

С.М. Омарова¹, Д.У. Абсерханова², А.И. Алиева²

**ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ**

¹НПП «Питательные среды» лаборатория «Клинической микробиологии и вирусологии»
г. Махачкала

²ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» Минздрава России

Проблема роста внутрибольничных инфекций у новорожденных в последние годы приобрела исключительно важное значение для всех стран мира. Рост частоты внутрибольничных инфекций в значительной степени происходит за счет новорожденных, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в которых концентрируются наиболее тяжелые новорожденные с перинатальной патологией. Среди внутрибольничных инфекций у новорожденных серьезную проблему в настоящее время представляют госпитальные пневмонии, развивающиеся на фоне искусственной вентиляции легких, частота которых особенно высока у недоношенных детей. Эти пневмонии получили определение «вентилятор-ассоциированные». Частота вентилятор-ассоциированных пневмоний у недоношенных новорожденных составляет от 10 до 45,8 %. Полученные в последние годы материалы свидетельствуют о том, что внутрибольничные пневмонии значительно удлиняют срок пребывания пациентов в стационаре, нанося тем самым большой экономический ущерб, нередко имеют серьезные последствия и летальный исход, что определяет не только медицинскую, но и социальную значимость проблемы.

Ключевые слова: внутрибольничные пневмонии, вентилятор-ассоциированные пневмонии, этиологическая структура, новорожденные, объекты окружающей среды.

S.M. Omarova, D.U. Abserhanova, A.I. Alieva

**THE ETIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF AGENTS OF IN-HOSPITAL PNEUMONIA
DISCOVERED IN NEW-BORN CHILDREN IN THE PERINATAL CENTRE**

The problem of growth of hospital Infections in new-born children acquired a great importance for all countries all over the world. The growth of frequency of hospital Infections significantly occurs because of new-born children, treating in the reanimation and intensive therapy where the most severe new-born children with perinatal pathology are located. The hospital Infections in new-born children have the serious problem because of pneumonia developing on the base of artificial lung ventilation, the frequency of which is high between prematurely new-born children. This pneumonia takes the definition of «ventilator-associated». The frequency of «ventilator-associated» pneumonias is from 10 to 45,8 %. Last years results showed that Nosocomial Infections significantly lengthen the time of staying patients in the hospital, having big economic damage, serious consequences and lethal out-come that determines not only medical but social significance of the problem.

Key words: in-hospital pneumonia, «ventilator-associated» pneumonia, etiological structure, new-born children, environmental objects.

Введение. В последние годы большое значение приобрела проблема роста внутрибольничных инфекций (ВБИ) среди новорожденных, особенно у детей, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), в которых концентрируются наиболее тяжелые пациенты с перинатальной патологией [1, 2, 10, 11].

Большая часть ВБИ у новорожденных приходится на внутрибольничные пневмонии (ВП). Болезни органов дыхания занимают первое место в Российской Федерации в структуре общей заболеваемости детей и третье место среди причин смерти. По мнению ряда авторов, ведущее место в формировании ВП у новорожденных детей принадлежит грамотрицательным условно-патогенным микроорганизмам [4]. Среди возбудителей ВБИ и, в частности, ВП у новорожденных детей, находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии, наибольшее значение имеет *Pseudomonas aeruginosa*, которая выделяется в 31–44 %, а также *Klebsiella pneumoniae* [10].

В последние годы среди возбудителей, определяющих госпитальные вспышки у недоношенных детей, немаловажное место занимают метициллиноустойчивые штаммы *Staphylococcus epidermidis*, вызывающие сепсис, менингит и пневмонии. Зарегистрированы также вспышки ВБИ, вызванные *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter cloacae* и *Serratia marcescens* [2, 4, 10].

Исследования последних лет указывают на возрастающую роль в развитии ВП «атипичных» пневмотропных возбудителей, таких, как *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, респираторных вирусов и др. Доля *M. pneumoniae* в этиологии пневмоний у детей составляет от 20 до 40 % [12].

Среди внутрибольничных инфекций у новорожденных серьезной проблемой сегодня являются внутрибольничные пневмонии, развивающиеся на фоне искусственной вентиляции легких (ИВЛ), частота которых особенно высока у недоношенных детей. Такие пневмонии называются «вентилятор-ассоциированные», их частота у новорожденных составляет от 10 до 45,8 % [2, 4, 5].

Полученные в последние годы материалы свидетельствуют о том, что ВП значительно удлиняют срок пребывания больных в стационаре, нанося тем самым большой экономический ущерб, нередко имеют серьезные последствия и летальный исход, что определяет не только медицинскую, но и социальную значимость проблемы. Летальность при ВП среди новорожденных составляет от 17,3 до 37,5 % [5, 10]. Причиной ВП у недоношенных детей наряду с такими факторами, как незрелость иммунитета, перенесенная внутриутробная гипоксия и асфиксия в родах, большую роль играет циркуляция в отделениях микроорганизмов с множественной устойчивостью к антибиотикам, а также более доступный путь их проникновения в легкие в связи с использованием эндотрахеальной трубки [5].

Цель: изучить этиологическую характеристику возбудителей внутрибольничных пневмоний, выделенных у новорожденных в перинатальном центре.

Материалы и методы исследования. Среди обследованных детей в зависимости от этиологии ВП были выделены 4 группы: в первую группу вошли 35 новорожденных, родившихся с массой тела $2001,5 \pm 182,3$ г, длиной $41,5 \pm 1,0$ см при гестационном возрасте $32,3 \pm 0,7$ недели, возбудителями пневмонии у которых являлась *Pseudomonas aeruginosa*. Вторую группу составили 7 недоношенных детей с массой тела при рождении $2094,3 \pm 298,3$ г, длиной $43,6 \pm 2,4$ см, гестационным возрастом $32,9 \pm 1,1$ недели. У этих новорожденных возбудителем ВП была *Stenotrophomonas maltophilia*. В третью группу вошли 14 недоношенных новорожденных с массой тела при рождении $1832,0 \pm 170,0$ г, длиной $42,0 \pm 1,3$ см и гестационным возрастом $32,9 \pm 0,9$ недели, которые были с ВП, вызванной *Klebsiella pneumoniae*. В четвертую группу были отнесены 15 детей, у которых масса, длина тела и гестационный возраст составили: $1850,3 \pm 215,7$ г, $42,3 \pm 1,7$ см, $31,6 \pm 1,1$ недели, соответственно. Возбудителями ВП у этих новорожденных являлся *Staphylococcus epidermidis*.

Использованы следующие методы исследования: бактериологический – культуральные посеы осуществляли в соответствии с действующим приказом МЗ РФ [9]; фаготипирование – определение фаголизательности штаммов, возбудителей ВБИ «секторным методом» на плотной питательной среде производства НПО «Биомед» ФГУП НПО «Микроген» г. Уфа; антибиотикограмму – чувствительность выделенных культур в отношении антимикробных препаратов определяли в соответствии с указаниями МУК 4.2.1890-04, используя диски с антибиотиками различных фармакологических групп производства НИИЦФ, г. Санкт-Петербург; для постановки реакции плазмокоагуляции использовали кроличью сухую цитратную плазму производства ФГУП «Аллерген» г. Ставрополь; для определения ДНК-азной активности выделенных штаммов применяли питательную среду для изучения ДНК-азы с теллуридиновым синим [3, 13].

Для выделения и идентификации культур микроорганизмов использовали сухие питательные среды производства НПО «Питательные среды» г. Махачкала: сухой питательный агар (СПА), сухой питательный бульон (СПБ), агар Эндо, желточно-солевой агар (ЖСА), ЦПХ – агар (питательная среда для выделения синегнойной палочки), Кандида-агар, Клебсиелла-агар и др. Кроме того, с целью оптимизации и усовершенствования методов микробиологической диагностики ВБИ и, в частности ВП у новорожденных, для бактериологического исследования клинического материала применяли экспериментальные образцы хромогенных питательных сред для прямого выделения и идентификации возбудителей. Такой подход позволял ускорить микробиологическую диагностику инфекции с выделением патогена, что сокращало время постановки антибиотикограммы и начало проведения этиотропной терапии.

Биохимические свойства изолятов определяли с применением микротестсистем (МТС) для видовой идентификации стафилококков (МТС-S) и энтеробактерий (МТС-M12E) производства НПО «Питательные среды» г. Махачкалы и компьютерной программы «Микротестсистемы в лабораторной

диагностике».

Микробиологическое исследование трахеобронхиальных аспиратов (ТБА), крови и мазков со слизистой задней стенки глотки осуществляли стандартным количественным методом на широкий набор питательных сред для выделения аэробных и анаэробных факультативных микроорганизмов. Все бактериальные и грибковые культуры идентифицировали до рода и вида общепринятыми методами. Количество микроорганизмов выражали в следующих единицах: количество колониеобразующих единиц на 1 стандартном тампоне (КОЕ'т) или в 1 мл биологической жидкости (КОЕ/мл) при микробной обсемененности до 1000 клеток; десятичный логарифм (lg) при микробной обсемененности 1000 и более микробных клеток на 1 тампоне или в 1 мл биологической жидкости. Этиологически значимыми считали количество микробных клеток – 10^4 мл для ТБА, – 10^4 мл и выше для мазка со слизистой задней стенки глотки.

Взятие ТБА для выполнения микробиологических исследований осуществляли путем введения в эндотрахеальную трубку 1 мл стерильного физиологического раствора с последующей аспирацией содержимого дыхательных путей. Материал собирали с соблюдением правил асептики: ТБА в стерильные закрытые контейнеры, мазки со слизистой задней стенки глотки и других слизистых оболочек стерильным тампоном в стерильную пробирку, в соответствии с действующими в настоящее время методическими указаниями [8]. Клинические пробы различного происхождения изучали согласно действующим нормативным документам [6, 7].

Результаты исследования и их обсуждение. На основании проведенных комплексных клинических, микробиологических, фармакокинетических исследований получены данные по этиологической структуре внутрибольничных вентилятор-ассоциированных пневмоний у недоношенных новорожденных в перинатальном центре, особенностям клинического течения заболевания в зависимости от возбудителя, фармакокинетики антибактериальных препаратов, с учетом которых была обоснована стратегия антибактериальной терапии.

В результате проведенных исследований было установлено, что этиологическая структура ВП у недоношенных детей представлена широким спектром микроорганизмов. Так, при первичном обследовании большинство из них составили грамотрицательные микроорганизмы (67,0 %), среди них в 36,0 % – энтеробактерии, такие, как *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Ent. cloacae* и другие, в 19,8 % – *P. aeruginosa* и в 8,7 % – *Stenotrophomonas maltophilia*, а также в 1,6 % – *Haemophilus influenzae* и в 0,8 % – *Moraxella* spp. Грамположительные микроорганизмы были обнаружены в 33,0 %, это: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. и др. Редко в этиологически значимом количестве выделялись грибы рода *Candida* (4,0 %).

В работе выявлено, что в сравнении с предыдущими годами в развитии ВП у недоношенных детей наряду с увеличением значения грамотрицательных возбудителей ($p < 0,05$), а также эпидермального стафилококка продолжает уменьшаться роль золотистого стафилококка ($p > 0,05$).

Из клинического материала от 80 обследованных детей было выделено 104 возбудителя в этиологически значимом количестве. У 63,0 % детей была выявлена моноинфекция. Среди обследованных детей у 17 (25,9 %) выделялся *S. epidermidis*, у 15 (22,9 %) новорожденных – *Ps. aeruginosa*, у 11 (16,8 %) – *K. pneumoniae*, у 8 (12,2 %) – *E. coli*, у 4 (6,1 %) – *Sten. maltophilia*, у 6 (9,1 %) – *Enterococcus faecalis* и у 2 (3,0 %) детей – *E. cloacae*. Ассоциации 2-х и более бактериальных микроорганизмов встречались у 65 (33,0 %) детей, это могли быть сочетания энтеробактерии с грамположительными кокками в 26 (14,0 %) случаях, или с псевдомонадами в 12 (6,0 %) случаях, а также грамположительных кокков с псевдомонадами в 14 (7,0 %) случаях. Ассоциации грамположительных кокков с другими грамотрицательными микроорганизмами встречались у 4 (2,0 %) новорожденных. У 8 (4,0 %) новорожденных наблюдалось сочетание бактерий с грибами.

Из 80 детей у 18 новорожденных в возрасте от 5 до 45 дней жизни параллельно изучению ТБА проводилось бактериологическое исследование крови. Среди них у 12 (66,6 %) детей были обнаружены следующие микроорганизмы: *S. epidermidis* в 3 случаях (25,0 %), *P. aeruginosa* также в 3 образцах крови (25,0 %), кроме того у обследованной группы детей было выделено по одному представителю *Candida* spp., *E. faecalis*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens*, каждого изолята по 8,3 %, соответственно. У 2 (16,6 %) новорожденных выделяли сочетания двух микроорганизмов: ассоциации *E. cloacae* и *Sten. maltophilia* у одного (8,3 %) новорожденного и *P. aeruginosa* в сочетании с грибами рода *Candida* у другого (8,3 %) ребенка. Однако только у 6 детей обнаружено совпадение бактериальных возбудителей в ТБА и крови, что составило 18,0 %.

У 8 новорожденных в возрасте от 3 до 17 дней исследовали отделяемое пупочной ранки. Среди них у 7 (87,5 %) детей высевался *S. epidermidis* и у 1 (12,5 %) ребенка *Candida albicans*.

Установлено, что большинство штаммов возбудителей внутрибольничных пневмоний у недоношенных детей имеют биохимические факторы патогенности и обладают резистентностью к широкому спектру антибиотиков.

Особенностью этиологической характеристики ВП у новорожденных детей явилась высокая частота суперинфекции в динамике заболевания (более чем у 1/3 детей) и бактериемия. Так, у 39,4 % детей при микробиологическом исследовании в динамике заболевания происходила смена возбудителя в среднем через $10,0 \pm 0,8$ дней (с колебаниями от 5 до 14 дней), что сопровождалось ухудшением клинического течения заболевания. При этом чаще выделялись: *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Sten. maltophilia* и *S. epidermidis*. Высокая частота суперинфекции может быть связана с незрелостью иммунной системы и организма в целом, циркуляцией в стационаре полирезистентных к антибиотикам микроорганизмов, применением антибактериальных препаратов с профилактической целью, приводящих к селекции высокорезистентных штаммов.

Определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам показало, что у большинства новорожденных ВП была вызвана микроорганизмами, устойчивыми к широкому спектру антибиотиков. Так, большинство штаммов *P. aeruginosa* были резистентными к 11 (73,3 %) из 15 изученных антибиотиков.

Аналогично высокая резистентность к антибиотикам широкого спектра отмечалась и у других грамотрицательных микроорганизмов-возбудителей ВП, таких, как *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Citrobacter* spp., *S. marcescens*, и *Sten. maltophilia*. Так, 7 (10,6 %) штаммов *K. pneumoniae* были резистентными к 10 (66,6 %) из 15 исследуемых антибактериальных препаратов, сохраняли чувствительность преимущественно к имипенему и меропенему и отдельные штаммы были чувствительны к аминогликозидам, к полимиксину, рифампицину и цiproфлоксацину. Штаммы *Sten. maltophilia* были резистентными к 7 (70,0 %) из 10 исследуемых антибиотиков, сохраняли чувствительность к цiproфлоксацину, хлорамфениколу, цефтазидиму. Выделенные штаммы *E. cloacae*, *Citrobacter* spp., *S. marcescens* были устойчивы к 8 (53,5 %) из 15 исследуемых антибиотиков.

Высокой резистентностью также обладали выделенные штаммы грамположительных микроорганизмов, среди которых первое место занимал *S. epidermidis*. Из 15 изученных антибиотиков он сохранял чувствительность только к рифампицину и ванкомицину, а к остальным – был резистентным.

Исследование чувствительности выделенных штаммов *S. aureus* показало, что к 15 (78,9 %) из 19 исследуемых антибиотиков они были резистентными, в том числе к рифампицину, цiproфлоксацину, оксациллину, канамицину и нетилицину.

Высокой резистентностью к антибиотикам обладали штаммы *E. faecalis*, которые были нечувствительны к 15 (78,9 %) из 19 исследуемых антибиотиков, однако все штаммы были чувствительны к ванкомицину.

Выявлено, что только у 18,0 % детей возбудителями ВП были микроорганизмы, в частности, *E. coli*, чувствительные к большинству используемых антибиотиков.

При проведении исследований биохимических свойств выделенных высокорезистентных к антибиотикам штаммов микроорганизмов было выявлено, что все они вырабатывали факторы патогенности. Микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* проявляли высокую ферментативную активность. Так, выделенные штаммы *K. pneumoniae* проявляли гемолитическую, желатиназную, уреазную активность, ассимилировали цитрат. Штаммы *S. aureus* продуцировали ДНК-азу и плазмокоагулазу, вырабатывали гемотоксин. Штаммы *P. aeruginosa* обладали выраженной гемолитической, гиалуронидазной и фосфолипазной активностью.

Установлено, что ВП, развившаяся на фоне ИВЛ, характеризовалась у большинства детей тяжелым течением с выраженным токсикозом, трофическими нарушениями, двусторонним, чаще распространенным поражением легких, дыхательных путей и развитием осложнений как в остром периоде, так и в исходе заболевания.

Заключение. Возбудителями внутрибольничной пневмонии, развившейся на фоне искусственной вентиляции легких у обследованных недоношенных детей, в 69 (67,0 %) исследованных образцах являлись грамотрицательные микроорганизмы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*) и в 34 (33,0 %) образцах – грамположительные (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp.). У большинства новорожденных в 65 случаях (63,0 %) нозокомиальная пневмония являлась монобактериальной инфекцией, а у 1/3 вызывалась ассоциациями двух или трех микроорганизмов. У 41 (39,4 %) ребенка в динамике заболевания происходила смена возбудителя.

Большинство возбудителей нозокомиальной пневмонии у недоношенных детей характеризовались наличием биохимических факторов патогенности и резистентностью к широкому спектру антибиотиков. Чувствительность в отношении большинства протестированных антибиотиков у выделенных возбудителей обнаруживалась лишь у 13,0 % больных.

Список литературы

1. Белобородова, Н. В. Актуальная терапия в педиатрии. Стандарты, алгоритмы, рекомендации / Н. В. Белобородова // Гнойно-септические заболевания у детей : мат-лы городской конференции (г. Москва, 15 марта 2005 г.). – М., 2005. – С. 42.
2. Володин, Н. Н. Актуальность проблемы нозокомиальных инфекций в неонатологии / Н. Н. Володин, С. А. Касихина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 74–79.
3. Лабинская, А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская. – М. : Медицина, 2004. – 576 с.
4. Мардганиева, Э. А. Динамика этиологической структуры тяжелой нозокомиальной пневмонии у детей / Э. А. Мардганиева, Г. Ш. Миронов, Н. М. Нуртдинова и др. // Материалы VIII Всероссийского съезда анестезиологов-реаниматологов (г. Омск, 11–15 сентября 2002 г.). – М., 2003. – С. 36.
5. Мельне, И. О. Эпидемиологические аспекты вентилятор-ассоциированных пневмоний в неонатальном периоде / И. О. Мельне, В. Л. Стасенко, С. В. Новиков, Н. Л. Кмито // Респираторная поддержка на рубеже XXI века : мат-лы международного конгресса (г. Красноярск, 18–20 сентября 2001 г.). – Красноярск, 2001. – С. 76.
6. Методические рекомендации по выделению и идентификации синегнойной палочки / С. Т. Дзюбак. – Ивано-Франковск : Изд-во Ивано-Франковского мед. ин-та, 1983. – 39 с.
7. Методические рекомендации по определению грамотрицательных потенциально патогенных возбудителей внутрибольничных инфекций / Московский НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, Институт хирургии им. А.В. Вишневского, МОЛГНИ им. Н. Н. Пирогова, СЭС Москворецкого р-на г. Москвы. – М., 1986. – 36 с.
8. Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». – М. : Министерство здравоохранения СССР, 1985. – 126 с.
9. Приказ МЗ СССР № 691 от 28.12.1989 г. «О профилактике ВБИ в акушерском стационаре». – М. : Министерство здравоохранения СССР, 1989 – 53 с.
10. Петрухина, М. И. Профилактика внутрибольничных инфекций в родовспомогательных учреждениях / М. И. Петрухина // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2000. – № 5. – С. 27–29.
11. Профилактика внутрибольничных инфекций / под ред. Е. П. Ковалевой, Н. А. Семиной. – М. : Медицина, 1993. – 228 с.
12. Самсыгина, Г. А. Госпитальные пневмонии у детей : этиология и клинко-морфологические особенности / Г. А. Самсыгина, Т. А. Дудина, М. В. Чебышева и др. // Педиатрия. – 2001. – № 1. – С. 5–8.
13. Семина Н. А. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. (Методические указания МУК 4.2.1890-04) / Н. А. Семина, С. В. Сидоренко, С. П. Резван и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.

Омарова Салидат Магомедовна, доктор биологических наук; руководитель лаборатории «Клинической микробиологии и вирусологии», НПП «Питательные среды», Россия, Республика Дагестан, 367015, г. Махачкала, ул. Азиза Алиева, д. 8а, тел.: (8722) 64-27-57, e-mail: omarovanpo@mail.ru.

Абсерханова Джаврият Убайтиновна, ассистент кафедры педиатрии, ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, Республика Дагестан, 367000, г. Махачкала, ул. Ш. Алиева, д. 1а, ул. Ш. Алиева, д. 1а, тел.: (8722) 64-27-57, e-mail: dgma@list.ru.

Алиева Аминат Исагаевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, Республика Дагестан, 367000, г. Махачкала, ул. Ш. Алиева, д. 1а, тел.: (8722) 64-27-57, e-mail: dgma@list.ru.