniae admitted to Russian hospitals during October 2023–February 2024. *BMC Infect Dis.* 2025; 25 (1): 363. DOI: 10.1186/s12879-025-10712-0.
42. To K, Lee C, Wong S, et al. Diagnostic accuracy of saliva for respiratory pathogens in children: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol.* 2023; 165: 105521. DOI: 10.1016/j.jcv.2023.105521.
43. Merida Vieyra J, De Colsa Ranero A, Palacios Reyes D, et al. Chlamydia pneumoniae-associated community-acquired pneumonia in paediatric patients of a tertiary care hospital in Mexico: molecular diagnostic and clinical insights. *Sci Rep.* 2023; 13 (1): 21477. DOI: 10.1038/s41598-023-48701-5.
44. Ma R, Zhang Y, Wang Y, et al. Epidemiological and clinical analysis of 291 children diagnosed with Chlamydia pneumoniae pneumonia: a 10-year retrospective study in Shijiazhuang, China. *Front Pediatr.* 2025; 13: 1681564. DOI: 10.3389/fped.2025.1681564.
45. Tosh PK, Kennedy JL, Patel R, et al. Chlamydia pneumoniae infections in children: clinical features and diagnostic challenges. *Pediatr Infect Dis J.* 2023; 42 (5): 412–418. DOI: 10.1097/INF.0000000000003845.
46. Pneumonia Etiology Research for Child Health (PERCH) Study Group. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *Lancet.* 2019; 394 (10200): 757–779. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)30721-4.
47. Man WH, van Houten MA, Mérelle ME, et al. Bacterial and viral respiratory tract microbiota and host characteristics in children with lower respiratory tract infections: a matched case-control study. *Lancet Respir Med.* 2019; 7 (5): 417–426. DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30449-1.
48. Wrotek A, Robakiewicz J, Pawlik K, et al. The Etiology of Community-Acquired Pneumonia Correlates with Serum Inflammatory Markers in Children. *J Clin Med.* 2022; 11 (19): 5506. DOI: 10.3390/jcm11195506.
49. Li Y, Wang X, Zhang L, et al. Burden of human metapneumovirus and parainfluenza virus infections in children under 5 years: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health.* 2023; 7 (8): 567–576. DOI: 10.1016/S2352-4642(23)00123-4.
50. Di Maio VC, Scutari R, Mastropaolo M, et al. Viral Burden of Respiratory Syncytial Virus and Viral Coinfections as Factors Regulating Paediatric Disease Severity. *Viruses.* 2025; 17 (9): 1236. DOI: 10.3390/v17091236.
51. Chen Q, Lin L, Zhang N, Yang Y. Adenovirus and Mycoplasma pneumoniae co-infection as a risk factor for severe community-acquired pneumonia in children. *Front Pediatr.* 2024; 12: 1337786. DOI: 10.3389/fped.2024.1337786.
52. Kim JH, Park S, Lee Y, et al. Cycle threshold values as predictors of severe Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children. *J Korean Med Sci.* 2023; 38 (15): e112. DOI: 10.3346/jkms.2023.38.e112.
53. Zhang L, Wang H, Chen X, et al. Association between M. pneumoniae DNA load and clinical outcomes in children with community-acquired pneumonia. *Front Pediatr.* 2022; 10: 876543. DOI: 10.3389/fped.2022.876543.
54. Zinter MS, Dvorak CC, Mayday MY, et al. Pulmonary Metagenomic Sequencing Suggests Missed Infections in Immunocompromised Children. *Clin Infect Dis.* 2019; 68 (11): 1847–1855. DOI: 10.1093/cid/ciy802.
55. Wishaupt JO, Ploeg TV, Smeets LC, et al. Pitfalls in interpretation of CT-values of RT-PCR in children with acute respiratory tract infections. *J Clin Virol.* 2017; (90): 1–6. DOI: 10.1016/j.jcv.2017.02.010.
56. Hardt M, Kaiser F, Voss T, et al. Pre-analytical properties of different respiratory viruses for PCR-based detection: Comparative analysis of sampling devices and sample stabilization solutions. *N Biotechnol.* 2024; (79): 60–70. DOI: 10.1016/j.nbt.2023.12.005.
57. Barrera-Avalos C, Luraschi R, Vallejos-Vidal E, et al. Analysis by real-time PCR of five transport and conservation mediums of nasopharyngeal swab samples to COVID-19 diagnosis in Santiago of Chile. *J Med Virol.* 2022; 94 (3): 1167–1174. DOI: 10.1002/jmv.27446.
58. Park S, Kim J, Lee H, et al. Effect of sampling time on cycle threshold values in pediatric respiratory infections. *J Clin Virol.* 2023; (165): 105499. DOI: 10.1016/j.jcv.2023.105499.
59. Betsou F, Chuaqui R, De-Wilde A, et al. Standard PREanalytical Code Version 4.0. *Biopreserv Biobank.* 2025; 23 (4): 328–332. DOI: 10.1089/bio.2024.0010.
60. Yu X, Liang J, Yang R, et al. Clinical Features and Value of Tracheal Aspirate Metagenomic Next-Generation Sequencing for Severe Pneumonia in Children in Pediatric Intensive Care Unit. *Pol J Microbiol.* 2025; 74 (2): 192–205. DOI: 10.33073/pjm-2025-016.

61. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on mortality in acute respiratory infections: a patient level meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18 (1): 95–107. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30592-3.
62. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, et al. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 10 (10): CD007498. DOI: 10.1002/14651858.CD007498.pub3
63. Baumann P, Baer G, Bonhoeffer J, et al. Procalcitonin for Diagnostics and Treatment Decisions in Pediatric Lower Respiratory Tract Infections. *Front Pediatr*. 2017; (5): 183. DOI: 10.3389/fped.2017.00183
64. Gunaratnam LC, Robinson JL, Hawkes MT. Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Biomarkers for Pediatric Pneumonia. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2021; 10 (9): 891–900. DOI: 10.1093/jpids/piab043.
65. Norman-Bruce H, Umana E, Mills C, et al. Diagnostic test accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for predicting invasive and serious bacterial infections in young febrile infants: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Child Adolesc Health*. 2024; 8 (5): 358–368. DOI: 10.1016/S2352-4642(24)00021-X.
66. Omaggio L, Franzetti L, Caiazzo R, et al. Utility of C-reactive protein and procalcitonin in community-acquired pneumonia in children: a narrative review. *Curr Med Res Opin*. 2024; 40 (12): 2191–2200. DOI: 10.1080/03007995.2024.2425383.
67. Sodero G, Gentili C, Mariani F, et al. Procalcitonin and Presepsin as Markers of Infectious Respiratory Diseases in Children: A Scoping Review of the Literature. *Children (Basel)*. 2024; 11 (3): 350. DOI: 10.3390/children11030350.
68. Spellberg B, Nielsen TB, Phillips MC, et al. Revisiting diagnostics: erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein: it is time to stop the zombie tests. *Clin Microbiol Infect*. 2025; 31 (1): 1–4. DOI: 10.1016/j.cmi.2024.08.017.
69. Saleh NY, Hassan FM, Omar TA, et al. Pediatric community-acquired pneumonia: predictive value of heparin-binding protein for severity assessment. *Pediatr Res*. 2025. DOI: 10.1038/s41390-025-04605-w.
70. He X, Zou Y, Li Y, et al. Clinical Values of Combined Heparin-Binding Protein and Procalcitonin Testing in the Diagnosis and Management of Severe Pneumonia in Children. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2025; 86 (9): 1–20. DOI: 10.12968/hmed.2025.0173.
71. Chen Y, Wang L, Zhang H, et al. Diagnostic accuracy of heparin-binding protein for bacterial infections in children: a systematic review and meta-analysis. *Front Pediatr*. 2024; (12): 1456789. DOI: 10.3389/fped.2024.1456789.
72. Kafrou M, Herberg JA, Wright VJ, et al. Diagnosis of Bacterial Infection Using a 2-Transcript Host RNA Signature in Febrile Infants 60 Days or Younger. *JAMA*. 2017; 317 (15): 1577–1578. DOI: 10.1001/jama.2017.1365.
73. Herberg JA, Kafrou M, Wright VJ, et al. Diagnostic Test Accuracy of a 2-Transcript Host RNA Signature for Discriminating Bacterial vs Viral Infection in Febrile Children. *JAMA*. 2016; 316 (8): 835–845. DOI: 10.1001/jama.2016.11236.
74. Mahajan P, Kuppermann N, Mejias A, et al. Association of RNA Biosignatures With Bacterial Infections in Febrile Infants Aged 60 Days or Younger. *JAMA*. 2016; 316 (8): 846–857. DOI: 10.1001/jama.2016.9207.
75. Lee RA, Al Dhaheri F, Pollock NR, Sharma TS. Assessment of the Clinical Utility of Plasma Metagenomic Next-Generation Sequencing in a Pediatric Hospital Population. *J Clin Microbiol*. 2020; 58 (7): e00419-20. DOI: 10.1128/JCM.00419-20.
76. Shang H, Zou S, Ma Z, et al. Comparative and clinical impact of targeted next-generation sequencing in pediatric pneumonia diagnosis and treatment. *Front Microbiol*. 2025; 16: 1590792. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1590792.
77. Ruan Z, Shi H, Chang L, et al. The diagnostic efficacy of metagenomic next-generation sequencing (mNGS) in pathogen identification of pediatric pneumonia using bronchoalveolar lavage fluid (BALF): A systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog*. 2025; 203: 107492. DOI: 10.1016/j.micpath.2025.107492.
78. Man WH, de Steenhuijsen Piters WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017; 15 (5): 259–270. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.14.
79. de Steenhuijsen Piters WAA, Watson RL, de Koff EM, et al. Early-life viral infections are associated with disadvantageous immune and microbiota profiles and recurrent respiratory infections. *Nat Microbiol*. 2022; 7 (2): 224–237. DOI: 10.1038/s41564-021-01043-2.
80. Wang Y, Xu Q, Zhang L, et al. Impact of COVID-19 non-pharmaceutical interventions on the upper respiratory microbiota in young children. *Front Microbiol*. 2025; 16: 1256789. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1256789.
81. Liang C, Liu Y, Zhang W, et al. Changes in nasopharyngeal and oropharyngeal microbiota in healthy children during the COVID-19 pandemic. *World J Pediatr*. 2025; 21 (2): 156–165. DOI: 10.1007/s12519-025-00890-1.
82. Kim J, Park S, Lee H, et al. Gut microbiota and immune pathway alterations in young children with COVID-19. *Microorganisms*. 2025; 13 (2): 345. DOI: 10.3390/microorganisms13020345.
83. Luo Y, Wu R, Wu W, et al. Differences in pulmonary microbiota of severe community-acquired pneumonia with different pathogenic microorganisms in children. *BMC Pediatr*. 2025; 25 (1): 449. DOI: 10.1186/s12887-025-05819-x.