

А.П. ЧИГИЩЕВ, А.В. ЛЯМИН

Самарский государственный медицинский университет
Кафедра общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У СТАЦИОНАРНЫХ БОЛЬНЫХ

Научный руководитель – профессор А.В. Жестков

Аннотация: Изучена структура этиологически значимых возбудителей внебольничной пневмонии у 98 взрослых пациентов различных возрастных категорий. Уделено большое внимание микробиологическому методу исследования в определении этиологии пневмоний. Впервые в Самарской области приведены данные по исследованию мочи на антигены капсулы пневмококка иммунохроматографическим *in-vitro* тестом Binax NOW® *Streptococcus pneumoniae*.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, микробиологический метод, иммунохроматографический тест.

Summary. The study was made on 98 patients. The structure of etiologically significant pathogens of CAP in adults of different ages is studied. Much attention is paid to microbiological test method in determining the etiology of pneumonia. For the first time in Samara region we presented the data on the study of urine antigen pneumococcal capsule *in-vitro* immunochromatographic test Binax NOW® *Streptococcus pneumoniae*.

Key words: community-acquired pneumonia, microbiological method, immunochromatographic test.

Внебольничные пневмонии (ВП) относятся к наиболее распространенным заболеваниям инфекционной (преимущественно бактериальной) этиологии у людей всех возрастных групп и сопровождаются высокой смертностью, особенно среди лиц пожилого возраста и новорожденных¹. Эволюция представлений о разнообразии этиологической структуры инфекций нижних дыхательных путей происходит параллельно с совершенствованием методов выявления микробных возбудителей и их маркеров, появлением новых технологий.

Согласно национальным рекомендациям по диагностике, лечению и профилактике ВП антибактериальная терапия должна быть назначена в первые 4 часа нахождения пациента в стационаре². У большинства госпитализированных пациентов следует до начала антимикробной терапии провести посев крови на стерильность, микроскопическое и микробиологическое исследование мокроты³.

Однако большое разнообразие возбудителей делает исследование мокроты в рутинной практике затруднительным.

Многие авторы указывают на отсутствие целесообразности исследования мокроты при ВП и рекомендуют ее только при отсутствии эффекта от эмпирической терапии⁴. Также следует отметить, что интерпретация результатов исследования мокроты представляет значительные трудности в практике как врачей клиницистов, так и врачей лабораторной службы.

Такая особенность использования микробиологического метода исследования связана с проблемами анализа мокроты, обусловленными ошибками преаналитического этапа при сборе материала и неправильные условия транспортировки материала в лабораторию. С 2005 года вступили в силу Методические указания «Техника сбора и транспортирования биоматериала в микробиологические МУ 4.2.2039-05. В этом документе приведены подробные инструкции по сбору и транспортировке мокроты для микробиологического исследования, что позволило стандартизировать данный этап исследования. Тем не менее, достаточно серьезной проблемой остаются ошибки ана-

¹ Зубков М.Н., Гутуцидзе Е.Н. Микробиологические аспекты диагностики пневмоний. Пульмонология 1997; №1 С. 41–45.

² Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и соавт. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. КМАХ.2010; 12, №3:12–13.

³ Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и соавт. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. КМАХ.2006; 8:54–86.

⁴ Чучалин А.Г. Респираторная медицина. Руководство. 2007, 220–223.

литического этапа микробиологического исследования, что приводит к серьезному искажению результатов и значительным проблемам в их интерпретации. К данной группе проблем можно отнести: отсутствие современных методических рекомендаций по исследованию мокроты для микробиологических лабораторий, пренебрежение микроскопическим исследованием поступившего материала, нарушение сроков посевов материала в лабораториях, отсутствие критериев клинической значимости при оценке выделенных микроорганизмов, неоправданно длительные сроки исследования, сложности с внедрением новых методов исследования. Все выше перечисленное ставит перед микробиологами и клиницистами задачу оптимизации исследования мокроты у пациентов с ВП с использованием как классических методов исследования, так и внедрения новых методов с высокой степенью специфичности и чувствительности.

Материалы и методы исследования.

Пациенты. Данные для исследования были собраны на базе отделения аллергологии и пульмонологии клиник СамГМУ в период с сентября 2011 по декабрь 2012 г. Всего было обследовано 98 пациентов с установленным диагнозом «внебольничная пневмония» различной локализации. Критериями включения были возраст старше 18 лет, подтвержденные рентгенологическим исследованием инфильтраты в легочной ткани и хотя бы один из следующих симптомов: кашель с мокротой, лихорадка и типичная для ВП аускультативная картина в легких. Исключались пациенты с каким-либо иммунодефицитным состоянием, активным туберкулезом и пациенты, проходившие лечение в стационаре в предшествующие 4 недели до развития данной инфекции или употреблявшие антимикробные химиопрепараты в предшествующие 3 месяца.

Обследованные пациенты были разделены на две группы в соответствии с тяжестью ВП, а именно: нетяжелое течение – 50 человек (51%) и тяжелое течение – 48 человек (49%). При распределении обследованных пациентов по степени тяжести мы руководствовались практическими рекомендациями РРО по диагностике, лечению и профилактике внебольничных пневмоний у взрослых (2010).

Биологический материал (мокрота, моча) собирали в течение 24 часов от момента поступления в стационар и включения в исследование.

Микробиологическое исследование. Для микробиологического исследования собиралась натошак утренняя порция мокроты в стерильные флаконы. В лабораторию собранные образцы доставлялись в изотермических условиях в течение 2-х часов после сбора. Из гнойных участков образцов готовились окрашенные по Граму препараты. Проводилась микроскопия мазков при сто-кратном увеличении для оценки количества

эпителиоцитов и сегменто-ядерных лейкоцитов. Образцы, в которых количество эпителиоцитов не превышало 10, а количество сегменто-ядерных лейкоцитов было более 25 в поле зрения, использовались для дальнейшего исследования.

Мокроту гомогенизировали и готовили десятикратные разведения для посева на питательные среды. Для посева использовали кровяной и шоколадный агары, инкубацию чашек проводили при 37 °С в атмосфере с 5% CO₂. Для создания необходимой концентрации CO₂ использовали газогенерирующие пакеты (BioMérieux). Идентификацию *Streptococcus pneumoniae* проводили по чувствительности к оптохину и желчи (диски HiMedia). Идентификацию *Haemophilus influenzae* осуществляли по определению потребности в факторах X и V у выросших на шоколадном агаре культур. Последующую идентификацию культур проводили с использованием систем для идентификации API® (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии).

Всем пациентам дополнительно проводилось исследование мочи на антигены капсулы пневмококка иммунохроматографическим in-vitro тестом Binax NOW® *Streptococcus pneumoniae*.

Статистика. Полученные цифровые значения обрабатывали методами вариационной статистики. Для оценки полученных результатов использовались среднеарифметическое значение (М) и средняя ошибка средней величины (m). Достоверность различий оценивалась по непарному критерию Стьюдента (t) и уровню значимости (p). За достоверность различий принимались значения p = 0,05; 0,01; 0,001, достоверность различий составляла 95% и более.

Результаты исследования и их обсуждение. Эпидемиология. В исследование включено 98 пациентов с установленным диагнозом внебольничной пневмонии. Было обследовано 54 (55,1%) мужчин и 44 (44,9%) женщины в возрасте от 18 до 83 лет. Средний возраст мужчин составил 47,4 лет, женщин – 58,3 года. Распределение по поло-возрастному признаку отражено в таблице 1.

Этиологически значимый возбудитель был идентифицирован у 41,6% больных (рис. 1). В 11,4% не было роста на питательной среде. В 15,6% не было получено материала для исследования. Оставшиеся 31,4% составили штаммы, которые при росте на питательной среде показывали низкие количественные значения и являлись следствием контаминации образцов слюной.

В возрастной категории от 18 до 30 лет случаи выделения клинически значимой бактериальной флоры составили 18%, в категории 31-40 лет – 40%, 41-50 лет – 50% и в категории свыше 51 года – 45% (рис. 2).

Распределение штаммов в указанных возрастных группах подробно отражено на рисунке 3.

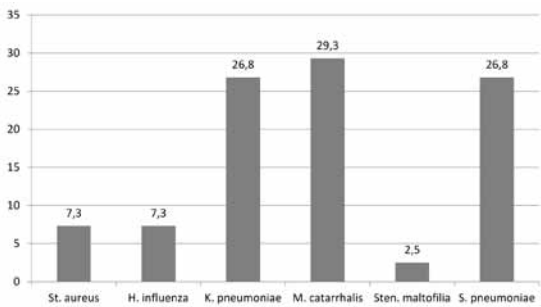


Рис. 1. Общая структура возбудителей ВП (%)

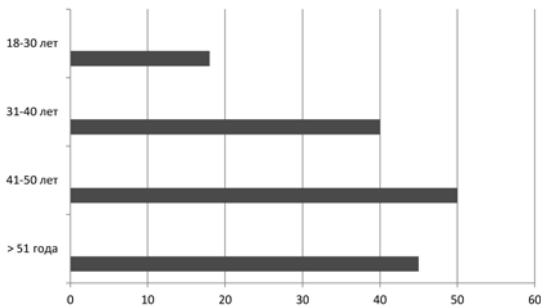


Рис. 2. Выделение клинически значимой бактериальной флоры в возрастных категориях (%)

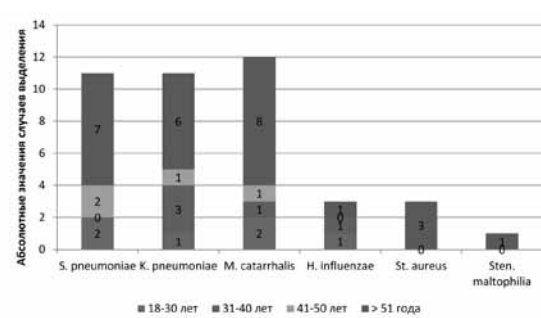


Рис. 3. Распределение возбудителей ВП в возрастных группах

При разделении обследованных пациентов на две группы с нетяжелой и тяжелой пневмонией были выявлены некоторые особенности микробиологического пейзажа мокроты. Так, частота высеваемости моракселлы и клебсиеллы оказалась на одном уровне с пневмококком, что дает предпосылки для дальнейшего изучения данного вопроса. У пациентов с тяжелым течением пневмонии достоверно чаще высевались *S. Pneumoniae* и *M. Catarrhalis*. У пациентов с нетяжелой пневмонией в мокроте чаще обнаруживалась *K. pneumoniae*.

Исследование мочи у пациентов иммунохроматографическим in-vitro тестом Binax NOW® *S. pneumoniae* показало 11 положительных результатов, что составило 11,4% от общей выборки пациентов. Это нашло подтверждение при исследовании мокроты с выделением пневмококков в клинически значимом количестве.

У 6 пациентов с отрицательным результатом Binax NOW® также были выявлены пневмококки в мокроте, однако количество их было в титре ниже клинически значимого, что может свидетельствовать о контаминации мокроты отделяемым слизистой оболочкой верхних дыхательных путей.

Заключение.

1. Преобладающей микрофлорой в этиологической структуре возбудителей пневмонии в данном исследовании являются *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *M. catarrhalis*.

2. При анализе распространенности классических бактериальных возбудителей ВП среди пациентов различных возрастных групп выявлено увеличение случаев выделения клинически значимой флоры с увеличением возраста пациентов.

3. Определение антигенов в моче с помощью иммунохроматографического теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* может быть использовано как скрининговый метод для выявления возможной этиологии ВП и назначения оптимальной антимикробной терапии.