



Микробиологический мониторинг пневмококковых пневмоний, осложняющих течение ОРВИ у детей Санкт-Петербурга (1990–2013 годы)

А.С. Кветная, Л.И. Железова, О.С. Калиногорская

В статье представлены результаты многолетнего мониторинга (1990–2013 годы) этиологической структуры пневмоний, осложняющих течение острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) у детей в возрасте от 1 мес до 3 лет, находившихся на лечении в отделении капельных инфекций НИИ детских инфекций ФМБА России (Санкт-Петербург) с рентгенологически подтвержденным диагнозом пневмонии, осложнившей течение ОРВИ. Установлено, что основным этиологическим фактором пневмоний, осложняющих течение ОРВИ у детей, по-прежнему является *Streptococcus pneumoniae*: как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с другими этиологически значимыми микроорганизмами. Частота регистрации монопневмококковых пневмоний у детей до 3 лет в 1990-е годы составляла $62,0 \pm 3,4\%$ ($n = 53$), пневмококковых пневмоний смешанной природы (*Streptococcus pneumoniae* в ассоциации с *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*) – $38,0 \pm 2,7\%$ ($n = 32$). В период 2000–2013 годов у детей, переносивших ОРВИ, отмечено снижение более чем в 2 раза частоты монопневмококковых пневмоний ($24,0 \pm 3,2\%$ ($n = 20$)) и увеличение более чем в 2 раза частоты пневмококковых пневмоний ($76,0 \pm 2,9\%$ ($n = 62$), $p < 0,05$), связанных не только с *H. influenzae*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, но и с ранее не диагностируемыми возбудителями врожденных инфекций (*Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma hominis*).

Ключевые слова: дети, острые респираторные вирусные инфекции, пневмония, лабораторная диагностика.

Введение

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) у детей остаются актуальной проблемой здравоохранения. В условиях мегаполиса с выраженными процессами миграции и скученностью населения риск эпидемических вспышек ОРВИ чрезвычайно высокий, особенно среди детей младшего возраста, у которых иммунная система находится в стадии формирования. Ежегодно в России регистрируется от 27,3 до 41,2 млн. больных ОРВИ детей. Проблема ОРВИ у детей усугубляется еще и тем, что тяжелое течение заболевания нередко осложняется бактериальной пневмонией [1–7]. Пневмонии, осложняющие течение ОРВИ, вызывают различные возбудители, этиология которых непосредственно связана с микрофлорой верхних дыхательных путей (ВДП). Известно, что из многочисленных микро-

организмов, колонизирующих ВДП, лишь некоторые, обладающие повышенной вирулентностью, способны при попадании в нижние отделы дыхательных путей вызывать воспалительные реакции. Однако на сегодняшний день этиологический диагноз пневмонии устанавливается только у 1/3 больных. У 2/3 больных пневмония своевременно не распознается и соответствующее лечение не проводится. Низкий уровень этиологической диагностики пневмоний, осложняющих течение ОРВИ у детей, связан с большим потоком противоречивой информации об этиологии пневмоний, с несоблюдением правил забора и сроков доставки биоматериалов в лабораторию, с применением неадекватных методов выделения и идентификации возбудителей пневмоний или их маркеров, а также с отсутствием совместного обсуждения полученных результатов с врачами-бактериологами. Кроме того, к причинам, препятствующим установлению квалифицированного этиологического диагноза бактериальной пневмонии, относятся трудности получения мокроты у детей, контаминация бронхиального содержимого микрофлорой ВДП, применение антибиотиков на догоспитальном этапе и высо-

Отдел микробиологии человека НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург.

Ася Степановна Кветная – профессор, вед. науч. сотр.
Людмила Ильинична Железова – канд. мед. наук, ст. науч. сотр.

Ольга Серафимовна Калиногорская – канд. мед. наук, науч. сотр.



кий уровень носительства этиологически значимых (пневмотропных) патогенов [1, 5].

Целью исследования было выявление современных микробиологических особенностей пневмоний, осложняющих течение ОРВИ у детей младшего возраста в Санкт-Петербурге.

Материал и методы

В периоды 1990–1996 годов ($n = 131$) и 2000–2013 годов ($n = 128$) было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование детей в возрасте от 1 мес до 3 лет, находившихся на лечении в отделении капельных инфекций НИИ детских инфекций ФМБА России (Санкт-Петербург) с рентгенологически установленным диагнозом пневмонии, осложнившей течение ОРВИ. Материалом для исследования служили ларинготрахеальные смывы, браш-биоптаты слизистой ротоглотки и кровь. Исследование биологического материала от больных проводилось в рамках разработанного микробиологического алгоритма лабораторной диагностики пневмоний, осложнивших течение ОРВИ, включающего: метод цитобактериоскопии ларинготрахеальных смывов, методы оценки морфофункционального состояния слизистой ротоглотки с определением уровня местного неспецифического иммуноглобулина А (IgA), полуколичественный метод выделения этиологически значимых микроорганизмов и посев проб крови на стерильность с использованием анализатора культур крови BacT/ALERT-3D (до назначения антибактериальной терапии). Учитывая сложность получения мокроты у детей (особенно раннего возраста), для выделения этиологически значимых микроорганизмов использовали ларинготрахеальные смывы, для забора которых применяли тампоны на гибком держателе (фирмы MicroRheologics, Италия), что позволяло при введении тампона за “язычок” при кашлевом рефлексе получать на тампоне биоматериал из нижних отделов дыхательных путей. Ларинготрахеальные смывы забирали двумя тампонами: один использовали для цитобактериоскопии с последующей окраской по Граму и Романовскому–Гимзе, второй – для первичного посева полуколичественным методом на электро-селективных питательных средах для выделения этиологически значимых микроорганизмов (*Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, бактерий коковой группы *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* и *Streptococcus pyogenes*). Количество микроорганизмов выражали в десятичных логарифмах (lg КОЕ/мл). Для идентификации *S. pneumoniae* применяли тест с 10% дезоксиолатом натрия, тест чувствительности к оптохи-

ну (диски с оптохином, bioMérieux, Франция) и метод латекс-агглютинации с помощью набора Pastorex meningitidis (Bio-Rad, Франция) [7]. Идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли на основе инновационных технологий с использованием уникального оборудования – бактериологического анализатора VITEK 2, масс-спектрометра MALDI-TOF, микроскопа Carl Zeiss. Параллельно для биохимической идентификации и биотипирования *H. influenzae* использовали коммерческие тест-системы ID API NH (bioMérieux). Идентификацию энтеробактерий проводили с использованием тест-систем ENTEROtest 16 (Lachema, Чехия). Чувствительность к антибиотикам исследовали дискодиффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 (Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания) с использованием агара Мюллера–Хинтона и дисков, нагруженных антибиотиками. Выявление в ларинготрахеальном секрете антигенов *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma hominis* проводили в реакции прямой иммунофлюоресценции с использованием диагностикумов “Хлами-Флюороген” и “Мико-гомисис-Флюороген” (“ЭКОлаб”, Россия). Для количественного определения уровня прокальцитонина использовали метод иммунохроматографии (анализатор VIDAS) с применением экспресс-тестов BRAHMS PCT.

Статистическую обработку полученных данных проводили методами описательной, параметрической и непараметрической статистики на персональном компьютере с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Комплексное клиничко-лабораторное обследование было проведено 131 ребенку (1990–1999 годы) и 128 детям (2000–2013 годы) в возрасте от 1 мес до 3 лет с рентгенологически установленным диагнозом пневмонии, осложнившей течение ОРВИ. Согласно рекомендациям Российского респираторного общества, диагноз “пневмония” устанавливался на основании имеющихся у пациента рентгенологических проявлений в легких и двух или более следующих клинических признаков: лихорадка ($\geq 38^\circ\text{C}$), острое начало, кашель с выделением мокроты и физические признаки (фокус крепитации и/или мелкопузырчатые хрипы, бронхиальное дыхание, укорочение перкуторного звука), лейкоцитоз, высокий уровень прокальцитонина [1]. Этиологическую значимость выделенного возбудителя в ларинготрахеальных смывах считали обоснованной в случаях: обнаружения его в условно-диагности-



ческой концентрации ($\geq 10^5$ микробных клеток в 1 мл); повторного высева возбудителя в возрастающей концентрации или исчезновения его в результате этиотропной терапии; нарастания титра соответствующих антител в сыворотке крови в 4 раза и более; наличия клинико-лабораторных и рентгенологических данных, свидетельствующих об осложненном течении ОРВИ [7].

Ранний этиологический диагноз устанавливали на основании результатов микроскопического исследования мазков, полученных из ларинготрахеальных смывов, окрашенных по Граму и Романовскому–Гимзе. Наличие в препарате микробных клеток, морфологически схожих с клетками пневмококка, гемофильной палочки, стафилококка и других возможных возбудителей пневмоний, регистрация деструктивных процессов и нейтрофилов с фагоцитарной активностью по отношению к ним явились основанием для постановки предварительного этиологического диагноза пневмонии. Результаты выявления в цитоплазме эпителиоцитов слизистой ВДП при окрашивании по Романовскому–Гимзе и в реакции иммунофлюоресценции, ретикулярных телец и элементарных телец хламидий или включений *Mycoplasma pneumoniae* являлись основанием для установления хламидийной или микоплазменной природы заболевания. Следует отметить, что у 70% матерей был диагностирован хламидиоз.

При сравнительном анализе было выявлено, что возрастной состав обследованных в периоды 1990–1999 и 2000–2013 годов детей с ОРВИ, осложненной пневмонией, достоверно не различался. В 1990-х годах доля детей до 1 года, переносивших ОРВИ с пневмонией, составляла $15,8 \pm 2,9\%$, в 2000–2013 годах – $13,5 \pm 2,7\%$ ($p > 0,5$), доля детей от 1 до 3 лет – $52,6 \pm 4,0$ и $47,7 \pm 3,7\%$ соответственно. Анализ этиологической структуры пневмоний, осложнивших течение ОРВИ у детей младшего возраста, в 1990-е годы и в период 2000–2013 годов показал, что основным возбудителем по-прежнему является *S. pneumoniae*, который выделялся как изолированно, так и в ассоциациях с другими микроорганизмами ($77,1 \pm 3,4$ и $22,9 \pm 2,7\%$; $45,1 \pm 2,3$ и $54,9 \pm 3,3\%$ соответственно, $p < 0,05$).

Частота выявления монопневмококковых пневмоний у детей до 3 лет в 1990-е годы составляла $62,0 \pm 3,4\%$ ($n = 53$), пневмококковых пневмоний смешанной природы (*S. pneumoniae* в ассоциации с *H. influenzae*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*) – $38,0 \pm 2,7\%$ ($n = 32$). В период 2000–2013 годов у детей, переносивших ОРВИ, отмечено достоверно значимое снижение (более чем в 2 раза) частоты монопневмококковых пневмоний ($24,0 \pm 3,2\%$ ($n = 20$)) и увеличение (более чем в 2 раза) час-

тоты пневмококковых пневмоний ($76,0 \pm 2,9\%$ ($n = 62$)), связанных не только с *H. influenzae*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, но и с ранее не диагностируемыми возбудителями врожденных инфекций (*C. trachomatis* и *M. hominis*).

Результаты оценки биологических свойств выделенных штаммов пневмококка на среде с лецитином свидетельствовали о сохранении видовых и серотиповых свойств у испытуемых штаммов [8]. Средний диаметр колоний пневмококка, выросших на 5% кровяном агаре, после предварительного подрачивания на среде с лецитином составил 1,0–2,5 мм. Испытуемые штаммы пневмококка росли в виде блестящих, полупрозрачных колоний с ровными краями и выраженной зоной α -гемолиза и сохраняли чувствительность к оптохину в концентрации 6 мкг/мл (зона ингибиции роста микроорганизма составила ≥ 18 мм). Микроструктура колоний была представлена диплококками с более выраженной капсулой.

Штаммы *S. pneumoniae*, обуславливающие пневмонию у детей с осложненным течением ОРВИ, относились к определенным серологическим вариантам: серотипам 1, 3, 5, 6, 9, 15 и 18. Доминирующими серологическими вариантами были серотипы 1, 3, 6 и 15, их удельный вес составлял 86,2%. В отличие от клинических изолятов, обуславливающих осложненное течение ОРВИ у детей в 1990-е годы, в период 2000–2013 годов только 30% штаммов были наделены высокой колонизационной активностью. Вместе с тем практически все штаммы пневмококка (93,5% изолятов) обладали высоким уровнем пневмолизина и выраженной капсулой, т.е. факторами, обеспечивающими возбудителю инвазивную и токсические функции.

Проведенные исследования показали, что с 1990 г. постоянно увеличивается удельный вес клинических штаммов пневмококка, устойчивых к пенициллину. Так, в 1990-е годы доля резистентных штаммов к пенициллину составляла 4,7%, а в период 2000–2013 годов – 25,0–29,4%. Удельный вес штаммов пневмококка, резистентных к цефуроксиму, составил в среднем 4,7%, а штаммов, устойчивых к эритромицину, – уменьшился с 17,6 до 5,9%. Все изученные культуры пневмококка были высокочувствительны к цефотаксиму, хлорамфениколу, рифампицину и ванкомицину.

Полирезистентностью (устойчивостью к трем и более классам антибиотиков) обладали 25 (36,8%) из 68 исследованных штаммов *S. pneumoniae*.

Результаты оценки состояния антиинфекционной резистентности слизистой дыхательных путей, основанной на определении степени деструкции эпителиоцитов, индекса инфици-



рования эпителиоцитов слизистой ротоглотки этиологически значимыми микроорганизмами и индекса их адгезии, показателей фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса полиморфно-ядерных лейкоцитов по отношению к клеткам возбудителей, степени микроэкологических нарушений в изучаемой экологической нише организма и уровня местного неспецифического секреторного IgA с использованием флюоресцирующих иммунных сывороток к секреторному IgA (производства НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи), свидетельствовали о развитии глубоких микроэкологических нарушений на слизистой ВДП у детей с пневмонией, осложнившей течение ОРВИ [3]. Спектр этиологически значимых микроорганизмов, активно колонизирующих слизистые дыхательных путей, характеризовался большим разнообразием. Слизистая ВДП была активно колонизирована этиологически значимыми микроорганизмами, такими как типичный возбудитель пневмоний *S. pneumoniae* (30–50% случаев), так называемые “атипичные микроорганизмы” – *C. trachomatis* и *M. hominis* (3–4% случаев), а также условно-патогенные микроорганизмы *H. influenzae* типа b, *S. aureus* и *K. pneumoniae* (3–5% случаев).

У $56,2 \pm 10,2\%$ больных пневмонией, осложнившей течение ОРВИ ($n = 71$), как в 1990-е годы, так и в 2000–2013 годы, имело место развитие глубоких (декомпенсированных форм) микроэкологических нарушений слизистой ротоглотки. Микроструктура слизистой ротоглотки у $63,8 \pm 3,8\%$ больных характеризовалась высокой частотой формирования ассоциаций пневмококка с другими этиологически значимыми микроорганизмами: *S. pneumoniae* + *C. trachomatis* ($51,2\%$ ($n = 44$)), *S. pneumoniae* + *H. influenzae* типа b ($20,9\%$ ($n = 18$)), *S. pneumoniae* + *K. pneumoniae* ($10,5\%$ ($n = 9$)) ($p < 0,05$). Установлена тесная корреляционная связь тяжести течения пневмонии с выраженностью деструктивных изменений слизистой ротоглотки ($p < 0,05$, $r = 0,8$): регистрация в мазках нитей фибрина, эпителиальных клеток с разрыхленной, вакуолинизированной цитоплазмой или остатков разрушенных эпителиоцитов в $12,4 \pm 1,5\%$ случаев. Имело место повышение (в 2–3 раза) колонизационной активности пневмококка на фоне сниженной фагоцитарной активности поли- и мононуклеаров, а также низких показателей, характеризующих колонизационную резистентность слизистой. Полученные результаты использовались в работе как диагностические и прогностические критерии оценки характера течения пневмонии, осложнившей течение ОРВИ у детей.

Заключение

Таким образом, результаты исследований, проведенных в рамках мониторинга, позволили выявить принципиально новые тенденции в эволюции наших представлений о бактериальных пневмониях, осложняющих течение ОРВИ у детей, связанные с активным участием возбудителей врожденных инфекций, доминированием смешанных форм бактериальных пневмоний.

Установлено, что основным этиологическим фактором пневмоний, осложняющих течение ОРВИ у детей, по-прежнему является *S. pneumoniae*: как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с другими этиологически значимыми микроорганизмами. Частота регистрации монопневмококковых пневмоний у детей до 3 лет в 1990-е годы составляла $62,0 \pm 3,4\%$ ($n = 53$), пневмококковых пневмоний смешанной природы (*S. pneumoniae* в ассоциации с *H. influenzae*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*) – $38,0 \pm 2,7\%$ ($n = 32$). В период 2000–2013 годов у детей, переносивших ОРВИ, отмечено снижение более чем в 2 раза частоты монопневмококковых пневмоний ($24,0 \pm 3,2\%$ ($n = 20$)) и увеличение более чем в 2 раза частоты пневмококковых пневмоний ($76,0 \pm 2,9\%$ ($n = 62$), $p < 0,05$), связанных не только с *H. influenzae*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, но и с ранее не диагностируемыми возбудителями врожденных инфекций (*C. trachomatis* и *M. hominis*).

Выраженные деструктивные процессы, низкие показатели колонизационной резистентности слизистой, высокий индекс адгезии пневмококка и других этиологически значимых микроорганизмов, снижение фагоцитарной активности поли- и мононуклеаров, развитие глубоких микроэкологических нарушений на слизистой, отсутствие или низкий уровень секреторного IgA в ВДП – параметры, характеризующие неблагоприятное течение у детей ОРВИ, осложненной пневмококковой пневмонией.

Список литературы

1. Баранов А.А. и др. // Педиатр. фармакол. 2008. Т. 5. № 1. С. 7.
2. Козлов Р.С. Пневмококки: уроки прошлого – взгляд в будущее. Смоленск, 2010.
3. Лобзин Ю.В. и др. // Журн. инфектол. 2009. Т. 1. № 1. С. 23.
4. Ряпис Л.А. и др. // Эпидемиол. и инфекц. бол. 2010. № 1. С. 4.
5. Сидоренко С.В. и др. // Вопр. совр. педиатр. 2010. Т. 9. № 1. С. 54.
6. O'Brien K.L. et al. // Lancet. 2009. V. 374. № 9693. P. 893.
7. Кветная А.С. Микробиологические основы патогенеза пневмококковой инфекции у детей: автореф. дис. ... докт. мед. наук. СПб., 1994.
8. Кветная А.С., Железова Л.И. // Мед. алфавит. Эпидемиол. и гигиена. 2013. № 3. С. 85.