

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Банержи А. Медицинская статистика понятным языком: вводный курс. – М.: Практическая медицина, 2007.
2. Зубков М. Н. // Пульмонология. – 2005. – № 5. – С. 53–60.
3. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2002.
4. Савинова Т. Л. и др. // Клинический микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 79–80.
5. Херрингтон С., Макги Д. Молекулярная клиническая диагностика. Методы: Пер. с англ. – М.: Мир, 1999.
6. Чучалин А. Г. и др. // Клинический микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 186–226.
7. Чучалин А. Г. Внебольничная пневмония у детей: Распространенность, диагностика, лечение и профилактика. – М.: Медицина, 2011.
8. Harris M. et al. // Thorax. – 2011. – Vol. 66 (suppl. 2). – P. 584.
9. Ortqvist A. // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20 (suppl. 36). – P. 40–53.
10. Stralin K., Korgaard J. // Eur. Respir. J. – 2006. – Vol. 28. – P. 568–575.
11. Utine G. E., Pinar A. // Respiration. – 2008. – Vol. 75. – P. 437–442.

Поступила 13.02.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.24-002-022.369-078

С. М. Омарова¹, З. М.-К. Муталипова², З. М. Нурмагомедова¹, Д. Ш. Меджидова², Р. Ю. Юнусова¹, В. Г. Горелова²**ВИДОВОЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В СТАЦИОНАРАХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ МАХАЧКАЛЫ**¹Лаборатория листериоза Филиал ФГУП НПО «Питательные среды» НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России, ²ГОУ ВПО Дагестанская медицинская академия, Махачкала*Наиболее распространенной формой проявления внутрибольничной инфекции (ВБИ) является нозокомиальная пневмония, которая остается ведущей причиной смерти среди всех ВБИ. В отделениях реанимации и интенсивной терапии пневмония составляет более 25% всех ВБИ.**Исследование смывов с различных узлов аппаратов искусственной вентиляции легких в отделениях реанимации и интенсивной терапии хирургических стационаров показало, что чаще (72%) высевалась грамотрицательная микрофлора, которая в последние годы играет ведущую роль в развитии тяжелых форм нозокомиальной пневмонии. На долю грамотрицательных неферментирующих бактерий приходилось 38,8% выделенных культур. Аналогичная микрофлора выделялась и из трахеобронхиальных смывов, что подтверждает возможность распространения инфекции через наркозно-дыхательную аппаратуру.***Ключевые слова:** нозокомиальная пневмония, искусственная вентиляция легких, вентилятор-ассоциированная пневмония, грамотрицательная микрофлора

S.M. Omarova, Z.M.-K. Mutalypova, Z.M. Nurmagomedova, D.Sh. Medjydova, R.Yu. Yunusova, V.G. Gorelova

THE SPECIFIC COMPOUND AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF AGENTS OF NOSOCOMIAL PNEUMONIA ISOLATED IN HOSPITAL SURGERY DEPARTMENTS OF MAKHACHKALA*The nosocomial pneumonia is the most prevailing form of hospital-acquired infection. It is the leading cause of mortality among all forms of hospital-acquired infections. In the departments of resuscitation and intensive therapy nosocomial pneumonia consists more than 25% of all hospital-acquired infections. The analysis of lavages of various components of apparatuses of artificial pulmonary ventilation in the departments of resuscitation and intensive therapy of surgery hospital departments demonstrated that gram-negative micro-flora inoculated more often (72.0%). During last years, this type of micro-flora plays leading part in development of severe forms of nosocomial pneumonia. The gram-negative bacteria consisted up to 38/8% of all isolated cultures. The similar micro-flora was isolated and from tracheobronchial lavages and it confirms the possibility of infection spreading by anesthetic breathing equipment.***Key words:** nosocomial pneumonia, artificial pulmonary ventilation, ventilator-associated pneumonia, gram-negative micro-flora

Актуальной проблемой лечебных учреждений многих экономически развитых и развивающихся стран мира остаются внутрибольничные (нозокомиальные) инфекции (ВБИ) [1–3, 6–9]. Так, в европейских странах их переносят 3–10% пациентов, в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) частота ВБИ составляет 20% [3, 12]. По данным ВОЗ, показатель летальности у больных на фоне развившихся ВБИ повышается в 10 раз [1, 3].

Для корреспонденции:

Омарова Салидат Магомедовна, д-р биол. наук, зав. лаб.
Адрес: 367025, Махачкала, ул. Леваневского, 24
Телефон: 8(8722)67-05-75
E-mail: omarovanpo@mail.ru

Наиболее распространенной клинической формой проявления ВБИ после инфекций мочевых путей является нозокомиальная пневмония (НП) – основная причина смерти среди всех ВБИ [2, 3]. На 1000 больных, находящихся на стационарном лечении, в среднем приходится 5–10 случаев НП [11]. В ОРИТ пневмония составляет более 25% всех инфекций. Для больных, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), риск развития вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП) возрастает в 20 раз [12, 14, 15].

В структуре возбудителей ВБИ преобладают условно-патогенные бактерии (УПБ), циркулирующие в госпитальной среде, характерными особенностями которых являются множественная лекарственная устойчивость и устойчивость по отношению к неблагоприятным факторам внешней среды [3, 9, 13].

НП может быть обусловлена широким спектром возбудителей, из которых наиболее часто встречаются грамо-

трицательные условно-патогенные энтеробактерии (УПЭ) – *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* и другие неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* и др.), грамположительные кокки (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* и др.). В последние годы отмечается рост числа НП, вызванных полимикробной микрофлорой [10, 13]. У больных с ВАП в ОРИТ особенно часто этиологическими агентами являются полирезистентные УПБ [9, 14, 15].

В установлении этиологии НП ведущая роль принадлежит микробиологическим методам исследования, так как они дают возможность выделить и идентифицировать возбудитель, изучить его биологические свойства, определить антибиотикограмму и степень обсемененности материала, назначить адекватную терапию и прогнозировать течение заболевания.

Структура возбудителей НП варьирует в различных стационарах и зависит от типа отделения и тактики применения антибиотиков. В связи с этим чрезвычайно важно осуществлять постоянный мониторинг за селекцией, распространением и антибиотикорезистентностью госпитальных штаммов возбудителей НП, что и определило цель исследования – изучение видового состава и биологических свойств этиологически значимых возбудителей НП, выделенных в стационарах хирургического профиля.

Материалы и методы. Современные рекомендации по ведению пациентов с ВБИ предполагают одновременное использование клинической и бактериологической стратегии в диагностике ВБИ. Бактериологический подход диагностики НП включает в себя своевременное получение и количественное исследование образцов трахеобронхиальных смывов (ТБС) и смывов, полученных с разных узлов аппаратов ИВЛ.

Для решения вопроса о возможности инфицирования больных через наркозно-дыхательную аппаратуру в работе изучена грамотрицательная микрофлора, выделенная с различных узлов оборудования и из ТБС с идентификацией выделенных культур и определением антибиотикограммы. С этой целью в течение 2008–2010 гг. было изучено 468 смывов с различных узлов аппаратов ИВЛ и 274 пробы ТБС у больных с осложнениями заболеваний органов дыхания, находившихся на ИВЛ в ОРИТ и отделениях хирургии.

Забор и доставку патологического материала производили, руководствуясь требованиями к транспортировке клинических проб, в стерильных контейнерах. Бактериологические исследования осуществляли в соответствии с приказом Минздрава СССР от 22.04.85 № 535 и приказом Минздрава СССР от 31.07.78 № 720 «Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилению мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией», Методическими рекомендациями по определению грамотрицательных потенциально патогенных возбудителей внутрибольничных инфекций (М., 1986) и Методическими рекомендациями по бактериологической диагностике синегнойной инфекции (М., 1984).

Выделение, количественное определение (титр КОЕ) и идентификацию возбудителей проводили стандартными бактериологическими методами с использованием сухих питательных сред: сухого питательного агара (СПА), сухого питательного бульона (СПБ), агара Эндо, Кандида-агара, Клебсиелла-агара, ЦПХ-агара производства НПО «Питательные среды» филиала ФГУП НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России (Махачкала) [5]. Для выявления гемолитических свойств выделенных культур применяли 5% кровяной агар, для определений лецитиназной активности – желточно-солевой агар. Чувствительность штаммов к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом в соответствии с МУК 4.2.1890–04.

Видовую идентификацию выделенных из клинических образцов микроорганизмов проводили классическим мето-

дом с использованием дифференциально-диагностических сред (Клиглер-агар, среды Гисса и т. д.); кроме того, для биохимической идентификации выделенных культур также применяли микротест-системы (МТС-М12Е), которые способствовали сокращению времени на проводимые исследования.

С целью оптимизации и усовершенствования бактериологических исследований в схему исследования клинических образцов включены отечественные хромогенные питательные среды производства НПО «Питательные среды» филиала ФГУП НПО «Микроген» Минздравсоцразвития РФ (Махачкала).

Результаты и обсуждение. До настоящего времени активно обсуждается вопрос об основных источниках инфицирования больных в госпитальной среде, которая является отдельной экосистемой [1–4, 9]. По данным литературы, 2/3 случаев НП вызваны грамотрицательными УПБ; более чем в 40% случаев причиной их возникновения становятся руки обслуживающего персонала, которые являются пассивным проводником инфекции при контакте с больными и работе с медицинским оборудованием.

Идентификация микрофлоры, выделенной при исследовании смывов с аппаратов ИВЛ и трахеобронхиальных образцов, выявила большое количество грамотрицательных УПБ. Установлено, что из 468 изученных смывов с различных узлов аппаратов ИВЛ в 169 (36,11%) пробах посевы оказались положительными, выделено 218 культур микроорганизмов разных таксономических групп. Из них в 157 (72%) пробах высевалась грамотрицательная микрофлора, которая в последние годы представляет наибольшую опасность в отношении развития тяжелых форм НП. На долю грамотрицательных неферментирующих бактерий приходилась 61 (38,8%) культура, из них *P. aeruginosa* 43 (70,5%), *Acinetobacter spp.* 18 (29,5%). В 16 (7,33%) случаях выделялась ассоциация грамотрицательной микрофлоры и грибов рода *Candida*.

Выявлено высокое содержание различных микроорганизмов на отдельных узлах дыхательного оборудования. Грамотрицательная микрофлора высевалась главным образом с внутренней поверхности гофрированных шлангов и клапанов вдоха и выдоха. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* чаще выделялись в смывах с внутренней поверхности тройника – 63,7% культур, достоверно чаще, чем с гофрированных шлангов, – 36,3% культур соответственно. Всего выделено 69 культур энтеробактерий, из них *K. pneumoniae* 31 (44,9%), *E. coli* 22 (31,9%), *Enterobacter spp.* 9 (13,0%), *Proteus spp.* 5 (7,2%), *Serratia spp.* 2 (2,9%). Такая микрофлора может вегетировать в полости рта или носоглотке больных и с потоком газовой смеси переноситься в систему наркозного оборудования. Аналогичная микрофлора выделялась и из образцов ТБС, а также в смывах с объектов окружающей среды стационара и рук медицинского персонала в ранее проведенных исследованиях. Этот факт дает возможность предположить, что возбудители инфекций дыхательных путей у больных, находящихся в ОРИТ обследованного хирургического стационара, циркулируют в госпитальной среде.

В результате изучения 274 образцов ТБС выделена 221 культура: 117 (52,9%) – грамотрицательные бактерии, 65 (29,41%) – грамположительные, в 39 (17,6%) случаях выявлена полимикробная ассоциация. Среди грамотрицательной микрофлоры, выделенной из ТБС, у больных с легочной патологией, находившихся на ИВЛ, чаще выделялись грамотрицательные неферментирующие бактерии: *P. aeruginosa* – 52 (67,5%), *Acinetobacter spp.* – 25 (32,46%).

Идентификация и изучение биологических свойств *P. aeruginosa*, значение которых как возбудителей ВБИ растет, показали, что выделенные штаммы синегнойной палочки обладали типичными для вида культуральными и биохимическими свойствами: рост на среде ЦПХ-агар в виде пигментированных колоний (продукция пиоцинина) со

специфическим запахом; грамотрицательные подвижные оксидазоположительные палочки, не ферментирующие глюкозу и разлагающие желатин. В результате серотипирования большинства (73,6%) выделенных культур *P. aeruginosa* как из образцов ТБС, так и из смывов с аппаратов ИВЛ отнесены к серовару О2.

Выделенные при санитарно-микробиологическом исследовании культуры вызывали гемолиз эритроцитов (на чашках с 5% кровяным агаром); особенно часто этот признак отмечали у *E. coli* (70%), *P. vulgaris* (58%), *Klebsiella spp.* (50%), *P. mirabilis* (75%), *S. marcescens* (25%). Тест на ДНКазу у *E. coli* положительным был в 50% случаев, у *S. marcescens* – в 100%, реже ДНКазу обнаружена у бактерий рода *Klebsiella* (в 10%).

Лецитиназная активность выявлена у 30% штаммов *Proteus*. Гиалуронидазу продуцировали почти все выделенные УПЭ, например бактерии родов *Klebsiella*, *Proteus*, в 100% случаев.

С целью усовершенствования микробиологического метода диагностики НП в схему бактериологического исследования клинического материала и смывов с медицинского оборудования включены отечественные хромогенные питательные среды *E. coli* – колиформ-*Proteus*-хром-агар и Клебсиелла-хром-агар, а также полужидкий агар для определения подвижности выделенных культур для изучения их биологических свойств. Это позволило одновременно выделять и идентифицировать основные клинически значимые УПЭ, а именно *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus spp.* и *Enterobacter spp.* на основе выявления специфических ферментов у выделенных энтеробактерий (β -глюкуронидазы *E. coli*, триптофандезаминазы протеев, 5-амино-салицилатдекарбоксилазы клебсиелл). Так как протей, клебсиеллы и *Enterobacter spp.* в 100% обладают указанными видоспецифическими ферментами, а кишечная палочка – не менее чем в 95% случаев то при проведении бактериологического исследования не требуется выполнения дополнительных идентификационных тестов.

Результаты, полученные при идентификации клинических изолятов УПЭ на хромогенных питательных средах, показали, что 98% выделенных штаммов *E. coli* глюкуронидазоположительные, а выявление триптофандезаминазы протеев и 5-аминосалицилатдекарбоксилазы клебсиелл отмечалось в 98–100% случаев.

Применение для микробиологических исследований хромогенных питательных сред повышает диагностическую эффективность проводимых исследований, позволяя одновременно с выделением провести идентификацию клинически значимых энтеробактерий, что значительно ускоряет время постановки диагноза и упрощает работу практических бактериологов.

Грамотрицательные УПБ, выделенные в ОРИТ хирургических стационаров Махачкалы, обладали рядом факторов, определяющих возможность их участия в развитии ВБИ органов дыхания у больных, находящихся на ИВЛ.

Заключение. В последние годы отмечается возрастание роли грамотрицательных микроорганизмов в этиологии НП. Установлена ведущая роль грамотрицательных бакте-

рий (*Klebsiella spp.*, *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*) в возникновении НП в ОРИТ хирургических стационаров Махачкалы. Выявлена идентичная микрофлора при исследовании смывов с аппаратов ИВЛ и образцов ТБС от больных, находящихся на аппаратном дыхании, что подтверждает возможность инфицирования дыхательных путей госпитальными штаммами. Установлены наиболее опасные узлы аппаратов ИВЛ в отношении обсемененности их УПБ, которые могут быть причиной инфицирования пациентов и распространения ВБИ в стационаре. Регулярный мониторинг обсемененности различных узлов аппаратов ИВЛ микроорганизмами требует пристального внимания при проведении их дезинфекции в целях предупреждения развития НП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимкин В.Г. // Эпидемиол. и инфекц. бол. – 2003. – № 5. – С. 15–19.
2. Бодман К.-Ф., Лоренц Дж., Бауэр Т. Т. и др. // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2004. – № 1. – С. 92–102.
3. Внутрибольничные инфекции / Под ред. П. П. Венцела: Пер. с англ. – М.: Медицина, 1990.
4. Зуева Л. П. // Мед. акад. журн. – 2001. – № 2. – С. 54–60.
5. Меджидов М. М. Справочник по микробиологическим питательным средам. – М.: Медицина, 2003.
6. Онищенко Г. Г. // Эпидемиол. и инфекц. бол. – 2002. – № 6. – С. 4–16.
7. Покровский В. И. // Эпидемиол. и инфекц. бол. – 1996. – № 2. – С. 4–9.
8. Покровский В. И., Семин Н. А., Ковалева Е. П. // Эпидемиол. и инфекц. бол. – 2001. – № 3. – С. 4–5.
9. Решедько Г. К., Рябкова Е. Л., Кречикова О. И. и др. // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 163–179.
10. Семин Н. А., Ковалева Е. Н. Состояние эпидемиологического надзора за нозокомиальными инфекциями в России. Материалы международной конф. «Нозокомиальные инфекции отделениях интенсивной терапии». – М., 1998.
11. Combes A., Figliolini C., Trouillet J. L. et al. // Chest. – 2002. – Vol. 121. – P. 1618–1623.
12. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy, and preventive strategies: a consensus statement, American Thoracic Society, November 1995 // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 153. – P. 1711–1725.
13. Hospital-acquired pneumonia Guideline Committee of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 171. – P. 388–416.
14. Lynch J. P. // Chest. – 2001. – Vol. 119, N 2 (suppl.). – P. 373S–384S.
15. National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992–April 2000, issued June 2000 // Am. J. Infect. Control. – 2000. – Vol. 28. – P. 429–448.
16. Rello J., Ollendorf D. A., Oster G. et al. // Chest. – 2002. – Vol. 122. – P. 2115–2121.

Поступила 24.06.11