

УДК 618.3-06:616.98:579.861.2-022.362-036.2

Ю. А. Захарова, О. С. Глазков

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ОПТИМИЗАЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ С УЧАСТИЕМ СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ В (*S. AGALACTIAE*) СРЕДИ РОДИЛЬНИЦ И НОВОРОЖДЕННЫХ В АКУШЕРСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Аннотация. Работа посвящена изучению уровня заболеваемости гнойно-септическими инфекциями и случаев носительства, обусловленных *S. agalactiae*, среди родильниц и новорожденных с использованием эпидемиологических методов активного выявления и усовершенствованных микробиологических методик по идентификации возбудителя. Установлено, что разработанный способ микробиологической диагностики *S. agalactiae* и активный поиск ГСИ на основе эпидемиологических стандартных определений случая позволяет установить истинный уровень распространения этих инфекций в акушерском стационаре, выявить ведущие клинические формы и установить наиболее предпочтительный биологический материал для изучения.

Ключевые слова: гнойно-септические инфекции, стрептококк группы В, микробиологическая диагностика, эпидемиологический мониторинг.

Abstract. Work is devoted to studying of level of disease by purulent-septic infections and cases of the colonization, caused by *S. agalactiae* among women in childbirth and newborns with use of epidemiological methods of active revealing and advanced microbiological techniques on activator identification. It is established that the developed way of microbiological diagnostics of *S. agalactiae* and active search of GSI on the basis of epidemiological standard definitions of a case allows to establish true level of distribution of these infections in a maternity hospital, to reveal leading clinical forms and to establish the most preferable biological material for studying.

Keywords: purulent-septic infections, group B streptococcus, microbiological diagnostics, epidemiological monitoring.

Введение

Среди стрептококков, этиологически значимых в развитии послеродовых гнойно-септических инфекций (ГСИ), удельный вес стрептококка группы В (*Streptococcus agalactiae*), по данным ряда авторов, составляет около 40 % [1]. Колонизация урогенитального тракта беременной *S. agalactiae* неблагоприятно влияет на течение гестационного периода и родов. Возбудитель представляет серьезную угрозу для жизни новорожденного ребенка, обуславливая развитие молниеносных форм генерализованной инфекции, летальность при которой может достигать от 50 до 70 % [2].

Вместе с тем отсутствие в стране единой системы официальной регистрации инфекций, вызванных стрептококком группы В, и доступных микро-

биологических методик по идентификации возбудителя не позволяет установить истинную частоту распространения этих инфекций среди родильниц и новорожденных.

Целью настоящего исследования явились оптимизация микробиологической диагностики и изучение эпидемиологических особенностей гнойно-септических инфекций, обусловленных *S. agalactiae* (стрептококком группы В) в акушерском стационаре.

1 Материалы исследований

Работа выполнена на базах двух ведущих перинатальных центров Пермского края. Проспективным эпидемиологическим наблюдением с использованием микробиологического мониторинга были охвачены 150 женщин в период беременности (30 недель), родов и послеродовой период (на третьи сутки) и их 150 новорожденных детей.

Микробиологический мониторинг включал изучение 1950 клинических материалов. У женщин исследовали вагинальные секреты и мочу в 30 недель беременности, вагинальное отделяемое, мочу и плацентарную ткань с оболочками (послед) в период родов, вагинальные мазки и мочу на третий день после родов. У новорожденных изучали мазки с заушной и кожной складки в период родов, мазки с заушной складки, из глаз, содержимое пупочной ранки и кишечника на третий день жизни. Забор и первичный посев клинического материала осуществляли общепринятыми методами в соответствии с регламентирующими документами [3].

Изучение гнойно-септической заболеваемости включало анализ данных официальной регистрации и активный поиск ГСИ с использованием стандартных определений случая [4–6].

Данные микробиологического обследования пациентов сопоставляли с результатами санитарно-гигиенического исследования 179 объектов внешней среды изучаемых учреждений на наличие в них *S. agalactiae*, включая смывы с поверхностей предметов, рук и перчаток медицинского персонала, санитарно-технического оборудования, хозяйственного и бытового инвентаря, оборудования и дезинфицирующих средств.

2 Методика микробиологической диагностики стрептококка группы В (*S. agalactiae*)

К **стрептококкам группы В**, согласно классификации Р. Лендсвилдт, относится единственный вид – *Streptococcus agalactiae* [7]. Наиболее близкими по своим биологическим свойствам представителями со стрептококками группы В являются энтерококки (*Enterococcus spp.*), включающие 16 видов: *E. dispar*, *E. malodoratus*, *E. seriolicida*, *E. solitarius*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. muntiditti*, *E. avium*, *E. cecorum*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, *E. durans*, *E. pseudoavium*. В настоящее время из перечисленных выше видов микроорганизмов регламентирующими документами определяют лишь три: *S. agalactiae*, *E. faecalis*, *E. faecium*. При этом в качестве ведущего признака используют КАМП-тест, представляющий значительную сложность при постановке [3]. Недостатками других методов дифференциальной диагностики *S. agalactiae* являются большое количество дифференцирующих тестов и (или) высокая стоимость анализа [7]. Повышение степени достоверности видовой дифференциальной диагностики *S. agalactiae* и

Enterococcus spp. и сокращение сроков анализа до 3–4 суток (вместо 5–6) было достигнуто путем определения биологических свойств стрептококка группы В и энтерококков с использованием восьми ведущих тестов, результатом чего явилась представленная методика.

Исследуемую чистую культуру-колонию стрептококка (энтерококка) со среды первичного посева (обычно это 5 % кровяной агар) переседали на комбинированный трехсахарный агар Олькеницкого. Учет проводили через 18 ч инкубации при 35–37 °С. Разложение глюкозы и лактозы до кислоты без газа позволяло дифференцировать *S. agalactiae* и энтерококки от остальных групп стрептококков, все представители которых не росли на агаре Олькеницкого. Отличительным признаком стрептококка группы В от энтерококков явилось отсутствие его роста на агаре с 6,5 %-м содержанием NaCl.

Впоследствии для видового типирования *S. agalactiae* и энтерококков использовали дифференцирующие признаки: образование кислоты из лактозы, сахарозы, ксилозы, аргинина, маннита, сорбита, наличие роста культуры в полужидкой среде для контроля стерильности (СКС) и восстановление теллурита из его соединения с калием (табл. 1.)

Таблица 1
Дифференцирующие признаки *S. agalactiae* от *Enterococcus spp.*

Вид микроорганизма	Дифференцирующие тесты								
	Наличие роста на агаре с 6,5 % NaCl	Наличие роста в режиме 45 °С	Разложение лактозы	Разложение сахарозы	Разложение ксилозы	Разложение аргинина	Разложение маннита	Разложение сорбита	Восстановление теллурита калия
<i>S. agalactiae</i>	–	–	<i>d</i>	...	...	+	–	–	+
<i>E. dispar</i>	+	–	+	+	...	+	–	...	+
<i>E. malodoratus</i>	+	–	+	+	<i>d</i>	–	+	+	–
<i>E. seriolicida</i>	+	+	–	–	–	+	+	+	–
<i>E. solitarius</i>	+	+	–	+	–	+	+	+	
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+	+	+	+	+	–	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	+
<i>E. munditii</i> (желтый)	+	+	+	+	+	+	+	<i>d</i>	–
<i>E. avium</i>	+	+	+	+	–	–	+	+	–
<i>E. cecorum</i>	+	+	+	+	–	–	–	–	
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	–	+	+	+	+
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	–	+	+	–	–
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	–	+	–	–	+
<i>E. raffinosus</i> *	+	+	+	+	–	–	+	+	...
<i>E. saccharolyticus</i>	+	+	+	+	...	–	+	+	...
<i>E. durans</i>	+	+	+	–	–	+	–	–	–
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	+	–	–	–	+	+	...

Примечание. «+» – положительный признак; «–» – отрицательный признак; «*d*» – варибельный признак (10–20 % положительных находок); «...» – нет данных; **E. raffinosus* – глицерин, *E. saccharolyticus* – глицерин +.

Используемый алгоритм видовой дифференциальной диагностики стрептококка группы В от энтерококков был проверен на штаммах *S. agalactiae* № 6175 (Lister Institute, London), *E. faecalis* ATCC 29212, других контрольных штаммах НИИ им. Тарасевича и более чем на 500 культурах стрептококков и энтерококков, выделенных из образцов биологического материала от больных с гнойно-септической патологией.

Таким образом, способ видовой дифференциальной диагностики стрептококка группы В и энтерококков был информативен и позволял идентифицировать 16 видов энтерококков и *S. agalactiae*. Он достоверен, не удлинял сроки производства анализа и проводился на стандартных питательных средах. Это позволило получить на разработанный метод дифференциальной диагностики *S. agalactiae* патент РФ на изобретение № 2327161 от 20.06.2008 г. [8].

3 Результаты и обсуждение

Как показали исследования, ни у одной из 150 женщин, охваченных проспективным эпидемиологическим наблюдением, в период беременности не было зарегистрировано ГСИ, обусловленных *S. agalactiae*, или случаев носительства. В период родов *S. agalactiae* был выделен у восьми родильниц, в том числе у шести женщин из последа и у двух – из последа и влагалища, что составило 5,3 на 100 случаев. На третий день после родов *S. agalactiae* высевался только у шести родильниц, в том числе из вагинального секрета и мочи – у четырех, из влагалища или мочи – у двух. Уровень колонизации составил 4,0 на 100. В дальнейшем у пяти родильниц из этой группы развились гнойно-септические осложнения: инфекция мочевыводящих путей – у четырех женщин (включая две тяжелые формы острого послеродового пиелонефрита); поверхностная раневая инфекция (в виде нагноения швов) – у одной. Все развившиеся формы ГСИ протекали с использованием массивной антибактериальной терапии и привели к значительному увеличению сроков послеродовой госпитализации (12–18 дней).

Таким образом, колонизация родильниц *S. agalactiae* в $62,5 \pm 17,1$ % наблюдений (у пяти женщин из восьми) переросла в манифестную форму ГСИ.

Среди новорожденных в момент родов *S. agalactiae* был выделен в двух случаях, что соответствовало показателю 1,3 на 100. У одного ребенка возбудитель колонизировал кожную складку, у другого – заушную складку и кожу. На третий день после рождения количество детей с положительными посевами *S. agalactiae* возросло до шести человек (4,0 на 100 случаев). У четырех детей микроорганизм был обнаружен только в пупочной ранке, у одного – в пупочной ранке и содержимом конъюнктивы, у одного – в пупочной ранке и кале. В последующем ГСИ с участием *S. agalactiae* развились у пяти колонизированных детей. У четырех новорожденных инфекция протекала в форме омфалита, у одного ребенка имела место сочетанная форма (омфалит-конъюнктивит).

В целом колонизация новорожденных стрептококком группы В составила 4,0 на 100 случаев (шесть детей). У $83,3 \pm 15,2$ % новорожденных (пять детей) она переросла в манифестную форму ГСИ и преимущественно была связана с патологией пупочного кольца. При этом у пяти из шести колонизированных стрептококком детей возбудитель был ранее выделен из последа матери, что свидетельствовало о внутриутробном характере их инфицирова-

ния. Отметим, что в этой группе пар «мать–дитя» в момент родов *S. agalactiae* был обнаружен только у одной роженицы и у двух детей. Следовательно у родильниц и новорожденных для ранней (доклинической) диагностики заболеваний, обусловленных *S. agalactiae*, предпочтительным материалом для исследования явился послед.

В ходе микробиологических исследований проб с объектов больничной среды на наличие в них стрептококка группы В ни в одном из изучаемых нами акушерских стационаров *S. agalactiae* обнаружен не был.

Заключение

Разработанный способ микробиологической дифференциальной диагностики *S. agalactiae* позволил установить истинный уровень их распространения среди родильниц (5,3 на 100 случаев) и новорожденных (4,0 на 100). В $62,5 \pm 17,1$ % наблюдений у матерей и $83,3 \pm 15,2$ % у детей в ранний послеродовой период (на 3–5 сутки после родов) колонизация *S. agalactiae* переросла в манифестацию инфекционно-воспалительного процесса. Общий уровень заболеваемости ГСИ с участием стрептококка группы В среди родильниц и новорожденных составляет 3,3 на 100. У родильниц ГСИ, обусловленные *S. agalactiae*, в $80,0 \pm 17,9$ % случаев протекают с поражением мочевыводящих путей. У новорожденных ведущей клинической формой ГСИ является омфалит. Для предэпидемической диагностики инфекций с участием стрептококка группы В, характеризующих эндогенный тип инфицирования, предпочтительным биологическим материалом является послед.

Список литературы

1. **Easmon, C. S. F.** The carrier state: Group B Streptococcus / C. S. F. Easmon // J. Antimicrobial Chemotherapy. – 1986. – № 8 (Suppl A). – P. 59–65.
2. **Зуева, Л. П.** Эпидемиология и профилактика заболеваний, вызываемых стрептококками группы В. Информационное письмо / Л. И. Зуева, А. А. Тотолян, В. А. Савина. – СПб., 2000. – 10 с.
3. Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» № 535.
4. **Захарова, Ю. А.** Совершенствование эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в акушерских стационарах на основе оптимизации эпидемиологического и микробиологического мониторингов : дисс. д-ра мед. наук / Захарова Ю. А. – Пермь, 2009. – 318 с.
5. **Зуева, Л. П.** Стандарты инфекционного контроля для стационаров Санкт-Петербурга / Л. П. Зуева, С. Р. Еремин, А. В. Любимова и др. – СПб., 1997. – 7 с.
6. Практическое руководство: Основы инфекционного контроля / Американский международный союз здравоохранения ; пер. с англ. – 2-е изд. – М. : Альпина Паблишер, 2003. – 478 с.
7. **Holt, J.** Bergey's Manual of determinative bacteriology Ninth Edition / J. Holt, N. Krieg, P. Sneath et al. // Baltimore-Philadelphia-Hon Kong-London et al. – 1997. – V. 2. – 799 p.
8. **Захарова, Ю. А.** Способ видовой дифференциальной диагностики стрептококков группы В и группы D / Ю. А. Захарова // Патент РФ на изобретение № 2327161.

Захарова Юлия Александровна

кандидат медицинских наук, ассистент,
кафедра эпидемиологии с курсом
гигиены и эпидемиологии, факультет
повышения квалификации
и профессиональной подготовки
специалистов, Пермская государственная
медицинская академия им. академика
Е. А. Вагнера

E-mail: permbiolab@mail.ru.

Zakharova Yuliya Alexandrovna

Candidate of medical sciences, assistant,
sub-department of epidemiology with
the course of hygiene and epidemiology,
department of refresher and vocational
training of specialists, Perm State Medical
Academy named after E. A. Vagner

Глазков Олег Сергеевич

заместитель генерального директора
научно-производственного объединения
«Микроген» (г. Москва)

E-mail: glazkov_market@mail.ru.

Glazkov Oleg Sergeevich

Deputy director of scientific-manufacturing
enterprise «Microgen» (Moscow)

УДК 618.3-06:616.98:579.861.2-022.362-036.2

Захарова, Ю. А.

Эпидемиологические особенности и оптимизация микробиологической диагностики гнойно-септических инфекций с участием стрептококка группы В (*S. agalactiae*) среди родильниц и новорожденных в акушерском стационаре / Ю. А. Захарова, О. С. Глазков // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – № 2 (10). – С. 44–49.