



Forgotten pneumococcus and its place in the composition of opportunistic microorganisms that cause diseases of the respiratory system

Mairash BAIMURATOVA¹, Saken AMIREEV² Aliya TUGULBAYEVA³ Rfaushan TIESOVA-BERDALINA⁴ Zahida ABDUSALLAMOVA⁵ Ulbossyn JUMATOVA⁶

Kazakh Medical University of Continuing Education

ARTICLE INFO

Article history:

Received September 2020

Received in revised form

15 September 2020

Accepted 15 October 2020

Available online

30 October 2020

Keywords:

Microbial landscape

Opportunistic

microorganisms

Pneumococcus

Pneumococcal infection

Contamination

Bacteriological method

ABSTRACT

Considering, as one of the options, the dependence of the occurrence of upper respiratory tract diseases on the stable quantitative state of opportunistic microorganisms in the oral mucosa, we conducted a retrospective study in the period from 2001 to 2007 to study the microbial landscape of smears from the posterior pharyngeal wall of patients diagnosed with tonsillitis, laryngitis and pharyngitis. Based on the results of the data, a picture of the levels of contamination was outlined and quantitative criteria for the etiological significance of each of the isolated clinical isolates were derived, in accordance with taxonomic affiliation.

2181-1415/© 2020 in Science LLC.

This is an open access article under the Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ru>)

¹ Candidate of Medical Sciences, Professor, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan mairash@list.ru

² Candidate of Medical Sciences, Professor, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan amireevsaken@gmail.com

³ Lecture, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan a_allergo_immun@mail.ru

⁴ Candidate of Medical Sciences, ass. professor, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan rau_tesova@mail.ru

⁵ Lecture, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan zahida_abdusalamova@mail.ru

⁶ Lecture, Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty, Kazakhstan ujumatova@mail.ru

SUMMARY

Based on the results of studying the structure of the microbiome of the upper respiratory tract, carried out by examining smears of the posterior pharyngeal wall and assessing the level of contamination, an unequal microbial landscape was found, mainly represented by opportunistic microorganisms, among which 21.3% (n-102) episodes were identified detection of respiratory isolates atypical for this environment (or unconditional pathogens in terms of the degree of contamination): non-fermenting gram-negative bacteria, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, enterococci, also enterobacteria. The facts of their relatively stable detection indicated the likelihood of upward endogenous spread, and not excluding exogenous infection of the patient. The lack of information on the cultural isolation of *S.pneumoniae* by practical laboratories in the studied medical organizations dictates the need to strengthen laboratory diagnostics at the stage of in vitro cultivation in medical organizations.

Забывтый пневмококк и его место в составе условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих заболевания дыхательной системы

АННОТАЦИЯ

Ключевые слова:

Микробный пейзаж
УПМ
Пневмококк
Пневмококковая
инфекция
Обсемененность
Бактериологический
метод

Учитывая, как один из вариантов, зависимости возникновения заболеваний верхних дыхательных путей, от стабильного количественного состояния УПМ в СОПР, нами было проведено ретроспективное исследование в период с 2001 по 2007гг. по изучению микробного пейзажа мазков из задней стенки глотки пациентов с диагнозами тонзиллит, ларингит и фарингит. По результатам данных, была обрисована картина уровней обсемененности и выведены количественные критерии этиологической значимости каждого из изолированных клинических изолятов, в соответствии с таксономической принадлежности..

Мониторинг носительства условно-патогенной пневмотропной флоры на слизистых позволяет, в определенной мере, прогнозировать этиологическую структуру инфекционных заболеваний дыхательных путей, основная особенность которых состоит в том, что в качестве возбудителей в большинстве случаев выступают микроорганизмы, являющиеся условно-патогенной флорой [7]. Слизистая оболочка полости рта (СОПР) представляет собой своеобразный, сложный и не всегда стабильный микробиоценоз, что является весьма благоприятной средой для роста и поддержания жизнедеятельности микроорганизмов. [19]. Верхние дыхательные пути (ВДП) являются важнейшими входными воротами для патогенных микроорганизмов, вызывающих инфекции

верхних дыхательных путей, а также при патологии полости рта. Микрофлора СОПР характеризовалась наличием потенциально патогенных микроорганизмов (все те же условно патогенных микроорганизмов (УПМ) в высоких титрах: стрептококков – *S. haemolyticus* (α-гемолиз), *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mitis* 1 и др.; стафилококков – *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. aureus*; культуры грибов – *Candida albicans* и нейсерий чаще всего *N. Subflava* и *perflava*, входящих в состав нормальной микрофлоры полости рта человека, а также микрококков и энтерококков, сообщает ряд исследователей [19, 9, 10]. Упоминание об обнаружении, наряду с ними, штаммов: *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.* (чаще *K. pneumoniae*) моракселлы не является допустимым, позволяя предполагать эндогенное происхождение.

Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), выделенный из носоглоточных мазков, невзирая на его нестабильность по данным отдельных исследователей, по прежнему остается одним из самых распространенных возбудителей инфекционных болезней, особенно у детей и пожилых лиц [31, 22]. Будучи комменсалом СОПР пневмококк, в числе УПМ, диктует необходимость оценки его с позиции изменения состояния микробной флоры экологической ниши ВДП для расширения представлений о возбудителях оппортунистических заболеваний [14, 32, 19]. Многолетний динамический анализ большой выборки носоглоточных изолятов пневмококков, полученных у детей в крупнейшем по населению регионе России, акцентируя внимание на серотиповой их принадлежности. Выявленный факт носительства предложено было расценивать как основную предпосылку распространения пневмококковых болезней, необходимую для динамического наблюдения за спектром циркулирующих серотипов. [22]. Еще в 90-е годы поднимался вопрос о необходимости стандартизации подходов бактериологической диагностики в лабораторной службе, с более детализированными выкладками осуществления не только объема работы [30], но и другими сугубо профессиональными оценками полученного результата [1]. Обоснование постановки объективного «микробиологического диагноза» имеет колоссальную ценность в части учета полученных результатов и назначении антибактериальной терапии. Вместе с тем, лечащего врача интересует результат дифференцированного определения случая контаминации, либо истинной этиологической причастности микроба. Группой исследователей Ильченко С.И с соавторами (2018) были установлены особенности микробного пейзажа дыхательных путей на фоне поражения ЦНС с обнаруженным доминированием кишечной условно-патогенной микрофлоры (*K.pneumoniae P. Vulgaris P, mirabilis*) а также *P.aeruginosa* и дрожжеподобные грибы рода *Candida spp.* [16]. Активизации кишечной флоры, указанная авторами позволяет с высокой степенью вероятности предполагать эндогенную транслокацию микробов у обследуемой когорты пациентов.

Таким образом, основываясь на существующие взаимоотношения бактерий в биотопе – антагонистические или синергические – играющие важную роль при формировании микробиоценоза слизистой ротоглотки, нами была предпринята попытка оценить и степень обсемененности каждого из выделенных видов микробов. Выявление порогового уровня обнаружения штаммов при ВДП с определением роли доминирующих этиопатогенов подчеркивало необходимость

проведения локального мониторинга микробного пейзажа, в зависимости от вида патологии и даже от конкретных диагнозов оказалась своевременной.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить структуру микробного пейзажа возбудителей заболеваний верхней дыхательной системы, путем оценки уровня обсемененности каждого из изолированных клинических изоляторов, согласно таксономической их принадлежности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с 2001-2007 гг. бактериологическим методом от 510 пациентов с хроническим тонзиллитом, хроническим фарингитом, были выделены и идентифицированы культуры, составившие 656 штамма, являясь возбудителями в $87,8 \pm 1,28\%$ случаев (488 культур). Сбор биоматериала осуществляли в одноразовые стерильные системы с транспортной средой «Amies», производства «HiMedia» (Индия) и доставляли его в микробиологическую лабораторию не позднее, чем через 2 часа с момента сбора. Искусственное культивирование аэробов и факультативных анаэробов, проводилось общеизвестными способами в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 от 1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» с дальнейшей идентификацией до вида [26] на классических питательных средах. Микроскопический метод, был нацелен на изучение морфологических признаков возбудителя при их обнаружении в нативных или окрашенных препаратах по Граму. Посев из мазков со слизистой задней стенки глотки предусматривал применение метода секторных посевов по Голду [29, 15]. За единицу учета обсемененности в исследовании брали КОЕ/гр и КОЕ/мл, позволяющая выдать количественное значение обсемененности в биосубстрате обследуемых пациентов, например, обсемененность $2,7 \times 10^2$, 10^3 , $6,9 \times 10^5$ и т.д. КОЕ/гр или КОЕ/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе применен систематизированный подход к оценке результатов микробиологического исследования, позволивший сформировать истинную таксономическую структуру возбудителей ВДП. Установлено достоверное превалирование встречаемости моновариантов изолированных этиопатогенов на фоне резидентных представителей слизистой оболочки полости рта (СОПР), что составило $91,8 \pm 1,24\%$ случаев. Из числа изолированных микробов, обнаружены 25% (n-40) микст бактериально-грибковых ассоциации. При сравнении микрофлоры зева больных пневмониями, имеющих сопутствующие хронические заболевания носоглотки и у больных пневмонией без патологии ВДП, сообщала Айнабекова Б.А. с соавторами (2001), что процент высеваемости УПМ составлял свыше 50%. Изоляции клебсиелл, дрожжеподобных грибов, золотистого и эпидермального стафилококков не регистрировалось при исследовании микрофлоры зева у больных пневмонией без сопутствующих заболеваний (у больных с сопутствующей патологией носоглотки ассоциации встречались в 2 раза

больше) [2]. Выявленная авторами отличительная особенность, вновь указывала на активизацию аутофлоры, с высокой вероятностью миграции восходящим путем.

По полученным нами собственным результатам, в отношении учета резидентных видов микроорганизмов, мы сочли возможным систематизировать фактические значения, предлагая вывести критерии степени обсемененности слизистой задней стенки глотки. Анализ выявленных пороговых показателей степени обсемененности микроорганизмами данного эпитопа для хронических больных с соматической патологией ВДП и представлен в таблице №1.

Таб. 1
Обсемененность и микробный пейзаж слизистой задней стенки глотки пациентов с патологией ВДП

Наименование микроорганизмов	Кол-во штаммов	Среднее число микроорганизмов с доверительным интервалом $M \pm m$	Степень обсемененности и процент встречаемости (КОЕ/мл и % в $M \pm m$)	Критерий этиологической значимости
S. pyogenes	37	$1,8 \times 10^4 \pm 0,43 \times 10^4$	103 – $68,0 \pm 7.67\%$ * 104 – $30,0 \pm 7.53\%$ ** 105 – $2,0 \pm 2.31\%$	≥ 103 КОЕ/мл
S. agalactiae	10	$6,9 \times 10^5 \pm 1,31 \times 10^5$	104 – $38,0 \pm 15.31\%$ 105 – $39,0 \pm 15.42\%$ 106 – $23,0 \pm 13.33\%$	≥ 104 КОЕ/мл
УПЭ	49	$2,2 \times 10^6 \pm 0,98 \times 10^6$	103 – $60,0 \pm 6.99\%$ * 104 – $10,0 \pm 4.29\%$ 105 – $30,0 \pm 6.55\%$ **	≥ 103 КОЕ/мл
C. albicans	49	$7,8 \times 10^4 \pm 1,13 \times 10^4$	104 – $10,0 \pm 4.29\%$ 105 – $61,0 \pm 6.97\%$ * 106 – $9,0 \pm 4.09\%$ 104 – $20,0 \pm 5.72\%$ миксты	≥ 105 КОЕ/мл Микст – ≥ 104 КОЕ/мл
оральные стрептококки	50	$2,7 \times 10^7 \pm 0,32 \times 10^7$	106 – $5,0 \pm 3.08\%$ 107 – $65,0 \pm 6.75\%$ * 108 – $30,0 \pm 6.48\%$ **	> 106 КОЕ/мл
энтерококки	49	$1,0 \times 10^6 \pm 0,13 \times 10^6$	103 – $53,0 \pm 7.13\%$ * 104 – $23,0 \pm 6.01\%$ 105 – $14,0 \pm 4.96\%$ 106 – $10,0 \pm 4.29\%$	≥ 103 КОЕ/мл
S. aureus	149	$6,5 \times 10^6 \pm 1,60 \times 10^6$	104 – $47,0 \pm 4.09\%$ * 105 – $32,0 \pm 3.82\%$ 107 – $21,0 \pm 3.34\%$	≥ 104 КОЕ/мл
Staphylococcus spp.	33	$2,3 \times 10^6 \pm 0,61 \times 10^6$	106 – $58,0 \pm 8.59\%$ до 107 – $42,0 \pm 8.59\%$	≥ 106 КОЕ/мл
НГОБ	53	$1,2 \times 10^7 \pm 0,69 \times 10^7$	103 – $11,0 \pm 4.30\%$ 104 – $47,0 \pm 6.86\%$ * 105 – $22,0 \pm 5.69\%$ 106 – $10,0 \pm 4.12\%$ 107 – $10,0 \pm 4.12\%$	≥ 104 КОЕ/мл
P. aeruginosa	26 из 53	$5,8 \times 10^5 \pm 1,52 \times 10^5$	103 – $53,0 \pm 5.62\%$ * 104 – $26,0 \pm 4.94\%$ 105 – $21,0 \pm 4.58\%$	≥ 103 КОЕ/мл
всего	479			

Примечание: * – различие достоверно с другими показателями данного микроорганизма; ** – различие достоверно с наименьшим показателем данного микроорганизма.

Из анализа таблицы №1 видно, что доминирующими этиопатогенами оказались бактерии рода *Staphylococcus* spp.-38% затем обнаруживались бактерии рода *Streptococcus* spp. – 30,4%, и в заключении «тройки» лидеров регистрировались неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБы) - 11,1%. Для энтеробактерий обсемененность варьировала от 10^3 КОЕ/мл (60% случаев) до 2×10^6 КОЕ/мл, усредненный показатель соответствовал $2,2 \times 10^6 \pm 0,98 \times 10^6$ КОЕ/мл. Соответственно, выведен количественный критерий этиологической значимости для энтеробактерий и энтерококков составивший – 10^3 КОЕ/мл и более. В отношении зарегистрированных степеней обсемененности энтерококков отмечено варьирование от 10^3 КОЕ/мл (53% случаев) до 10^7 КОЕ/мл, что соответствовало усредненному показателю $1,0 \times 10^6 \pm 0,13 \times 10^6$ КОЕ/мл. Нами выведен количественный критерий этиологической значимости для энтерококков составивший – 10^3 КОЕ/мл и более.

Колонизация слизистой золотистым стафилококком варьировала от 10^4 КОЕ/мл (47% случаев) до 10^7 КОЕ/мл, что соответствовало усредненному показателю $6,5 \times 10^6 \pm 1,60 \times 10^6$ КОЕ/мл. В наших исследованиях обсемененность КОС, в качестве этиопатогенов варьировала от 10^6 КОЕ/мл (58% случаев) до 10^7 КОЕ/мл, а усредненный показатель соответствовал $2,3 \times 10^6 \pm 0,61 \times 10^6$ КОЕ/мл. В итоге, для золотистого стафилококка нами выведен критерий клинической значимости в возникновении воспалительного процесса слизистой задней стенки глотки равный концентрации – 10^4 КОЕ/мл и более. Для КОС, выведенный более высокий показатель – 10^6 КОЕ/мл и более, обусловлен их принадлежностью к резидентной аутофлоре ротовой полости.

Стрептококки принято относить к пиогенным коккам, что во многом связано с главным для медицины видом, *S. pyogenes* - мощным индуктором септических (гнойных) процессов. В этой связи, учитывая полученный нами высокий процент (68%) изоляции этого вида микроба в низкой концентрации – 10^3 КОЕ/мл, при наличии яркой клиники латентного течения, был установлен критерий для пиогенного стрептококка – 10^3 КОЕ/мл и более. Полученный количественный показатель может явится хорошим подспорьем, если в заключении клиницисту проставлять акцент о биологических его особенностях.

S. agalactiae, или стрептококки группы В (СГВ), являются этиологическим агентом многих заболеваний детей и взрослых [20]. В нашей работе, регистрировались эпизоды выделения *S. agalactiae* в обсемененности $6,9 \times 10^5 \pm 1,31 \times 10^5$ КОЕ/мл среди обследуемых пациентов, когда в 38% случаев *S. agalactiae* выделялся в обсемененности – 10^4 КОЕ/мл, позволили вывести критерий для данного возбудителя соответствовавший – 10^4 КОЕ/мл и более. По полученным нами наблюдениям оральные стрептококки выделялись исключительно в монокультуре и высокой степени обсемененности равной – $2,7 \times 10^7 \pm 0,32 \times 10^7$ КОЕ/мл, и признаны этиопатогенами воспалительного процесса с учетом наличия клинически установленного воспалительного очага. Частота выделяемости в концентрации 10^7 КОЕ/мл, составившая 65% случаев, и послужила основанием выведения критерия обсемененности для оральных стрептококков 10^6 КОЕ/мл и более.

Степень обсемененности у обследуемых пациентов грибами рода *Candida* составляла в среднем $7,8 \times 10^4 \pm 1,13 \times 10^4$ КОЕ/мл, а в 71% случаев концентрация была

равна 10^5 КОЕ/мл. В эпизодах, когда *Candida* высевалась в ассоциации с бактериями (20% случаев), степень обсемененности составляла на 1 порядок ниже. С учетом полученных результатов нами выведен критерий оценки степени обсемененности грибами рода *Candida* задней стенки глотки в монокультуре – 10^5 КОЕ/мл и выше, в миксте – 10^4 КОЕ/мл и выше.

Степень обсемененности бактерий группы неферментирующих грамотрицательных палочек (НГОб) составляла в среднем $1,2 \times 10^7 \pm 0,69 \times 10^7$ КОЕ/мл, а процент штаммов выделенных в 10^4 насчитывал 47% случаев. Исключением явились штаммы *P. aeruginosa*, которые обнаруживались на задней стенке глотки в монокультуре в среднем в $5,8 \times 10^5 \pm 1,52 \times 10^5$ КОЕ/мл, при этом в 53% случаев концентрация микробных клеток составляла 10^3 КОЕ/мл. На наш взгляд, объективным явилось выведение двух критериев: для *P. aeruginosa* – 10^3 КОЕ/мл и выше, а для других НГОб – 10^4 КОЕ/мл и выше.

Не вызывает сомнений вопрос о причастности пневмококка с указанием его уровня обсемененности в мазках задней стенки глотки, однако ответ нами не публикуется. По-прежнему бактерия *S. pneumoniae* (пневмококк) являются наиболее частой причиной возникновения тяжелой пневмонии и смерти от пневмонии во всем мире. [13]. Глобальная сеть лабораторий по инвазивным бактериальным управляемым инфекциям (ИБУИ) представляет собой глобальную сеть из >100 лабораторий, поддерживающих эпиднадзор за инвазивными бактериальными инфекциями [35].

Однако, не секрет и то, что бактериологическое исследование, невзирая на целесообразность успешности верификации пневмококков, способной обеспечить стабильный мониторинг эпидемиологического надзора, широко не проводится вовсе.

По итогам собственных результатов проведенного нами исследования мазков задней стенки глотки за период с 2001-2007гг. все же имели место, заслуживающие внимания, факты выявления эпизодов обнаружения *S. pneumoniae* - 4,6% (n-22) случая, но ограничивались они лишь результатами микроскопии нативных мазков. По морфологическим признакам (тинкториальные свойства и форма клеток) определялись грамположительные диплококки пневмококка в 4-х полях из 10-ти полей зрения и зачастую с грамположительными кокками, в ассоциации, однако культивирование на КА оказывалось безрезультатным, что не позволяло принимать учет за основу. Классически, идентификацию пневмококков проводят на основании морфологических и культуральных свойств [3]. В практических лабораториях при культивировании пневмококков применялся 5% кровяной агар (КА) с основой Хоттингера агара (и сердечно-мозгового агара), при известном условии инкубации обеспечения повышенного CO_2 положительного результата не обеспечивали. Бытует мнение в клинической практике, что рентгенологически подкрепленный клинический диагноз: «Пневмония», косвенно позволяет считать природу ее пневмококковой. Между тем, отдельными исследователями уже упоминались не решенные вопросы по обеспечению эффективной пневмококковой диагностики. К сожалению, проведенные многочисленные работы по изучению пневмококкового бактерионосительства и пневмококковой инвазивной инфекции не указывают условий оснащения бактериологических лабораторий оборудованием, расходными материалами и наличием квалифицированных кадров [33, 34, 17]. В отношении пневмококка, классический метод выделения *S. pneumoniae* с использованием

микробиологических техник является наиболее широко используемым в различных регионах мира, что позволяет все же считать его надежным, как говорится «золотым стандартом» диагностики пневмококковой инфекции [5], поэтому несмотря на наличие микроанализаторов остается актуальным все же прежде всего определять истинную обсемененность УПМ, в т.ч. пневмококками. Опыт работы в профессии на этапе выделения микроорганизма *in vitro* показывает, что диагностика пневмококковой инфекции сохраняется на низком уровне не только РК, но и в большинстве развивающихся стран. Культивирование, а в особенности идентификация этого микроорганизма, сопряжены со значительными трудностями, связанными с отсутствием тест-систем и препаратов для идентификации и дифференциальной диагностики, циркуляцией штаммов нечувствительных к стандартным тестам идентификации и близкородственных видов, упоминает и казахстанский исследователь Рамазанова Б.А. с соавторами (2016). [28]. Отечественные питательные среды (ПС), российские в частности, не уступают по ростовым характеристикам иностранным аналогам, если ориентироваться на «ключевой» признак - α -гемолиз. Не менее эффективно использование ПС с селективными добавками (СД) возможно избирательное выделение основных возбудителей гнойных бактериальных менингитов с ингибированием роста микробов-ассоциантов [25]. Ориентируясь на неудачи на этапах культивирования (причиной может быть не эффективность ПС и использование донорской крови человека) пневмококков и на практике, думается, назрела необходимость разработки методических региональных рекомендаций по обеспечению эффективной бактериологической диагностики пневмококковой инфекции.

Доказательством этиопричастности, как известно, является определение уровня обсемененности, ведь наличие микроорганизмов на поврежденной слизистой оболочке (любой экологической ниши) не всегда позволяет утверждать, что они первопричина ее повреждения [8, 24]. Одним из методов, позволяющих дифференцировать микрофлору, вызывающую заболевание, от естественной микрофлоры или контаминации материала извне, считает Бухарин О.В., по прежнему служит количественный метод, в основе которого лежит определение степени микробной обсемененности изучаемого образца [11, 4]. Уровень этиологической обсемененности, приведенный в нормограмме НД Приказе № 535 [26], нами не оспаривается. Несомненным минусом Приказа №535 является лишь давность его утверждения, однако этот документ обновлен и по сей день действует. Подспорьем в нашей работе оказались опубликованные сведения казахстанского профессора Котовой А.Л. [18]. Нормограмма отделяемого зева представлена автором следующими микроорганизмами: *S. epidermidis*, *S. viridans*, *Neisseria*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Candida* и некоторые другие, то есть вновь не указано ни слова о пневмококке, оправданием служит, то что авторами рассматривалась только узкая возрастная группа лиц [18]. Мы склонны считать, что в перспективе, существует необходимость проведения более расширенных исследований, безусловно направленных на место и роль в динамике пневмококков. Из многочисленных работ Вишняковой Л.А. еще в 1996 году заболеваемость пневмонией во всех странах мира увеличилась с 5 до 16 случаев на 1000 населения (для плевропневмоний - с 5 до 25). Причем 2-5% пневмоний носили затяжной характер и 10-30% имели осложненное течение. Другой вывод сделан был, что

пневмококки (из числа УПМ) не являются этиологически значимыми при ГВЗ респираторного тракта в регионе Московской области, обозначив значимыми стрептококки группы viridans и энтерококки, основываясь на частоту выделения тех и других от больных с ГВЗ увеличиваясь от верхних отделов к нижним дыхательным путям [12]. Сравнивая данные тех лет очевидным является тенденция к возможной смене микробных лидеров [21]. Миронов А.Ю с соавторами (2000) поделился публикацией о том, что роль прихотливого комменсала (как и пневмококк) гемофильной палочки как этиопатогена при гнойными воспалительными заболеваниями (ГВЗ) респираторного тракта в регионе Московской области резко уменьшилась, причем установлена смена микрофлоры верхних и нижних дыхательных путей. Этиологически значимыми микроорганизмами при воспалении верхних и нижних дыхательных путей были названы коагулазо негативные стафилококки (КОС), в основном эпидермальные, а также энтерококки и стрептококки группы viridans [23].

Изученный нами микробный пейзаж клинических образцов пациентов с патологией ВДП показал, что преимущественно он представлен УПМ СОПР, среди которых 21,3% (n-102) выявлены эпизоды обнаружения нетипичных для этой экониши (либо безусловных патогенов по степени обсемененности) респираторных изолятов: НГОБ, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, энтерококков, а также энтеробактерий. Факты, относительно стабильного их обнаружения свидетельствовали о вероятности восходящего эндогенного распространения, причем, не исключая экзогенного инфицирования пациента. Отсутствие сведений о культуральном выделении пневмококков в изучаемых медицинских организациях при исследовании клинического материала от пациентов с заболеваниями ВДП, недопустимо обнажило упущения в работе бактериологических лабораторий и продиктовало необходимость усиления лабораторной диагностики на этапе культивирования *in vitro* с внедрением элементов оптимизации (*применения современных сред выделения для пневмококков*).

Таким образом, по результатам собственных исследований мазков задней стенки глотки пациентов с заболеваниями ВДП с целью изучения микрофлоры слизистой задней стенки глотки, с позиции уровня обсемененности и определения приоритетов ведущих этиопатогенов, нами сделаны следующие выводы:

➤ для объективизации вариантов интерпретации результатов (учета) усовершенствован методологический подход оценки фактически полученных уровней обсемененности неоднозначного видового состава микрофлоры:

а) стафилококки - усредненный показатель составил $6,5 \times 10^6 \pm 1,60 \times 10^6$ КОЕ/мл, кроме того, для КОС был выведен показатель не меньше 10^6 КОЕ/мл,

б) критерий для пиогенного стрептококка – 10^3 КОЕ/мл и более, *S. agalactiae* – 10^4 КОЕ/мл,

с) для грибов рода *Candida* в монокультуре – 10^5 КОЕ/мл и выше, в миксте – 10^4 КОЕ/мл и выше;

д) выведены два критерия для *P. aeruginosa* – 10^3 КОЕ/мл и выше, а для других НГОБ – 10^4 КОЕ/мл и выше;

➤ установленные пороговые значения клинических изолятов: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, энтеробактерий, *C. Albicans*, контаминирующих заднюю стенку слизистой

ротовой полости отнесены к этиопатогенами воспалительного процесса, не исключая вероятности эндогенной транслокации,

➤ обнаруженный неравноценный микробный пейзаж, преимущественно представленный в 78,7% (n-377) УПМ СОПР позволил выявить отсутствие выделения практическими лабораториями *S.pneumoniae*, что не раскрывая истинной «картины» угрозы со стороны пневмококкового носительства, диктует необходимость усиления лабораторной диагностики на этапе культивирования *in vitro* в медицинских организациях

По результатам изучения структуры микробного пейзажа возбудителей заболеваний ВДС, проведенное путем исследования мазков задней стенки глотки и оценкой уровня обсемененности, обнаружен неравноценный микробный пейзаж, преимущественно представленный в УПМ, среди которых 21,3% (n-102) выявлены эпизоды обнаружения нетипичных для этой экониши (либо безусловных патогенов по степени обсемененности) респираторных изолятов: НГОБ, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, энтерококков, а также энтеробактерии. Факты, относительно стабильного их обнаружения свидетельствовали о вероятности восходящего эндогенного распространения, причем, не исключая экзогенного инфицирования пациента. Отсутствие сведений о культуральном выделении практическими лабораториями *S.pneumoniae* в изучаемых медицинских организациях диктует необходимость усиления лабораторной диагностики на этапе культивирования *in vitro* в медицинских организациях.

Библиографические ссылки

1. Авдинеко И.В., Коршунов Г.В. Пути повышения медико-экономической эффективности лабораторной службы. // Ж. Клин. лаб. диагностика. – 2000. – № 9. – С. 35.
2. Айнабекова Б.А., Алимбекова Л.Т. Микрофлора зева у больных пневмонией. // Медицина. - 2001. - № 2. - С. 42-43.
3. Алябаева Н.М. Серотипы и устойчивость к антибиотикам штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у детей при респираторных инфекциях: Дис... канд. мед. наук. — М.; 2014. —98 с.
4. Баймуратова М.А., Тьесова-Бердалина Р.А.- Микробиоценоз респираторного тракта при хронических заболеваниях дыхательной системы.- Журнал «Вестник АГИУВ» №4, 2016. - С 43-50.
5. Баранов А. А., Брико Н. И., Намазова-Баранова Л. С.. Современная клинико-эпидемиологическая характеристика пневмококковых инфекций. /Лечащий врач. #04/12. URL: <http://www.lvrach.ru/2012/04/15435406/> (дата обращения: 26.01.2016г)
6. Батуро А.П., Романенко Э.Е., Мокроносова М.А. Микробиоценоз носоглотки больных, страдающих крапивницей. // Ж. микробиол. - 2006. - № 7 - С. 82-85.
7. Беляева Е.В., Ермолина Г.Б., Ефимов Е.И., Никифоров В.А., Куроптев А.А., 2012. Исследование микробного пейзажа носоглотки военнослужащих по призыву. Ж. Медицинский альянс №2 (21).- С.46-49
8. Бондаренко В.М., Петровская В.Г. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры. // Вестник Рос. АМН. - 1997. - № 3. - С. 7-10,

9. Бонсор С.Д., Ничол Р., Райд Т.М., Пирсон Г.Д. Микробиологическая оценка фотоактивируемой дезинфекции в эндодонтии (исследования in vivo). // Ж. клин. стоматология. – 2006. - № 3. – С. 8-13,
10. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. // Н.Новгород, Изд. НГМА, – 2001. - изд. 2. – 425с,
11. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. // М., Медицина. – 1999 – 245с;
12. Вишнякова Л.А., Путов Н.В. Этиологическая структура пневмоний у пациентов различных возрастных категорий. // Тер. Архив. - 1996. - № 3. - С. 5-18.
13. ВОЗ Стандарты эпиднадзора за управляемыми инфекциями. – 2018. – 19с.
14. Доморадский И.В. Молекулярно-биологические основы изменчивости *H. Pylori*. Ж. Микробиол. – 2002. – № 3. – С. 79-84
15. Зубков М.Н. Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований. // Клин. микробиол. Антимикоб. Химиотерапия. – 2004. – т. 6. –№2.-151.
16. Ильченко С.И., Мишина Н.В., Фиалковская А.А., Жукова Л.А. Особенности микробного пейзажа верхних дыхательных путей у детей с микроаспирационным синдромом на фоне поражения центральной нервной системы. – Ж.Клиническая педиатрия. – 2018. - №13/8. – С.749-753.
17. Колоскова Е.А.- Характеристика штаммов, циркулирующих на отдельных территориях Республики Казахстан среди носителей и больных пневмококковой инфекцией.- Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD). – Алматы. – 2018.
18. Котовой А.Л. Нормофлора и дисбактериозы человека, 2008, Алматы, ТОО «Люкс Биндер Сервис» – 213с.
19. Кренделев М.С.- Нормальная микрофлора ротовой полости человека // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5.
20. Кулешевич Е.В., Савичева А.М., Аржанова О.Н., Суворов А.Н. – Распространенность и генетическая организация «острова патогенности» №ХП у клинических штаммов стрептококков группы В. - Молекулярная генетика , микробиология и вирусология.- 2013.- №1.-С.26-30.
21. Лобзин Ю.В. Руководство по инфекционным болезням // СПб, Фолиант. – 2000. – 932с.
22. Маянский Н. А., Алябьева Н. М., Пономаренко О. А., Куличенко Т. В., Артемова И. В., Лазарева А. В.,Бржозовская Е. А., Шамина О. В., Катосова Л. К. Динамика распространенности серотипов и антибиотикорезистентности носоглоточных пневмококков, выделенных у детей в 2010–2016 гг.: результаты ретроспективного когортного исследования. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16 (5): 413–423. doi: 10.15690/vsp.v16i5.1806.
23. Миронов А.Ю., А.Ю., Савицкая К.И., Воробьев А.А. Условно патогенные микроорганизмы при заболеваниях дыхательных путей у больных региона Московской области. // Ж. Микробиол. – 2000. – № 1. – С.81-84
24. Михайлов Е.С, Червинец В.М, Червинец Ю.В. и др. Микрофлора желудочно-кишечного тракта у больных хроническим холециститом. // Ж. Микробиол. - 2008. - № 4. - С. 103-105.

25. Подкопаев Я.В., Домотенко Л.В., Морозова Т.П., Храмов М.В., Шепелин А.П.- Отечественные питательные среды для диагностики гнойных бактериальных менингитов. – Ж. Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. - №5. – С.59-64.
26. Приказ № 535 МЗ СССР. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. // Москва. – 22.04.1985г
27. Разумова С.Н, Мороз А.Ф. Микробиоценоз полости рта у пациентов различных возрастных групп. // Ж. Микробиол. – 2008. – № 3. – С. 74-76,
28. Рамазанова Б.Ф., Мустафина К.К., Колоскова Е.А. –Методы лабораторной диагностики пневмококковой инфекции и их оценка.- Ж. Вестник КазНМУ. -2016. - №1. -С. 498 -503
29. Фельдман Ю.М., Маханеева Л.Г., Шапиро А.В. и др. Количественное определение бактерий в клинических материалах. // Лаб. Дело. – 1988 – № 4. – С. 616-618;
30. Шапошникова Т.Б., Окунев Д.Ю. Лабораторная служба: Правовые основы и нормативные документы. // М., 1999. – 314с,
31. Croucher NJ, Harris SR, Fraser C, et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions. *Science*. 2011; 331(6016):430–434. doi: 10.1126/science.1198545
32. Richard V Coering, Hazel M Dockrell, Mark Zuckerman et all.//Mims`Medical Microbiology.–2008.–P.78-82.
33. Hill P. C., Cheung Y.B., Akisanya A., SankarehK., Lahai G., GreenwoodB. M., AdegbolaR.A. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Gambian infants: a longitudinal study// *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. –2008. -№46(6).–P. 807-814
34. TurnerP, TurnerC., Jankhot A., Helen N., LeeSue J., Day Nicholas P., White Nicholas J., NostenFrancois, GoldblattD. A longitudinal study of *Streptococcus pneumoniae* carriage in a cohort of infants and their mothers on the Thailand-Myanmar border// *PloS One*.–2012. –№7(5). –P. 38271
35. World Health Organization. Invasive Bacterial Vaccine Preventable Diseases Laboratory Network. In: Immunization, vaccines and biologicals [website]. Geneva: World Health Organization; 2017 (http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/IBVPD/).