

Уважаемые читатели!

Начиная с этого номера мы предоставляем украинским врачам возможность эксклюзивно ознакомиться с новой работой президента Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, директора НИИ антимикробной химиотерапии ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», доктора медицинских наук, профессора Романа Сергеевича Козлова – монографией «Пневмококки: взгляд сквозь призму истории».

В 2008-2009 гг. на страницах «Медицинской газеты «Здоров'я України» было опубликовано руководство для врачей «Внебольничные инфекции дыхательных путей» А.И. Синопальникова и Р.С. Козлова, которое, по отзывам специалистов, стало полезным инструментом в их повседневной практической деятельности.

Доктор
медицинских
наук, профессор
Р.С. Козлов



Пневмококки: взгляд сквозь призму истории

Глава 1. Основные эпидемиологические характеристики пневмококковой инфекции

Первые упоминания о клинической значимости пневмококков относятся к концу XIX в. В 1875 г. Э. Клебс впервые описал их наличие в плевральной жидкости у пациентов с пневмонией, а в течение последующих 10 лет была отмечена роль данных бактерий в этиологии инфекций кровотока, ЦНС, почек, среднего уха, суставов, клапанов сердца и перикарда [73]. В 1881 г. Луи Пастер [435] и независимо Дж. Стернберг при изучении механизма передачи бешенства на кроликах зафиксировали фатальную септицемию, вызванную пневмококком, который был выделен из крови в чистой культуре [542]. Кроме того, Пастеру удалось произвести серию пассажей данного микроорганизма, названного им *microbe septicémique du salive*, у кроликов.

Впервые возможная роль пневмококка в этиологии пневмонии была высказана К. Фридендером [253], однако первые убедительные доказательства были получены после разработки метода окрашивания, известного в настоящее время как окраска по Граму [268]. В 1886 г. микроорганизм был назван А. Френкелем пневмококком, что отражало его роль в этиологии пневмонии [250], а опубликованные данные многочисленных наблюдений А. Вейксельбаума [587] и Дж. Стернберга [543] подтвердили ведущую роль данного микроорганизма в этиологии пневмонии.

В 1920 г. пневмококк получил название *Diplococcus pneumoniae*, что соответствовало его морфологии при микроскопии [560], а современное название – *Streptococcus pneumoniae* – стало официальным в 1974 г. [208].

Необходимо отметить, что в современных условиях роль и значение заболеваний, вызываемых пневмококками, не только не снизились, но и существенно увеличились [118].

В настоящее время доказанной является роль *S. pneumoniae* в этиологии инфекций различной локализации. С клинической точки зрения принято выделять инвазивные и неинвазивные формы пневмококковой инфекции. К первым относятся заболевания, при которых возбудитель был выделен из стерильных в норме локусов (например, спинномозговой жидкости, крови и др.) [514]. К неинвазивным инфекциям, соответственно, относятся локально-очаговые поражения (например, обострение хронического бронхита, средний отит, риносинусит и проч.) [34].

Следует отметить, что в 1940-1950 гг. благодаря успехам химиотерапии, в частности широкому внедрению в клиническую практику пенициллина, создалось впечатление о снижении значения пневмококковой инфекции [5, 14, 15, 33, 37]. Однако в настоящее время очевидно недооценка адаптационных и эволюционных возможностей данного микроорганизма [132], которая может быть наглядно проиллюстрирована современными эпидемиологическими данными.

Инвазивные формы пневмококковой инфекции

По данным различных авторов, заболеваемость инвазивными формами пневмококковой инфекции варьирует в пределах 15-24 на 100 тыс. населения [147, 151, 225]. Однако следует отметить, что частота существенно колеблется в различных возрастных группах, являясь максимальной у детей в возрасте до 2 лет. Так, например, если в США общая заболеваемость инвазивными формами пневмококковой инфекции составила 23,2 на 100 тыс. населения [228], то у детей в возрасте до 12 мес этот показатель достиг 165 на 100 тыс., а среди детей 12-13 мес – 203 на 100 тыс. [474]. Наименьшая частота отмечается в возрасте 5-17 лет, однако существенно возрастает до 61 на 100 тыс. у лиц 65 лет и старше [159].

Кроме того, в ряде исследований было показано, что частота инвазивных форм пневмококковой инфекции достигает 5-9 тыс. на 100 тыс. у детей с функциональной и органической асплинией (в частности, с серповидноклеточной анемией), а также с ВИЧ-инфекцией [314, 355, 546, 548, 566].

В группы риска также входят некоторые этнические группы, например аборигены Аляски [559], Австралии

[496], Новой Зеландии [313], афроамериканцы [450] и дети в возрасте до 59 мес, посещающие детские дошкольные учреждения [463], у которых частота вышеуказанных инфекций в среднем в 2-3 раза выше. Кроме того, независимыми факторами риска развития инвазивных форм пневмококковой инфекции являлись курение [170], мужской пол [309, 562], отсутствие естественного вскармливания [456].

Смертность от инвазивных форм пневмококковой инфекции в зависимости от возраста представлена на рисунке 1. Следует отметить, что самые высокие показатели отмечают у детей в возрасте до 1 года и лиц старше 65 лет.

Отдельные инвазивные формы пневмококковой инфекции имеют характерные особенности. Так, например, спонтанная пневмококковая бактериемия наблюдается у 3-5% детей в возрасте 3-36 мес без наличия определенного локуса инфекции, причем единственным клиническим признаком является лихорадка [286, 432].

Наиболее вероятным путем попадания пневмококков в кровь является лимфатическая система, в частности грудной лимфатический проток [395]. Несмотря на то что бактериемия разрешается без осложнений у большинства детей, примерно у 10% она прогрессирует с увеличением числа микроорганизмов до >100 колониеобразующих единиц (КОЕ) в мл, результатом чего может стать развитие осложнений, таких как менингит, пневмония, остеомиелит, артрит, целлюлит и фульминантный сепсис [106, 347]. В целом пневмококки вызывают 70-90% от всех бактериемий у детей различного возраста [412, 566]. Летальность от пневмококковой бактериемии составляет около 20%, однако может увеличиваться до 60% у лиц пожилого возраста [490, 551].

На долю пневмококкового менингита, который чаще всего развивается как осложнение бактериемии и реже мастоидита [395], приходится примерно 50% случаев от общего числа бактериальных менингитов в индустриально развитых странах [230]. Так, например, в США во всех возрастных группах ежегодно регистрируется около 6 тыс. случаев пневмококкового менингита со средней летальностью около 30%, которая может достигать 80% у пожилых людей [176], у детей в возрасте до 5 лет регистрируется 1400 случаев в год, причем частота неврологических нарушений и потери слуха может достигать 25-50% [354]. Следует отметить, что летальность от пневмококкового менингита более чем в 2 раза превышает частоту летальных исходов от менингитов, вызванных *H. influenzae* и *Neisseria meningitidis* [396]. Заболеваемость пневмококковым менингитом на 100 тыс. детей в возрасте до 1 года в Финляндии составляет 7 [226], Израиле – 17 [198], Чили – 27 [227], у аборигенов Новой Зеландии – 102 [313], аборигенов Аляски – 138 [559], в Гамбии – 148 [456], Нигере – 150 [224]. Данные исследований в России на отдельных территориях показали, что на долю пневмококка приходится в среднем 10-25% от общего числа бактериальных менингитов [1, 12, 40, 44, 72]. Существуют также некоторые возрастные особенности заболеваемости пневмококковым менингитом. Так, например, в г. Санкт-Петербурге

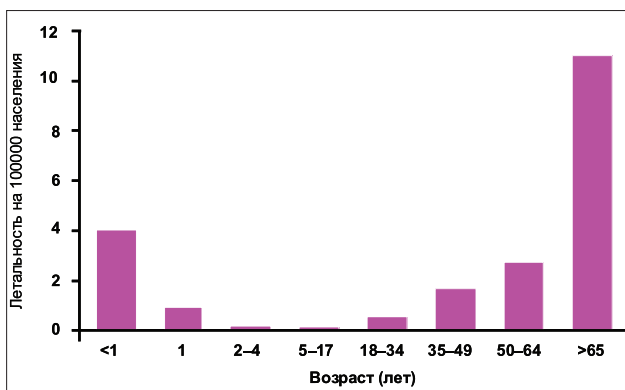


Рис. 1. Смертность от инвазивных форм пневмококковых инфекций в зависимости от возраста [433]

за период 1985-1991 гг. заболеваемость (на 100 тыс.) у детей в возрасте до 1 года составила 7,4-19,8; от 2 до 5 лет – 2,8-4,8; от 6 до 14 лет – 1,7-2,3 [12]. Летальность от пневмококкового менингита в Российской Федерации колеблется от 20 до 40% [58]. Кроме того, пневмококковый менингит также опасен развитием осложнений, среди которых неврологические нарушения встречаются у 30%, задержка умственного развития – у 19%, потеря слуха – у 17%, судорожный синдром – у 15% и паралич – у 11% от общего числа выживших [361]. Сведения о сезонности пневмококкового менингита в отечественной литературе являются весьма противоречивыми. Ряд авторов отмечает осенне-зимнюю сезонность, свойственную большинству инфекций с воздушно-капельным механизмом передачи [34, 44], другие – весенне-летнюю [2].

Неинвазивные формы пневмококковой инфекции

Острый средний отит (ОСО) – заболевание, которое может встречаться в любом возрасте, однако оно является наиболее частым у детей в возрасте до 5 лет [488]. В Российской Федерации на долю ОСО приходится 25-40% от общего числа всех болезней ЛОР-органов у детей [32]. Самая высокая заболеваемость отмечается у детей в возрасте от 3 мес до 3 лет [488], на долю которых приходится не менее 71-75% от числа всех больных [19], а среди новорожденных ОСО встречается лишь в 3-5% случаев [20]. В целом около 60% детей переносят хотя бы один эпизод ОСО на первом году жизни и около 80% – к третьему году [83]. Пневмококк является лидирующим возбудителем ОСО: на его долю приходится не менее 40-50%, во втором и третьем местах приходятся *Haemophilus influenzae* (20-30%) и *Moraxella catarrhalis* (10-20%) [133, 316]. Так, например, в США ежегодно регистрируется 7 млн случаев пневмококкового ОСО, из них 5,1 млн – у детей в возрасте до 5 лет [87]. Именно пневмококковый ОСО сопровождается самой высокой частотой развития гнойных осложнений (например, мастоидита, петрозита, лабиринтита, субдуральной эмпиемы), а также гидроцефалии, тромбоза латерального синуса, паралича лицевого нерва, тимпаносклероза, нарушения слуха [144, 470, 489]. Установлено, что в США ежегодно производится около 30 млн посещений врача по поводу ОСО, а на диагностику, лечение, наблюдение за ОСО и его осложнениями расходуется по крайней мере 5 млрд долларов США [267].

Острый риносинусит – следующее сравнительно частое заболевание в детском возрасте. По данным эпидемиологических исследований, примерно у 5% детей в возрасте 1-5 лет отмечаются симптомы данного заболевания [88]. В целом на долю пневмококков приходится 40% от общего числа риносинуситов во всех возрастных группах [230, 586]. По результатам отдельных исследований, проведенных в Российской Федерации с использованием золотого стандарта диагностики (культуральное исследование содержимого синуса, полученного путем аспирации), на долю пневмококков приходилось 44,9% от общего числа риносинуситов у взрослых, 17,3% случаев были вызваны *H. influenzae* и еще в 7,1% случаев эти микроорганизмы встречались в ассоциации [45].

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), одним из вариантов которой является хронический бронхит в стадии обострения, находится на четвертом месте среди причин смерти в США [579]. В последние годы отмечается рост заболеваемости ХОБЛ в развитых странах мира. Среди населения США около 20% страдают различными видами ХОБЛ [579]. По данным М. Niggen, число случаев хронического бронхита выросло с 6 526 тыс. (32,7 на 1000) в 1970 г. до 13 820 тыс. (54,3 на 1000) в 1993 г. [289]. Экономическое и клиническое значение данного заболевания часто является недооцененным [273]. Примерно 60% пациентов с ХОБЛ, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), требуют проведения

Продолжение на стр. 40.

Пневмококки: взгляд сквозь призму истории

Продолжение. Начало на стр. 39.

искусственной вентиляции легких, а летальность вследствие развития дыхательной недостаточности колеблется в пределах от 10 до 30% [295]. Пациенты со значительным нарушением функции легких, сопутствующими заболеваниями, частыми обострениями в анамнезе, госпитализацией в ОРИТ, а также пожилые больные входят в группы риска развития летального исхода [274]. Так, в исследовании 362 пациентов с ХОБЛ, госпитализированных в ОРИТ, летальность составила 24%. У пациентов в возрасте старше 65 лет летальность на момент выписки была 30%, через 90 дней – 41%, через 180 дней – 47%, через 1 год – 59% [295]. Этиология обострений хронического бронхита является сравнительно стабильной. На первом месте находятся *Haemophilus spp.*, второе прочно принадлежит пневмококкам, а третье – *Moraxella spp.* со значительной меньшей частотой встречаемости представителей семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующих бактерий [129, 164, 598].

Внебольничная пневмония (ВП) является широко распространенным заболеванием во всех возрастных группах [415]. К ВП относятся инфекции, развившиеся в амбулаторных условиях или у пациентов, находившихся в домах длительного ухода в течение не менее 14 дней до появления симптомов [185]. Ежегодная заболеваемость пневмонией в Европе и Северной Америке составляет 34–40 случаев

на 1000 детей младше 5 лет и уменьшается до 11–16 случаев на 1000 детей в возрасте от 5 до 14 лет [377, 507]. Половина детей младше 5 лет лечатся в условиях стационара, в то время как большинство детей старшего возраста получают терапию на дому [507]. В Российской Федерации заболеваемость детей пневмонией составляет 10–30 случаев на 1000 [18, 54], при этом на долю пневмококков приходится 60–90% [5, 31]. Несмотря на высокий уровень заболеваемости (примерно 71 тыс. случаев пневмококковой ВП в год), летальность в развитых странах при отсутствии сопутствующих заболеваний находится на низком уровне, не превышая 6% в США [369]. В развивающихся странах пневмония представляет собой более тяжелое заболевание и является основной причиной летальных исходов у детей [377].

В домах длительного ухода пневмония является вторым по частоте инфекционным заболеванием (после инфекций мочевых путей) [156]. Так, в США, например, ежегодно регистрируется от 0,16 до 2,57 млн случаев пневмонии, в которой на долю пневмококка приходится не менее 20% [424, 544]. В Великобритании и Швеции заболеваемость пневмонией у взрослых находится в пределах от 1 до 5 случаев на 1000 взрослых [146, 246], в США – от 12 до 17 случаев на 1000 взрослых в год [134, 186, 478]. В Российской Федерации, по данным официальной статистики, ежегодно регистрируется около 500 тыс. случаев пневмонии, хотя их предполагаемое число составляет 1,5 млн [69]. Средний уровень летальности у госпитализированных взрослых составляет

14%, однако в различных исследованиях колеблется от 2 до 30% [155, 360, 469]. Например, в США ежегодно регистрируется 570 тыс. случаев пневмококковой пневмонии с летальностью 5–7%, которая выше у пожилых [306]. Примерно у 25–30% пациентов с пневмококковой пневмонией развивается бактериемия, а частыми осложнениями ВП являются эмпиема плевры, перикардит и бронхиальная обструкция с развитием ателектазов и формированием абсцесса легких [239].

Кроме вышеуказанных, часто встречающихся в клинической практике заболеваний, пневмококки могут вызывать и инфекции другой локализации, которые, однако, встречаются с гораздо меньшей частотой. К ним относятся первичный перитонит, вульвовагиниты (особенно в детском возрасте), конъюнктивиты, септический артрит, эндокардит и др.

В заключение, подчеркивая клиническое и эпидемиологическое значение пневмококковой инфекции на современном этапе, следует привести следующие цифры [330]:

- ежегодно в мире регистрируется около 20 млн случаев пневмококковой пневмонии, из которых 1,05 млн заканчивается летальным исходом;
- 75 тыс. человек в год умирают от пневмококкового менингита;
- общая летальность от всех форм пневмококковой инфекции составляет не менее 1,125 млн в год;
- на долю пневмококков приходится 9% от общего количества случаев смерти у детей.

Глава 2. Проблемы и перспективы диагностики пневмококковой инфекции

Как и для многих возбудителей инфекционных болезней, проблема своевременной и качественной диагностики пневмококковой инфекции представляет собой актуальную задачу. Золотым стандартом микробиологической диагностики является выделение и идентификация возбудителя, что позволяет провести определение его чувствительности к антимикробным препаратам и ряд эпидемиологических исследований [370].

Основным обстоятельством, осложняющим выделение пневмококка, является высокая прихотливость этого возбудителя к условиям культивирования. Для обеспечения ростовых потребностей *S. pneumoniae* в состав искусственных питательных сред должны входить аминокислоты в форме L-изомеров (лизин, аргинин, метионин, треонин, гистидин, глицин, цистеин, аспарагин, изолейцин, валин и глутаминовая кислота) [6, 9, 27, 67]. Необходимыми компонентами питательных сред также являются холин, витамины группы В и их соединения, а также аденин, гуанин и урацил [6, 17]; вследствие этого лучшими основами для их приготовления являются среды с содержанием 1,5–1,8 г/л аминного азота [9, 43, 67].

Учитывая физиологические потребности пневмококков, многими авторами в качестве основ питательных сред рекомендовались гидролизаты мяса, сои, казеина [16, 24, 48], куриные эмбрионы [3], продукты ферментативного гидролиза плаценты человека [8, 49], к которым следовало добавлять 10–15% нормальной лошадиной сыворотки или сыворотки крупного рогатого скота [6]. Несмотря на то что предложенные среды в определенной степени обеспечивают типичный рост пневмококков, использование в них нестандартизированных компонентов существенно снижает их эффективность, что привело к разработке сухих сред [53], из которых наиболее распространенными являются колумбийский или триптиказо-соевый агар [425].

К вышеуказанным основам для оптимального роста пневмококков следует добавлять дефибринированную кровь животных (барана, лошади или козла) в итоговой концентрации 5% [370]. Использование человеческой крови экспертами ВОЗ не рекомендуется вследствие возможного наличия антител к пневмококковым антигенам и ряда других факторов [425]. В настоящее время рядом российских лабораторий используется приготовление сред на основании прописи, разработанной Л.К. Катосовой [13], для которой в качестве агаровой основы можно использовать эритроцит-агар, сухой питательный агар, ГРМ-агар (сухой), ГРМ-агар № 1 (сухой), АГВ с оптимальной рН среды – 7,2±0,2. После стерилизации и охлаждения агара до температуры 45–50 °С, добавляют 10% инaktivированной лошадиной сыворотки, 3% эритроцитарной массы или 5% дефибринированной крови.

Добавление крови к питательной среде имеет не только диагностическое значение (распознавание α-гемолиза) [13], но и обеспечивает эффективный рост пневмококков. *S. pneumoniae* не имеет цитохрома и утилизирует кислород атмосферы при помощи системы флавопротеина, в результате чего образуется перекись водорода, которую микроорганизм самостоятельно не в состоянии обезвредить, так как не обладает каталазой [67]. Поэтому в состав питательных сред для культивирования пневмококка включают кровь (эритроциты, содержащие этот фермент) [29].

Некоторые штаммы также могут расти и на средах с пониженным парциальным давлением кислорода без добавления крови (бульон, заполняющий большую часть пробирки, полужидкий агар, тиогликолевые среды). Оптимум для культивирования пневмококка – рН 7,6 и 35–37 °С, но рост возможен и при рН не ниже 7,0 и не выше 7,8 [13, 67, 116].

Следующим необходимым условием для выделения пневмококков является инкубация в атмосфере с повышенным до 3–7% содержанием CO₂, так как они факультативные анаэробы и до 10% штаммов при первичном посеве не растут на плотных питательных средах без избытка углекислоты [34, 121, 370].

При соблюдении питательных потребностей и других условий роста через 16–20 ч на 5% кровяном агаре пневмококк формирует мелкие, 1–2 мм в диаметре, округлые, блестящие, бесцветные с ровным краем, мягкой консистенции и α-гемолизом колонии, которые уже через 24 ч имеют полую сферическую форму с уплощенным центром, образующимся в результате аутолиза [34]. При росте на жидких питательных средах наблюдается диффузное помутнение без образования пленки [34, 592].

При микроскопии обнаруживаются грамположительные кокки (часто ланцетовидные диплококки) диаметром 0,5–1,25 мкм, не имеющие спор и жгутиков [137, 592]. Кроме того, большинство штаммов окружены полианионной полисахаридной капсулой, обеспечивающей регуляцию прохождения молекул и ионов к клеточной стенке, прикрепление пневмококков к биологическим и неорганическим поверхностям, формирование микроколоний и биопленок [288], а также препятствующей опсонизации и последующему фагоцитозу [13, 370].

Важное диагностическое значение имеет чувствительность пневмококка к оптохину [13, 370, 592], солям желчных кислот (дезоксихолату и таурохолату натрия) [13, 370], а также способность к ферментации инулина, отличающая его от других α-гемолитических стрептококков [34, 43, 592].

Несмотря на очевидные преимущества бактериологического метода исследования, скорость получения результата и его чувствительность являются сравнительно невысокими, что привело к попыткам разработки новых диагностических подходов, включая полимеразную цепную реакцию (ПЦР) [440], модификации серологических методов [172].

Первым серологическим методом идентификации пневмококков является реакция набухания капсулы (тест Нейфельда) под влиянием сыворотки, содержащей поликлональные антикапсулярные антитела, выявляемая при фазово-контрастной или обычной микроскопии, которую проводят на стекле [120]. К преимуществам данной методики относится ее быстрота, а к недостаткам – необходимость выделения чистой культуры и недостаточная чувствительность (не все штаммы имеют капсулу).

К другим, сравнительно широко используемым методам, не требующим наличия чистой культуры, относится латекс-агглютинация, которая используется для определения пневмококковых антигенов в крови [588] или ликворе [71, 370]. К преимуществам этого метода относят скорость и простоту использования, а к недостаткам – стоимость, невозможность определения антигена в моче, а также сравнительно низкую специфичность [25] вследствие возможных

перекрестных реакций с другими стрептококками тейхоевой (С-полисахарида) и липотейхоевой кислот (F-антигена, или антигена Форссмана) [46, 63, 145, 248, 533].

Существуют также разработки выявления пневмококковых антигенов с помощью встречного иммуоэлектрофореза, иммуофлюоресцентного и иммуоферментного анализов [379]. Хотя эти методы имеют определенные достоинства, их стоимость, трудоемкость и относительно недостаточные параметры чувствительности и специфичности являются основными ограничениями к их широкому использованию в рутинной практике [207]. Так, например, выявление антител к пневмолизину показало высокую (80–90%) чувствительность и специфичность, однако, учитывая отсроченность антительного ответа, данный метод применяется только при проведении эпидемиологических исследований [245].

Методики выявления пневмококковых аутолизина и пневмолизина в клиническом материале с помощью ПЦР находятся на стадии разработки [172, 205, 206, 235, 265]. В недавно опубликованном исследовании чувствительность ПЦР на аутолизин и пневмолизин составила соответственно 82 и 89%, а специфичность – 38 и 27% [172]. Вследствие низкой специфичности ПЦР данный метод в настоящее время рассматривается только как перспективный, но требующий дальнейшего усовершенствования.

В последние годы большую популярность приобрел иммунохроматографический экспресс-тест для выявления пневмококкового клеточного полисахарида (С-полисахарида) в моче [204]. Он представляет собой нитроцеллюлозную мембрану с абсорбированными на ней кроличьими антипневмококковыми антителами и имеет диагностический порог 0,5 нг/мл [485]. Выполнение исследования занимает около 15 мин; чувствительность теста составляет 86%, специфичность – 94% [89]. Ряд международных обществ уже рекомендует его в качестве дополнительного метода диагностики пневмококковой пневмонии, прежде всего у пациентов с тяжелым течением заболевания [89, 232]. Однако данный тест может давать и ложноположительные результаты в некоторых популяциях с очень высоким уровнем назофарингеального носительства пневмококков (организованные детские коллективы и проч.) [233, 581].

Рядом авторов данный тест также был адаптирован для определения наличия пневмококков в носоглотке, причем его чувствительность составила 92,2%, специфичность – 97,7%, отношение правдоподобия положительного результата – 95,9%, отношение правдоподобия отрицательного результата – 95,5% [414]. Однако, по мнению ряда авторов, существует возможность ложноположительных реакций со *Streptococcus mitis* [400].

Таким образом, из имеющихся в настоящее время новых неинвазивных методов диагностики пневмококковых инфекций иммунохроматографический тест представляется одним из наиболее перспективных. Тем не менее для решения вопроса о возможности его применения в локальных условиях требуется более детальное изучение в определенной эпидемиологической ситуации (например, при массовой вспышке пневмонии в организованных коллективах).

Продолжение следует.