

М.Н.Зубков, Е.Н.Гугуцидзе

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ПНЕВМОНИЙ

ЦИТО им.Н.Н.Пирогова МЗ РФ, Клиническая больница УД АП РФ, Москва

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF PNEUMONIA DIAGNOSIS

M.N.Zubkov, Ye.N.Gugutsidze

Summary

Brief characteristic of the used methods together with the interpretation of complex microbiological examination of patients are given on the basis of the pneumonia cultural and serological diagnosis methods developed by the authors. The problems of the pneumonia etiology and the antibiotic resistance of the pneumotropic pathogens have been considered using authors' investigations and publications.

Резюме

На основе разработанных авторами схем культуральной и серологической диагностики пневмоний дана краткая характеристика используемых методов и трактовка результатов комплексного микробиологического обследования больных. На основании собственных исследований и данных литературы рассмотрены вопросы этиологии пневмоний и антибиотикорезистентности пневмотропных патогенов.

Общепринятая международная и современная отечественная классификация пневмоний предусматривают обязательное установление этиологического диагноза, что существенно повышает требования к уровню микробиологического обследования больных, а разнообразие этиологических агентов и сложность интерпретации результатов бактериологических анализов из-за несовершенства методик диктует необходимость унификации подходов к диагностике инфекций нижних дыхательных путей.

Комплексная диагностика пневмоний. Микрофлора бронхиального секрета, полученного при бронхоскопии, наиболее точно отражает этиологию заболевания. Однако более доступным является исследование мокроты, которая даже при соблюдении всех правил взятия материала (утренняя порция натощак, после гигиенической обработки полости рта, до приема антибиотиков) чаще контаминируется микроорганизмами, вегетирующими на слизистых верхних дыхательных путей, что затрудняет трактовку результатов. Бактериоскопия мазков, окрашенных по Граму, как простой экспресс-метод, с одной стороны, позволяет получить ориентировочное представление о характере микрофлоры для проведения ранней антибиотикотерапии (с последующей ее коррекцией по результатам культуральной диагностики), с другой стороны, по наличию или отсутствию в мазке полиморфноядерных лейкоцитов можно судить о качестве взятия материала. В случае преобладания эпителиальных клеток над "клетками воспаления" посев мокроты производить нецелесообразно, а материал от больного следует взять повторно. Разрешающая способность метода

иммерсионной световой микроскопии для бактерий (объектив $\times 90$) составляет 10^5 кл/мл, что на один порядок ниже их диагностической концентрации.

Проведение посевов из серийных разведений мокроты (полуколичественный метод) увеличивает трудоемкость и стоимость анализа, но является гораздо более информативным по сравнению с исследованием нативного материала, так как выделение микроорганизмов в концентрациях 10^5 кл/мл и выше с высокой долей вероятности подтверждает их этиологическую значимость. Использование питательных сред высокого качества и инкубация посевов в атмосфере повышенного содержания CO_2 , благоприятной для *S.pneumoniae* и *H.influenzae*, способствуют их выделению при незначительном (менее 100 кл/мл) содержании в исследуемом материале.

Однако наиболее диагностически достоверным является выделение гемокультуры. При пневмококковых пневмониях, сопровождающихся в 25—30% случаев бактериемией, чаще в пожилом возрасте, результативность посевов крови в начале заболевания достигает 100%, а длительная бактериемия расценивается как неблагоприятный прогностический признак [7].

Таким образом, оптимальная схема бактериологической диагностики пневмонии должна включать посев бронхиального секрета и крови больного, использование полуколичественного метода исследования мокроты с предварительной бактериоскопией мазков, окрашенных по Граму (рис.1).

Несомненную диагностическую ценность имеют серологические исследования при пневмониях, особенно при их атипичном течении, сопровождающемся скуд-



Рис.1. Схема бактериологического обследования больных при пневмониях.

ным отделением бронхиального секрета. Обнаружение специфических антител в диагностических титрах и изучение их в динамике в парных сыворотках крови позволяет дифференцировать микоплазменные, легионеллезные и хламидийные пневмонии, характеризующиеся сходными клиническими и рентгенологическими проявлениями. (Диагностика вирусных пневмоний, являющихся в Европе наиболее частой причиной легочных инфекций у детей до 5 лет, как правило, обусловленных респираторно-синтициальным вирусом и вирусом парагриппа 3-го типа, в настоящей публикации не рассматривается). В зависимости от имеющихся в лаборатории наборов реагентов используют реакцию связывания комплемента (РСК), непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) или иммуноферментный анализ.

Определение антител к *S.pneumonia* и *H.influenzae* (в РСК или РНИФ) и бактериальной антигенемии (методом встречного иммуноэлектрофореза, в реакции ко-агглютинации), являющейся интегральным показателем инфекционного процесса, повышает достоверность этиологической диагностики пневмоний в сопоставлении с данными бактериологического анализа.

При подозрении на стафилококковую пневмонию, склонную к абсцедированию, или стрептококковую пиогенную инфекцию обнаружение в сыворотке крови стафилококкового антитоксина (АСТ) или антистрептолизина-О (АСЛО) и антистрептогиалуронидазы (АСГ) в диагностических титрах облегчает постановку этиологического диагноза. Однако следует помнить, что у больных, ранее перенесших стафилококковую инфекцию другой локализации, повышенные титры АСТ сохраняются до 6 мес., а максимальные титры АСЛО и АСГ достигаются лишь к концу 3-й недели от начала заболевания и могут быть связаны с ревматической патологией.

При госпитальных пневмониях, где грамотрицательные бактерии играют заметную роль, и для дифференциации суперинфекции от колонизации верхних

дыхательных путей этими микроорганизмами при их обнаружении в мокроте целесообразно определять наличие эндотоксина в плазме крови с помощью Лимулюс-теста. Этот 4-часовой экспресс-метод (основанный на способности лизата, полученного из амёбоцитов краба *Limulus Poliphemus*, преципитировать бактериальный эндотоксин) позволяет диагностировать эндотоксемию, которая часто сопровождает инфекции, вызванные грамотрицательными микробами независимо от их видовой принадлежности.

Таким образом, серологические исследования, включающие разные по механизму и целевому назначению реакции, могут существенно дополнить данные бактериологического анализа, а в ряде случаев (при атипичных пневмониях) они являются ведущими в установлении этиологического диагноза (рис.2).

Этиология пневмоний. По условиям возникновения, характеру этиологических агентов, особенностям течения и тактики антибиотикотерапии пневмонии делят на внебольничные, госпитальные, атипичные и пневмонии, развившиеся на фоне иммунодефицитных состояний.

При внебольничных пневмониях (ВП) частота выделения разных возбудителей зависит от возраста больного, его социально-экономического положения, наличия фоновых заболеваний, времени года. У детей старше 5 лет и у взрослых до 25 лет основным возбудителем ВП считают *M.pneumoniae* [1], которая вызывает заболевания и у пациентов более зрелого возраста. Особенности микоплазменной инфекции являются цикличность и периодичность подъемов заболеваемости через определенные промежутки времени; вспышки и эпидемические подъемы возникают обычно через 4—7 лет, имея достаточно выраженную осенне-зимнюю сезонность. По нашим наблюдениям (1982—1989 гг.), микоплазменная легочная инфекция встречалась в 8—30% случаев в зависимости от эпидемиологической ситуации в разные годы. Однако среди лиц старше 25 лет бактериальная этиология неспецифических заболеваний легких превалирует над вирусной и микоплазменной.

В большинстве случаев гнойные пневмонии с острым началом вызваны пневмококком, частота обнаруже-



Рис.2. Схема серодиагностики пневмоний. АСТ — стафилококковый антитоксин; АСГ — антистрептогиалуронидаза; АСЛО — антистрептолизин О.

Таблица 1

Бактериальные пневмонии у лиц пожилого (n=320) и детского (n=140) возраста

Микроорганизмы	Всего, %		В титре, %	
	взрослые	дети	взрослые	дети
<i>S. pneumoniae</i>	84	92	74	89
<i>S. pyogenes</i>	17	4	14	4
<i>Streptococcus spp.</i>	33	26	27	17
<i>H. influenzae</i>	17	37	15	36
<i>Staphylococcus spp.</i>	28	49	1	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	66	19	14	7
<i>Nonfermentive group</i>	32	7	7	1
<i>Candida</i>	40	15	32	10

ния которого в диагностических титрах в мокроте у лиц пожилого и старческого возраста составляет 74%, а у детей 8—14 лет — 89% ($p > 0,05$; табл.1). Вместе с тем пневмококковая антигенемия, являющаяся (как и длительное выделение гемокультуры) важным прогностическим признаком, у пожилых больных на 2-й и особенно на 3-й неделе заболевания отмечается чаще ($p > 0,05—0,01$), чем у более молодых пациентов (рис.3).

Пневмонии, вызванные *H. influenzae*, у детей занимают второе место после *S. pneumoniae* и встречаются в 2 раза чаще, чем у лиц старше 60 лет (36 и 15% соответственно), что подтверждается результатами серологических исследований [3,4]. Однако этиологическая роль *H. influenzae* (как типизируемых, так и нетипизируемых штаммов) существенно возрастает при ВП у курильщиков и больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких [2]. Третье место в этиологии бактериальных пневмоний многие зарубежные авторы отводят *Moraxella (Branchamella) catarrhalis* [8], значение которой недостаточно освещено в отечественных публикациях.

При бактериологическом исследовании мокроты обращает на себя внимание высокая частота выделения в субдиагностических титрах энтеробактерий, неферментирующих микроорганизмов, грибов рода *Candida*

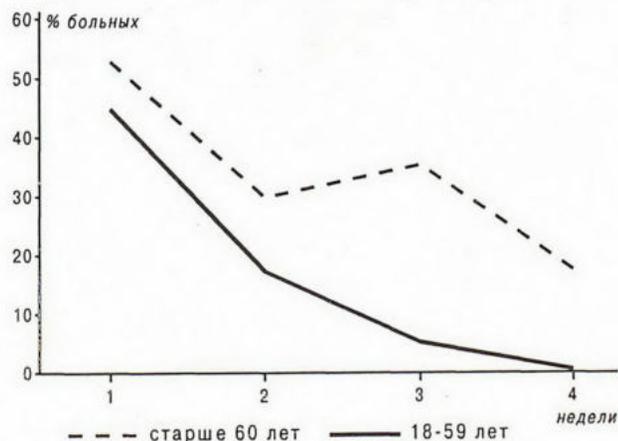


Рис.3. Частота и сроки выявления пневмококковой антигенемии.

у пожилых больных и стафилококков у детей (см. табл.1). Низкие титры этих микроорганизмов позволяют отнести их к колонизирующей микрофлоре верхних дыхательных путей, однако они остаются потенциально опасными в плане развития суперинфекции, особенно у лиц пожилого возраста, составляющих группу риска.

Данные зарубежных авторов подтверждают высокий удельный вес колонизации ротоглотки перечисленными микробами (табл.2), где наиболее значимыми являются стафилококки (35—40%), грамотрицательные бактерии (до 60%) и пневмококки (до 50%), имеющие существенное значение в возникновении аспирационных пневмоний вне стационара.

Частота ВП, вызываемых *Legionella spp.*, составляет 5—20% у больных, нуждающихся в стационарном лечении [1], что согласуется с нашими данными — 7,4% на 645 обследованных пациентов. При внутрибольничных вспышках и спорадических случаях легионеллеза, помимо основного пути заражения, связанного с проникновением мелкодисперсного аэрозоля в легкие человека, для контингентов групп риска показана возможность передачи инфекции с дыханием при респираторной терапии или алиментарным путем (через питьевую воду).

Роль хламидийной инфекции в патологии человека в последние годы в большей степени ассоциируется с урогенитальными инфекциями, вызываемыми *Chlamydia trachomatis*, которая является наиболее важным возбудителем пневмоний в возрасте до 6 мес., вызывающим 30% всей патологии новорожденных. Другой вид — *C. psittacci* — возбудитель орнитоза, в клинической картине которого ведущее место занимает пневмония. По данным различных исследований последних лет количество орнитозных пневмоний невелико — 2,5—6,4%, но достаточно стабильно. Основным фактором распространения пситтакоза является наличие резервуара инфекции в природе среди птиц (не передается от человека к человеку). Около 10% ВП связаны с *Chlamydia pneumoniae* (ранее известной как штамм TWAR), в 0,5—1% случаев вызывающей первичные фарингиты с мягким течением, на фоне которых через 1—3 недели развивается инфекция нижних отделов дыхательных путей [6].

Таблица 2

Частота колонизации ротоглотки условно-патогенными бактериями

Микроорганизмы	Встречаемость, %
<i>Staphylococcus aureus</i>	35—40
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0—9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0—50
<i>Neisseria meningitidis</i>	0—15
<i>Haemophilus influenzae</i>	5—20
Грам(-) бактерии	2—60

Таблица 3

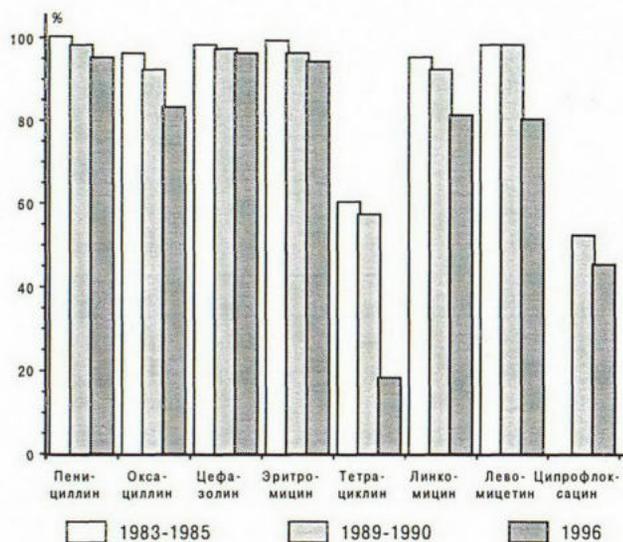
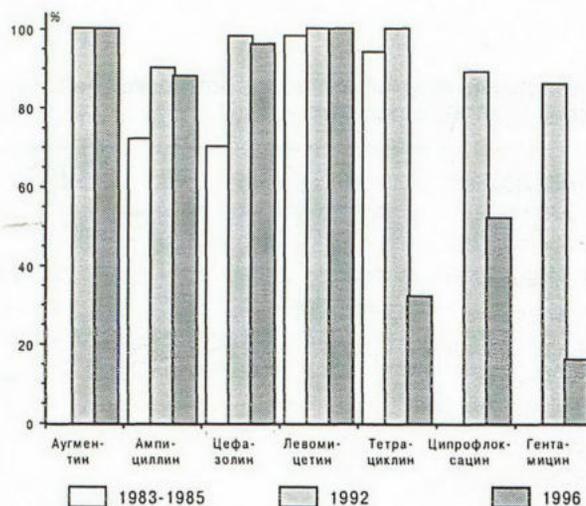
Распространение пенициллинорезистентных пневмококков в странах Европы

Страна	Период наблюдения, годы	% устойчивых изолятов
Венгрия	1988—1989	57,8
Испания	1989	44,3
Румыния	1991	25,0
Франция	1990	12,5
Западная Германия	1979—1980	6,8
Бельгия	1991	3,2
Великобритания	1988—1989	2,5
Швейцария	1984—1985	2,3

Из других зоонозов заслуживает упоминания Кулихорадка, вызываемая *Coxiella burnettii*. Для большинства вспышек и спорадических случаев характерно развитие интерстициальной пневмонии (1—2% от общего числа пневмоний; диагностику осуществляют по выявлению в сыворотке крови комплексов-связывающих антител в титрах 1:16 и выше).

Этиологию госпитальных пневмоний (ГП), прежде всего в блоках интенсивной терапии, чаще связывают с грамотрицательной микрофлорой (*P.aeruginosa* — 16,9%, *Klebsiella spp.* — 11,6%, *Enterobacter spp.* — 9,4%, а также *E.coli*, *Proteus spp.* и *Serratia marcescens*) и *S.aureus* (12,9%) [1]. По другим данным, основанным на исследовании крови, плевральной жидкости и аспирата содержимого трахеи у 159 больных группы риска, грамотрицательные палочки (чаще *Klebsiella*) были возбудителями ГП примерно у половины больных, анаэробы (в основном *Peptostreptococcus*) — в 1/3 случаев и *S.pneumoniae* — в 2/3 случаев [5].

При пневмониях у больных с иммунодефицитом и/или с нейтропенией, помимо пневмококка, стафилококков и факультативных грамотрицательных пато-

Рис.4. Динамика чувствительности *S.pneumoniae* к антибиотикам.Рис.5. Динамика чувствительности *H.Influenzae* к антибиотикам.

генов, нередко встречаются *Pneumocystis carinii* (выявлены у 5—43% больных с лейкозом; более 50% больных СПИДом погибают от пневмоцистоза), атипичные микобактерии, *Nocardia spp.*, грибы, цитомегаловирус (у взрослых цитомегалию в настоящее время принято рассматривать как ВИЧ-маркерную инфекцию), что требует проведения специальных микробиологических исследований.

Антибиотикочувствительность пневмотропных патогенов. Важным этапом культуральной диагностики пневмоний является определение чувствительности выделенных возбудителей к антимикробным препаратам. Однако, учитывая среднюю продолжительность получения результатов при бронхолегочных инфекциях 3—4 дня, для назначения эмпирической антибактериальной терапии в ранние сроки существенным является использование данных мониторинга антибиотикорезистентности ведущих возбудителей.

О прогрессирующем развитии устойчивости пневмококков к пенициллину свидетельствуют данные национального уровня по целому ряду стран (табл.3). Про-

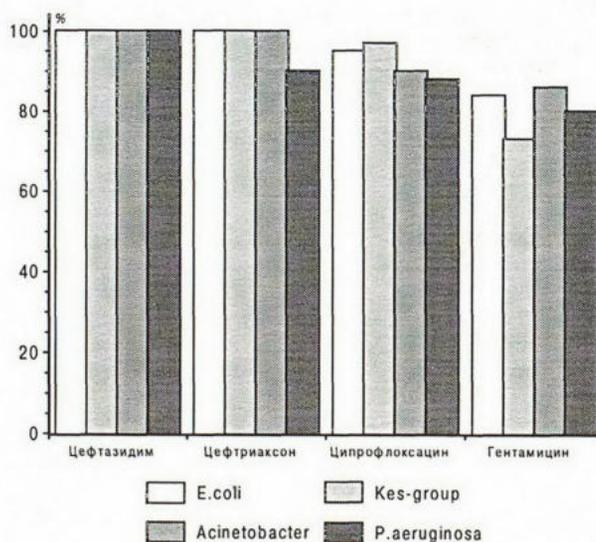


Рис.6. Антибиотикочувствительность грамотрицательных патогенов.

веденный нами в разные периоды наблюдений анализ чувствительности пневмококков к антибиотикам свидетельствует о тенденции нарастания устойчивости к пенициллину (до 5% в 1996 г. по сравнению с 3% в 1990 г. и менее 1% в середине 80-х гг), о более существенной резистентности к линкомицину и хлорамфениколу (до 20%) и резком падении *in vitro* активности тетрациклина (рис.4).

Более резкое снижение чувствительности к отдельным препаратам (тетрациклин, ципрофлоксацин и гентамицин) в динамике по годам отмечается *H.influenzae* (рис.5). Устойчивость к ампициллину колеблется в пределах 10—11%, в то время как аугментин, хлорамфеникол и цефалоспорины 1—2 поколения остаются препаратами выбора при этом виде инфекции.

При сравнении антибиотикочувствительности отдельных представителей грамотрицательной флоры, создающей потенциальную опасность возникновения пневмоний при колонизации верхних дыхательных путей, установлено, что гентамицин уступает цефалоспоридам 3-й генерации в отношении *Klebsiella/Enterobacter/Serratia*, а устойчивость *Acinetobacter* и *P.aeruginosa* к ципрофлоксацину превышает 10% (рис.6). Цефтазидим сохраняет активность по отношению к грамотрицательным изолятам *in vitro* и обладает более выраженным действием на *P.aeruginosa* в сравнении с цефтриаксоном.

Таким образом, проведение комплексной культуральной диагностики пневмоний в сочетании с серологическими исследованиями повышает уровень этио-

логической расшифровки бронхолегочных инфекций, а мониторинг антибиотикочувствительности пневмотропных патогенов способствует проведению обоснованной антимикробной терапии на ранних сроках заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Европейское руководство по клинической оценке противоинфекционных лекарственных средств: Пер. с англ.— Смоленск: Амипресс, 1996.— С.100—101.
2. Зубков М.Н., Гугуцидзе Е.Н., Ноников В.Е. Микробиологическая диагностика неспецифической бронхолегочной инфекции // Актуальные вопросы пульмонологии.— М., 1988.— Ч.1.— С.7—9.
3. Ноников В.Е., Зубков М.Н., Гугуцидзе Е.Н. Пневмококковые пневмонии у лиц старше 69 лет: особенности специфического гуморального иммунитета // Пульмонология.— 1991.— № 1.— С.15—20.
4. Ноников В.Е., Зубков М.Н., Гугуцидзе Е.Н. Этиология острых пневмоний у лиц пожилого и старческого возраста // Тер. арх.— 1990.— № 3.— С.30—33.
5. Bartlett J.G., O'Keefe P., Tally F.P., Louie T.J., Gorbach S.L. Bacteriology of hospital-acquired pneumonia // Arch. Intern. Med.— 1986.— Vol.146.— P.868—871.
6. Marrie T.J. Chlamydia pneumoniae // Thorax.— 1993.— Vol.48, № 1.— P.1—4.
7. Mostow S.R. Pneumonias acquired outside hospital recognition and treatment // Med. Clin. North Am.— 1974.— Vol.58.— P.555—559.
8. Patterson T.E., Patterson J.E. Masecar B.L., Bazden G.E., Hierholzer W.J., Zervos M.J. A nosocomial outbreak of *Branhamella cactarrhalis* confirmed by restriction endonuclease analysis // J. Infect. Dis.— 1988.— Vol.157.— P.996—1001.

Поступила 26.09.96.

От редакции

В предстоящем году редколлегия журнала предполагает выпуск тематических номеров, посвященных: № 1 — пневмониям, № 3 — заболеваниям органов дыхания детского возраста, № 4 — бронхиальной астме. Одновременно готовятся к печати приложение к журналу по теме “Пневмонии — актуальная проблема медицины” (июнь 1997 г.), представляющее собой лекции ведущих специалистов по диагностике и современным подходам к лечению пневмоний, и сборник тезисов 7-го Национального конгресса по болезням органов дыхания (июль 1997 г.).

Во втором полугодии мы приступаем к публикации брошюр серии “В помощь практическому пульмонологу”, которые будут представлять собой адаптированные лекции ведущих специалистов по наиболее актуальным вопросам пульмонологии.

В настоящее время коллективом редакции решается вопрос о вхождении журнала “Пульмонология” в международные индексы цитирования, такие как Index Medicus и Excerpta Medica. Мы полагаем, что уже в этом году статьи наших авторов можно будет найти, воспользовавшись в библиотеках всего мира этими удобными и популярными библиографическими изданиями.
