

*На правах рукописи*

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
"САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ"  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ЧИГИЩЕВ АНДРЕЙ ПАВЛОВИЧ**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ У  
ВЗРОСЛЫХ**

14.01.25 – Пульмонология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Жестков Александр Викторович

Самара 2015

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Список сокращений</b> .....	4
<b>Введение</b> .....	6
<b>Глава 1. Обзор литературы</b> .....	11
1.1. Общая характеристика и патогенетические механизмы развития внебольничной пневмонии .....	11
1.2. Современные представления о клинической картине ВП и методах её диагностики .....	15
1.3. Иммунологические изменения при внебольничной пневмонии .....	24
1.4. Микробиологические аспекты внебольничной пневмонии .....	29
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b> .....	36
2.1. Методы общеклинического исследования .....	37
2.2. Инструментальные методы исследования .....	39
2.2.1 Рентгенография органов грудной клетки .....	39
2.3. Пульсоксиметрия .....	39
2.3. Иммунологическое исследование .....	40
2.3.1. Взятие и хранение крови .....	40
2.3.2. Метод проточной цитометрии .....	40
2.3.3. Методика определения иммуноглобулинов А, М, G посредством иммуноферментного анализа.....	42
2.3.4. Методика определения уровня интерлейкинов и С-реактивного белка .....	44
2.3.5. Выявление антигена пневмококка в моче быстрым иммунохроматографическим тестом BinaxNOW® <i>Streptococcus pneumoniae</i> Test .....	47
2.4. Микробиологическое исследование .....	49
2.5. Методика статистического анализа .....	50
<b>Глава 3. Клинические особенности течения внебольничной пневмонии у обследованных групп больных</b> .....	52
3.1. Исследование качества оказания медицинской помощи.....	52
3.2. Характеристика исследуемых групп больных.....	54

3.3. Комплексный анализ клинических признаков.....	58
<b>Глава 4. Анализ инструментальных и лабораторных методов исследования .....</b>	<b>63</b>
4.1. Результаты оценки инструментальных исследований.....	63
4.2. Результаты оценки лабораторных показателей .....	65
4.3. Иммунологические особенности внебольничных пневмоний у обследованных групп больных.....	69
4.4 Результаты микробиологических исследований .....	90
4.5 Результаты использования мочевого теста BinaxNOW® <i>S. pneumoniae</i> при ВП у госпитализированных пациентов .....	96
<b>Глава 5. Математическое моделирование степени тяжести внебольничных пневмоний.....</b>	<b>100</b>
5.1. Модель тяжести течения внебольничной пневмонии.....	101
5.2. Проверка разработанной модели. Клинические примеры.....	105
<b>Обсуждение собственных результатов и заключение .....</b>	<b>111</b>
<b>Выводы.....</b>	<b>123</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>	<b>125</b>
<b>Библиографический список .....</b>	<b>126</b>

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АгП	антиген пневмококка
АМП	антимикробные препараты
ВДП	верхние дыхательные пути
ВОЗ	всемирная организация здравоохранения
ВП	внебольничная пневмония
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ИКЧ	индекс курящего человека
ИЛ	интерлейкины
МКА	моноклональные антитела
МПК	минимальная подавляющая концентрация
МУК	методические указания
ОРИТ	отделение реанимации и интенсивной терапии
ОРВИ	острая респираторная вирусная инфекция
ПТИ	протромбиновый индекс
РРО	Российское респираторное общество
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
СРБ	С-реактивный белок
ТМБ	хромоген тетраметилбензидин
ФНО- $\alpha$	фактор некроза опухолей альфа
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
ATS	American Thoracic Society (англ. дословно – американское торакальное общество)
BTS	British Thoracic Society (англ. дословно – британское торакальное общество)
CD	кластеры дифференцировки
FiO <sub>2</sub>	фракция кислорода во вдыхаемом воздухе
G-CSF	гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
IDSA	Infectious Diseases Society of America (англ. дословно – американское общество по инфекционным заболеваниям)

Ig	иммуноглобулины
IL	интерлейкины
MCP-1	моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1
PaO <sub>2</sub>	парциальное давление кислорода в артериальной крови
RPM	количество оборотов в минуту
SpO <sub>2</sub>	насыщение артериальной крови кислородом

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы

Внебольничная пневмония относится к частым заболеваниям у человека, являющимся одной из главных причин смерти от инфекционных болезней. В России ежегодно ВП заболевает более 1,5 млн человек (Чучалин А.Г. и др., 2010). Внебольничная пневмония сохраняет за собой четвертое место в качестве причины временной нетрудоспособности взрослого населения (Чучалин А.Г. и др., 2014).

Важной проблемой на сегодняшний день остается увеличение числа смертельных исходов среди больных тяжелой ВП. У авторов имеются различные данные по уровню летальности: в пределах от 2-3 до 25 %, а в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) - до 30-40 % (Синопальников А.И., 2003, Bradley J.S., 2002). Ведущим механизмом в патогенезе заболевания является микроаспирация бактерий, составляющих нормальную микрофлору верхних дыхательных путей. Таким образом, пневмония – результат нарушения механизмов защиты трахеобронхиального дерева и (или) снижения резистентности макроорганизма (Новиков Ю.К., 2004, Маянский А.Н., 2006).

Из многочисленных микроорганизмов лишь те, что обладают высокой вирулентной способностью, могут вызвать воспалительный процесс при попадании в нижние отделы дыхательных путей. К таким возбудителям, в первую очередь, относится пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), который выявляется в 30-50 % случаев заболевания. На втором месте находятся возбудители так называемой «атипичной» пневмонии - *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, удельный вес которых составляет в пределах от 3 до 22 %. К редким возбудителям ВП относятся *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* (3-5 %). Очень редко ВП может вызывать

*Pseudomonas aeruginosa* при наличии у больного бронхоэктазов или муковисцидоза (Чучалин А.Г. и др., 2010, Luna С.М., Famiglietti А., Absi R. et al., 2000, Lim W.S., Macfarlane J.T., Bosivell T.C. et al., 2001).

В последнее время встречается использование экспресс-тестов методом выявления растворенных антигенов микроорганизмов в биологических жидкостях, в частности, в моче. Впервые они были рекомендованы американским торакальным обществом в 2007 г. в качестве скрининга для определения возможной этиологии ВП и назначения соответствующей этиотропной терапии (Дворецкий Л.И., Александрова М.А., 2008).

Активность Т- и В-лимфоцитов, антител и функции цитокинов определяют степень выраженности течения воспалительного процесса в легких, в том числе его исход (Хаитов Р.М., 2000, Воробьев А.А. и др., 2006, Рабсон А., 2006). Цитокины могут играть как протективную роль, так и способствовать деструкции ткани легкого, приводить к усилению воспаления и нарушению защитных сил организма (Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Чернеховская Н.Е., 2002, Мавзютова Г.А, 2010).

Учет перечисленных моментов важен для прогнозирования этиологии пневмоний внебольничного происхождения, планирования тактики микробиологического обследования и дополнения схем ведения пациентов.

Таким образом, представляется актуальным провести комплексный анализ клинических, микробиологических и иммунологических показателей у пациентов с внебольничной пневмонией.

### **Цель исследования**

Улучшение результатов диагностики и оптимизация ведения пациентов с внебольничной пневмонией, а также профилактика заболевания на основе комплексного анализа клинических, иммунологических и микробиологических особенностей.

### **Задачи исследования**

1. Изучить клиническую картину внебольничной пневмонии у госпитализированных пациентов в возрасте старше 18 лет, оценить качество оказания медицинской помощи в соответствии с национальными клиническими рекомендациями (2010).

2. Описать особенности иммунного гомеостаза (гуморальные и клеточные факторы иммунитета) у больных внебольничной пневмонией, выявить их соотношения с клиническими данными.

3. Определить структуру возбудителей внебольничной пневмонии у пациентов в возрасте старше 18 лет и оценить диагностические перспективы использования экспресс-теста VinoxNOW® *S. pneumoniae*.

4. Разработать математическую модель ранней оценки тяжести течения внебольничной пневмонии у взрослых пациентов.

### **Научная новизна**

В диссертации описаны современные особенности клинического течения внебольничной пневмонии у взрослых госпитализированных пациентов. У них проведена оценка соответствия индикаторам качества медицинской помощи при внебольничной пневмонии.

Проанализированы отдельные показатели иммунного гомеостаза у больных внебольничной пневмонией. Выявлена взаимосвязь между тяжестью течения ВП и уровнем МСР-1 в периферической крови. Определено, что ведущим фактором, обуславливающим степень тяжести заболевания, является нарушение клеточных факторов иммунитета, вследствие которого происходит дисбаланс цитокинов.

Получены новые данные по структуре возбудителей ВП у госпитализированных пациентов в Самарской области.

Впервые в Самарской области использован иммунохроматографический экспресс-тест ин-витро диагностики антигенов пневмококка в моче у пациентов с внебольничной пневмонией (BinaxNOW ® *S. Pneumoniae*).

Разработана модель ранней оценки тяжести внебольничной пневмонии у больных.

### **Практическая значимость**

На основе имеющихся результатов клинических, иммунологических и микробиологических исследований уточнены схемы ведения пациентов с внебольничной пневмонией.

В качестве нового способа диагностики пневмококковой пневмонии у больных предлагается иммунохроматографический тест BinaxNOW ® *S. Pneumoniae*.

Разработанная математическая модель внебольничной пневмонии у пациентов позволяет провести оценку тяжести течения заболевания на ранних этапах диагностики.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Проведенная оценка индикаторов качества медицинской помощи при внебольничной пневмонии у госпитализированных пациентов выявила несоответствие целевому уровню на 44,7 %.

2. Одним из ведущих факторов, обуславливающих степень тяжести внебольничной пневмонии, является нарушение реактивности Т-клеточного звена, вследствие которого происходит дисбаланс цитокинового статуса.

3. В этиологической структуре внебольничной пневмонии у госпитализированных пациентов до 32,9 % занимают *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* и *Haemophilus influenzae* в совокупности.

4. Результаты комплексных (микробиологического и иммунохроматографического) методов исследования подтверждают высокую

значимость пневмококка в этиологии пневмонии у больных, не привитых против данного патогена. Чувствительность теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* при проведении этиологической у больных ВП составила 80,0 %, специфичность – 96,2 %.

5. Построение математической модели внебольничной пневмонии у пациентов на основании анализа результатов клинического, лабораторного и инструментального обследований позволяет оценить тяжесть течения внебольничной пневмонии и уточнить индивидуальный прогноз больного на ранних стадиях заболевания.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Общая характеристика и патогенетические механизмы развития внебольничной пневмонии

Внебольничная пневмония это заболевание с острым течением, возникшее во внебольничных условиях, которое сопровождается такими симптомами, как лихорадка, кашель, выделение мокроты, боли в грудной клетке, одышка, и рентгенологическими признаками «свежих» очагово-инфильтративных теней в лёгочной ткани при отсутствии очевидной диагностической альтернативы (Чучалин А.Г. и др., 2014).

Внебольничная пневмония (ВП) относится к одному из самых распространенных заболеваний инфекционной (в большинстве своем бактериальной) этиологии у людей всех возрастных групп. Заболевание сопровождается высокой смертностью, особенно среди лиц пожилого возраста и новорожденных (Зубков М.Н., Гугуцидзе Е.Н., 1997, Чучалин А.Г. и др., 2010).

По данным ВОЗ пневмония находится на четвертом месте в общей структуре причин смертности от инфекционных заболеваний. В Российской Федерации в 2006 году было зарегистрировано порядка 60 тысяч случаев заболевания, что составило 4,14 ‰. Заболеваемость при этом у лиц в возрасте старше 18 лет составила 3,44 ‰. Наибольший процент заболеваемости пневмонией у взрослых был отмечен в сибирском (4,18 ‰) и северо-западном регионах (3,69 ‰), наименьший – в Центральном Федеральном округе (3,07 ‰). Однако истинная заболеваемость ВП в России может достигать 15 ‰, а общее число больных, вопреки данным официальной статистики, превышает 1,5 млн. человек ежегодно («Заболеваемость населения России в 2006 году», 2007).

Заболеваемость ВП у взрослых в иностранных регионах, по данным эпидемиологических исследований, колеблется в широком диапазоне. Так у

лиц молодого и среднего возраста она составляет 1 – 11,6 ‰, в старших возрастных группах – в пределах от 25 ‰ до 44 ‰. Общее число взрослых больных с ВП превышает 3 млн. человек в течение одного года в 5 европейских странах (Великобритания, Франция, Италия, Германия, Испания) (Lim W.S., Vaudouin S.V., George R.C. et al., 2009).

Более 5 млн. случаев ВП ежегодно диагностируется в США, более 1,2 млн. из которых необходима госпитализация. Из числа поступивших в стационар умирают более 60 тыс. человек с патологоанатомическим диагнозом «внебольничная пневмония» (Mandell L.M., Wunderink R.G., Anzueto A., 2007).

В течение последних нескольких лет имеется тенденция к снижению смертности от пневмонии, однако при этом в России умирают более 37 тыс. человек от данного заболевания ежегодно. Среди всех респираторных заболеваний пневмония – наиболее частая причина смертности населения Российской Федерации. По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, за период с января по октябрь 2011 г. заболеваемость внебольничной пневмонией в России составила 252,6 случаев на 100 тыс. населения (Новиков Ю.К., 2011).

Наименьший процент летальности (1-3 ‰) при внебольничной пневмонии оказывается у лиц молодого и среднего возраста, не имеющих сопутствующие заболевания. Тогда как у пациентов старшей возрастной группы (>60 лет), у которых часто диагностируется сопутствующая патология, а также при тяжелом течении ВП (инфильтрация нескольких долей легких, бактериемия с возможным сепсисом, тахипноэ, снижение артериального давления, острая почечная недостаточность) этот показатель достигает 15-30 ‰ (Блюменталь И.Я., 2011, Бородулин Б.Е, 2012).

Механизмы развития пневмоний разнообразны и зависят от этиологии, а также путей проникновения инфекционного агента в легкие. Выделяют следующие пути попадания микроорганизмов в легкие: микроаспирация секрета из носо- и ротоглотки; аспирация аэрозоля, в котором содержатся

патогенны; распространение микроорганизмов током крови из внелегочного очага инфекции и непосредственно из соседних пораженных органов (Никонова Е.В., Черняев А.Л., Чучалин А.Г., 1997, Косарев В.В., Сиротко И.И., 2002).

Ведущим механизмом в патогенезе заболевания является микроаспирация бактерий, составляющих нормальную микрофлору верхних дыхательных путей. Состав бактерий, населяющих ротоглотку, у пациентов может отличаться в зависимости различных условий (факторы внешней среды, возраст, общее состояние здоровья, наличие сопутствующих заболеваний, предшествующая антимикробная терапия) (Сиротко И.И., 2005, Логвиненко, А.С., 2004, Зубков М.Н., 2006).

При этом немаловажным является длительное персистирование бактерий в организме хозяина, а также переход инфекционного процесса в хроническую форму. Обеспечивается это механизмами персистенции микроорганизмов, заключающихся в инактивации/деградации факторов естественной противoinфекционной резистентности: лизоцима, системы комплемента, интерферона, тромбоцитарного катионного белка, лактоферрина (Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Карташова О.Л., 2002, de Roux, 2004).

Персистирование микроорганизмов обусловлено состоянием их индифферентности к воздействующим физико-химическим факторам внешней природы, обеспечением устойчивых противопоставляющих эффектов в биоценозе и сохранением жизнеспособности популяции за счёт приобретения устойчивости к защитным механизмам хозяина (Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И., 2005).

Легкие человека являются самой большой по площади ( $80 \text{ м}^2$  на выдохе и  $120 \text{ м}^2$  на вдохе) мембраной, которая отделяет макроорганизм от факторов внешней среды. Поэтому имеются различные защитные системы, предотвращающие попадание инфекции в легочную ткань (Сиротко И.И., 2005).

Среди них можно указать мукоцилиарный клиренс, продукцию неспецифических защитных субстанций (лизозим, фибронектин), продукцию иммуноглобулинов (в основном секреторного IgA, вырабатываемого плазматическими клетками слизистой оболочки), а также фагоцитоз. Эти защитные механизмы ограничивают действие условно патогенных микроорганизмов (Косарев В.В., Бабанов С.А., 2011).

Наиболее значимой частью механической очистки является мукоцилиарный клиренс на уровне бронхов и бронхиол (выработка секрета, движение ресничек), обладающий бактериостатической и барьерной функциями. Разрушение последнего приводит к нарушению и деструкции цилиндрического эпителия, вследствие чего изменяются бактерицидные свойства слизи (Сабитова Р.Я., Жестков А.В., 2012).

Клеточные механизмы неспецифической защиты играют важную роль преимущественно в респираторном отделе легких. Главными клетками здесь являются лейкоциты, макрофаги, эозинофилы и макрофаги. При массивной бактериальной агрессии происходит выброс этими клетками таких хемокинов, как ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, MCP-1, компонентов системы комплемента, а также G-CSF, что имеет важное значение при развитии пневмонии (Симбирцев А.С., 2000, Агаджанян В.В., Устьянцева И.М., Скопинцев М.А., Петухова О.В., 2006).

Гуморальные факторы защиты осуществляют иммуноглобулины А и G, лимфоидные клетки, макрофаги лимфоидной ткани и лимфатических узлов легких и бронхов. IgA обеспечивает агглютинацию бактерий и нейтрализует их токсины. IgG в нижних отделах дыхательных путей агглютинирует и опсонизирует бактерии, активирует систему комплемента, благодаря чему ускоряется процесс хемотаксиса нейтрофилов и макрофагов (Скопинцев М.А., 2005).

Возникновение инфекционного процесса становится возможным при нарушении этих механизмов, например, респираторными вирусами, токсическими ингалянтами, табачным дымом (Комар С.И., 2000).

Инфекции нижних дыхательных путей возникают также и при попадании в них микроорганизмов в количестве, превышающем защитные силы макроорганизма, а также при наличии высоковирулентного возбудителя. Нарушение секреции слизи и ее удаления облегчает адгезию микробов к эпителиальным клеткам, что ведет к повреждению последних и усилению адгезии. Так формируется своеобразный порочный круг колонизации (Катосова Л.К., 2001).

Ингаляция аэрозоля, содержащего возбудитель, менее частый путь возникновения ВП. Основная роль при данном виде инфицирования принадлежит «атипичным» возбудителям - *Legionella pneumophila*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* (Синопальников А.И., 2002).

Еще реже встречается вариант распространения инфекции из внелегочного очага и непосредственное распространение возбудителя из пораженных неподалеку тканей или в результате инфицирования при проникающих ранениях грудной клетки (Чучалин А.Г. и др., 2014).

Таким образом, пневмония – результат нарушения механизмов защиты трахеобронхиального дерева и (или) снижения резистентности макроорганизма (Цинзерлинг А.В., 1993, Новиков Ю.К., 2004, Маянский А.Н., 2006).

## **1.2. Современные представления о клинической картине ВП и методах её диагностики**

Следует отметить, что пневмонии классифицируются на два вида, в зависимости от условий, при которых возникло заболевание. Это внебольничные и нозокомиальные (госпитальные) пневмонии. Следует выделить отдельно пневмонии у больных с иммунодефицитными состояниями. Обоснованность такого подхода обусловлена различными причинами возникновения пневмоний и разными подходами к выбору

антимикробной химиотерапии (Навашин С.М., Чучалин А.Г., Белоусов Ю.Б. и др., 1999, Яковлев В.Н., 2002, Чучалин А.Г. и др., 2014, Mandell L.A., 2003).

В последнее время все больше выделяют пневмонии, связанные с оказанием медицинской помощи (healthcare-associated pneumonia). К этой категории можно отнести пневмонии у лиц, находящихся в домах престарелых или других учреждениях длительного ухода; при наличии в анамнезе предшествующей антимикробной терапии в последние три месяца или госпитализации на более чем двое суток в последние 90 дней. По условиям возникновения такие пневмонии рассматриваются как внебольничные. Однако от последних они могут отличаться составом возбудителей и профилем их антибиотикорезистентности (Чучалин А.Г. и др., 2010).

Современные руководства предлагают уйти от термина “атипичная пневмония” и применять понятие “пневмония, вызванная атипичными патогенами”, так как нельзя до конца выяснить природу внебольничной пневмонии (Lim W.S., 2009).

Обычно начало заболевания острое, реже постепенное. Иногда ОРВИ или трахеобронхит предшествуют развитию пневмонии. Клиническая картина пневмоний хорошо изучена и обычно состоит из таких признаков, как повышение температуры до фебрильных и субфебрильных цифр, кашля, продукции мокроты. (Ноников В.Е., Маликов В.Е., Евдокимова С.А., Лукашова Л.Е., Колюбякина И.В., 2005, Ноников В.Е., 2009, Torres A., 1997, Zackon H., 2000).

К неспецифическим клиническим проявлениям относится общеинтоксикационный синдром, основными симптомами которого являются общая слабость, адинамия, головные боли, миалгии, снижение аппетита, тошнота, потливость. Чаще всего данный синдром говорит о степени тяжести заболевания и усиливается при появлении у пациента гнойных или септических осложнений (Тетьянец С.С., 2005).

У некоторых больных отмечаются озноб, гипергидроз, дискомфорт и болезненность в грудной клетке (плевральная боль), одышка. К более редким симптомам можно отнести головную боль, слабость, мышечные боли, артралгии, синкопальные состояния, диарею, тошноту, рвоту. При пневмониях с долевым поражением легочной ткани выявляются признаки её консолидации – укорочение перкуторного звука, появление бронхиального дыхания, усиление голосового дрожания. Крепитация является характерным феноменом, хотя наиболее часто при аускультации выявляются локальные мелкопузырчатые хрипы (Авдеев С.Н., 2004, Сивакова О.Д., 2014, Metlay J.P., 1997).

При пневмонии, вызванной пневмококком, классическими признаками являются острое внезапное начало, лихорадка, озноб, плевральные боли и отхаркивание “ржавой” мокроты. При аускультативном обследовании обнаруживают признаки легочной консолидации и крепитацию. Более медленное развитие воспалительного процесса характерно для пневмонии, вызванной атипичными микроорганизмами (*M.pneumoniae*, *S.pneumoniae*). Основным симптомом является непродуктивный кашель, также часто присутствуют внелегочные симптомы (потеря аппетита, головная и мышечные боли, артралгии). У пожилых больных течение пневмонии может заметно отличаться от такового у молодых пациентов. В 15 % случаев отсутствует лихорадка и в 40 % случаев – кашель у больных в возрасте старше 75 лет. Порой наиболее выраженными проявлениями пневмонии у пожилых являются одышка, учащенное сердцебиение (у 50–75 % больных) (Тартаковский И.С., 2003, Fein A., Grossman R., Ost D., Farber B., Cassiere H., 1999, Paradisi F., 2001).

Внебольничные пневмонии можно условно разделить на 3 группы:

1) пневмонии, не требующие госпитализации. Это самая многочисленная группа больных. Доля всех больных с такой пневмонией составляет до 80 %. Эти больные имеют пневмонию нетяжелого течения и могут получать терапию в амбулаторных условиях. В этой группе есть

разделение на лиц без сопутствующей патологии, не принимавших АМП за последние три месяца, и больных с сопутствующей патологией, имеющих в анамнезе употребление АМП в предшествующие три месяца. Летальность в данной группе не превышает 1–5 %.

2) пневмонии, требующие госпитализации больных в стационар. В эту группу входят около 20 % всех пневмоний. У больных имеются выраженные клинические симптомы и сопутствующие хронические заболевания. Тем не менее, пневмония считается нетяжелого течения. Риск смертности поступивших в стационар пациентов достигает 12 %.

3) пневмонии, требующие госпитализации больных в отделения интенсивной терапии (ОРИТ). У таких пациентов диагностируется тяжелая внебольничная пневмония. Летальность при этом составляет около 40 % (Niederman M.S., Mandell L.A., Anzueto A. et al., 2001).

Для определения тактики ведения, диагностики и лечения пациента очень важна первичная оценка тяжести состояния больного с ВП. Если посмотреть на современные подходы к ведению взрослых пациентов с ВП, то становится ясно, что значительное их число может лечиться амбулаторно или на дому. Поэтому особое значение имеет определение показаний для госпитализации. Существует целый ряд клинико–лабораторных шкал, которые позволяют просчитать возможную степени тяжести пневмонии и дать определенный прогноз и рекомендации по выбору места лечения (Mandell L.A., Bartlett J.G., Dowell S.F. et al., 2003).

В мире наибольшее распространение получила шкала PORT (Pneumonia Outcomes Research Team), требующая определение 20 клинических и лабораторных параметров, на основании которых высчитывается индекс тяжести пневмонии (PSI – pneumonia severity index). Исходя из полученного индекса прогнозируется летальный риск и даются рекомендации по выбору места лечения. Однако для определения PSI необходимо исследование целого ряда биохимических параметров, включая мочевины, натрий, глюкозу, гематокрит, рН артериальной крови, что не всегда доступно для

амбулаторно–поликлинических учреждений и большинства стационаров РФ (Лещенко И.В., 2002).

В настоящее время наиболее приемлемым, с практической точки зрения, является определение степени тяжести ВП по шкале CURB–65 (confusion – нарушение сознания, urea – азот мочевины  $>7$  ммоль/л, respiratory rate – частота дыханий  $\geq 30$ /мин, low blood pressure – низкое артериальное давление, age  $\geq 65$  – возраст  $\geq 65$  лет). По результатам расчета этой шкалы может решиться вопрос о месте лечения пациента – амбулаторно или, при наличии у пациента 2 баллов и более, в стационаре (Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A., Bartlett J.G., Campbell G.D. et al., 2007).

Недостатком использования данной шкалы является необходимость определения мочевины крови, а это не всегда можно выполнить в амбулаторных условиях. Чтобы миновать это исследование шкала была упрощена до CRB–65. Она не требует измерений уровня мочевины крови, но при этом также позволяет прогнозировать летальность и определять показания к госпитализации в отделения терапевтического профиля либо в ОРИТ (Чучалин А.Г. и др., 2014).

Из нововведений стоит отметить недавно разработанную шкалу оценки тяжелой внебольничной пневмонии SCAP (severe community–acquired pneumonia score). При наличии одного из больших критериев (рН крови  $< 7,30$ , уровень систолического давления  $< 90$  мм рт. ст.) и двух из малых критериев (нарушение сознания, азот мочевины  $> 10,71$  ммоль/л, частота дыхания  $> 30$  в минуту, мультилобарное двустороннее поражение легких на рентгенограмме,  $PaO_2 < 54$  мм.рт.ст.,  $PaO_2/FiO_2 < 250$  мм рт. ст., возраст  $\geq 80$  лет) пневмония считается тяжелой и требует нахождения пациента в ОРИТ (Фесенко О.В., Синопальников А.И., 2014).

Её сравнили с часто используемыми индексом тяжести пневмонии (pneumonia severity index – PSI) и шкалой Британского торакального общества (British Thoracic Society) CURB–65. В качестве основных неблагоприятных исходов были рассмотрены: госпитализация в стационар с

последующим переводом в ОРИТ, развитие тяжелого сепсиса, необходимость проведения ИВЛ и неэффективность антимикробной химиотерапии. Оказалось, что с увеличением количества баллов при оценке по шкалам SCAP, PSI или CURB-65 отмечалось увеличение частоты всех вышеперечисленных неблагоприятных исходов, а также увеличение продолжительности госпитализации ( $p < 0,001$ ).

По сравнению с группами высокого риска по шкалам PSI и CURB-65, пациенты из группы высокого риска по шкале SCAP имели больше случаев неблагоприятных исходов. Таким образом, можно заключить, что шкала SCAP превосходит по точности прогнозирования неблагоприятных исходов остальные шкалы, применяющиеся сейчас у пациентов, госпитализированных по поводу ВП (Авдеев С.Н., 2003, Yandiola P.P., Capelastegui A., Quintana J., Diez R., Gorordo I., Bilbao A., Zalacain R., Menendez R., Torres A., 2009).

Также группой исследователей был проведен сравнительный анализ шкал для определения тяжести внебольничной пневмонии. Было проанализировано 300 историй болезни пациентов с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ. По результатам анализа была выполнена валидация шкал APACHE-II, SOFA, CURB-65, CRB-65, PORT и SMRT-CO. В результате установлено, что специализированные шкалы количественной оценки тяжести (PORT, CURB-65, CRB-65 и SMRT-CO) и шкала оценки тяжести органной дисфункции (SOFA) обладают сравнимой информационной значимостью в определении популяционного прогноза при тяжёлой внебольничной пневмонии. Рассчитанные количественные значения шкал могут играть только вспомогательную роль при определении показаний для госпитализации в ОРИТ (Руднов В.А., Фесенко А.А., Дрозд А.В., 2007).

Очень часто бывают случаи, когда пациенты с низким риском неблагоприятного исхода госпитализируются в стационар, тогда как лечение может оказываться в амбулаторных условиях. Не стоит забывать, что перечисленные шкалы являются лишь ориентиром в выборе места лечения.

Этот вопрос должен решаться врачом индивидуально в каждом конкретном случае (Дворецкий Л.И., Александрова М.А., 2003, Vardakas K.Z., 2008).

Интересным, но не столь часто применяемым в клинической практике, в частности в пульмонологии, является использование математических моделей. Они основываются на степени информативности определенных признаков, отражающих клиническую картину заболевания, данных лабораторных и инструментальных исследований. Все это может давать достаточно высокий уровень диагностики (Клюжев В.М. и др., 1997, Самойлов Р.Г., 2007).

Благодаря использованию многомерной статистики можно создавать модели заболеваний, основываясь на этиологии, течении патологического процесса, варианты иммунного ответа (Лебедева М.Н., Гаврилов О.В., 2005).

Помимо сбора анамнеза и физического обследования большую помощь в диагностике пневмонии оказывает рентгенография грудной клетки, которая является “золотым стандартом” диагностики (Федченко Г.Т., 2002, Zackon H., 2000).

Рентгенологическая картина долевого уплотнения легких в виде плотных гомогенных инфильтратов с воздушной бронхографией характерна для пневмонии, вызванной бактериальными патогенами. Двусторонние интерстициальные инфильтраты расположенные в базальных отделах легких, а также ретикулонодулярные инфильтраты чаще встречаются при пневмониях, вызванных внутриклеточными микроорганизмами. Вне зависимости от вида возбудителя, чаще воспалительный процесс затрагивает легкие в нижних долях (Добрых В.А., 2013, Линденбратен Л.Д., Королюк И.П., 2013, Syrgjala H., 1998).

При пневмококковой пневмонии с явлениями бактериемии чаще наблюдается поражение нескольких долей легких с плевральным выпотом. У некоторых больных с микоплазменной пневмонией может встречаться лимфаденопатия. Поражение нескольких долей легких характерно для стафилококковой пневмонии. Вместе с этим при рентгенографии грудной

клетки могут выявляться абсцедирование, пневматоцеле или спонтанный пневмоторакс. Вовлечение в процесс верхних долей (чаще справа) и деструкция легочной ткани с образованием абсцессов более характерны для клебсиеллезной пневмонии. Однако стоит помнить, что рентгенография органов грудной клетки и клинические проявления не могут достоверно выявить этиологию пневмонии (Архипов В.В., 2003, Мавзютова Г.А., 2010).

Получение ложноотрицательных результатов при рентгенографии грудной клетки встречается довольно редко и возможно при обезвоживании больных, нейтропении, пневмоцистной пневмонии, а также на ранних стадиях заболевания (до 24 ч от начала развития заболевания). При необходимости в сложных случаях проводят компьютерную томографию грудной клетки, так как данный метод обладает большей чувствительностью (Бартлетт Д.Д., 2000).

Улучшение клинической картины обычно опережает рентгенологические изменения при пневмонии. Это доказало одно проведенное исследование, в котором было отмечено полное восстановление рентгенологической картины через 2 недели после начала терапии у 51 % больных, через 4 недели – у 14 %, и через 6 недель – в 35 % случаев (Mittl R.L. Jr., Schwab R.J., Duchin J.S. et al., 1994).

Общий анализ крови является рутинным диагностическим тестом у больных с пневмонией. Число лейкоцитов в периферической крови более  $10-12 \times 10^9/\text{л}$  является значимым аргументом в пользу бактериальной природы пневмонии, однако это не позволяет нам определить потенциального возбудителя. Даже более низкие значения не исключают бактериальной природы заболевания. Лейкоцитоз более  $25 \times 10^9/\text{л}$  или лейкоцитопения ниже  $3 \times 10^9/\text{л}$  являются индикатором тяжести пневмонии и предполагают неблагоприятный прогноз (Новиков Ю.К., 2002).

Биохимический анализ крови с исследованием таких показателей, как мочевины, глюкоза, электролиты, маркеры функции печени, обычно выполняется для оценки тяжести заболевания и выявления сопутствующей

патологии (почечная или печеночная недостаточность). Определение газового состава артериальной крови необходимо всем больным с тяжелой пневмонией, поступившим в ОРИТ. Эта процедура также рекомендована пациентам с сопутствующими заболеваниями легких (ХОБЛ, муковисцидоз), при снижении уровня насыщения крови кислородом ( $SpO_2$ ) по данным пульсоксиметрии менее 92%. Всем больным с тяжелой пневмонией рекомендован постоянный мониторинг  $SpO_2$  (Авдеев С.Н., 2005).

У всех госпитализированных пациентов следует до начала антимикробной терапии провести бактериоскопию и культуральное исследование мокроты. При подозрении на бактеремию и сепсис необходимо выполнить посев крови (Оськина Е.А., Жестков А.В., 2010).

Качество результата микробиологической диагностики напрямую зависит от соблюдения сроков забора клинического материала и правильного его хранения и транспортировки. Последняя играет немаловажную роль при доставке биоматериала в лабораторию. Мокрота, получаемая при откашливании, является самым частым исследуемым материалом (Парсонз В.Э., 2004, Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A., Bartlett J.G., Campbell G.D. et al., 2007). Образец мокроты, полученный при глубоком экспекторировании и соответствующий таким критериям, как содержание эпителиальных клеток менее 10 в поле зрения и содержание нейтрофилов более 25 в поле зрения при малом увеличении, считается подходящим для проведения анализа. Мокрота должна быть исследована не позднее двух часов после ее получения (Bartlett J.G., Breiman R.F., Mandell L.A. et al., 1998).

До сих пор обсуждается диагностическая значимость бактериоскопии и культурального метода исследования мокроты. В 30–65 % всех случаев использования этих методов получают отрицательные результаты. Определенные проблемы связаны и с тем, что у 10–30 % больных пневмонией отсутствует мокрота и до 15–30 % больных уже получали

антимикробные химиопрепараты до сдачи мокроты для анализа (Bartlett J.G., Mundy L.M., 1995, Dimopoulos G., 2008).

Методы определения этиологического фактора пневмоний по наличию антигенов в сыворотке крови на начальной стадии заболевания и обычно не рекомендуются для рутинного использования. Серологические тесты обычно проводятся с целью выявления внутриклеточных бактерий и включают оценку уровня антител IgG и IgM в парных сыворотках с интервалом в несколько недель (Ноников В.Е., 2001, Bartlett J.G., Dowell S.F., Mandell L.A. et al., 2000).

В качестве экспресс-методов используются методы выявления антигенов микроорганизмов в моче. В настоящее время в клинической практике доступны тесты для обнаружения антигенов *S. pneumoniae* и *L. pneumophila* серогруппы 1 (ответственна за 70 % всех случаев легионеллезной инфекции). Данные методы впервые были рекомендованы американским торакальным обществом в 2007 году в качестве скрининга для определения возможной этиологии ВП и назначения соответствующей этиотропной терапии. Быстрота, простота проведения и достаточно высокие чувствительность (50-80 %) и специфичность (более 90 %) обеспечивают удобство использования данных тестов. В нашей стране эти методы экспресс-диагностики зарегистрированы сравнительно недавно и пока их применение не вышло за рамки отдельных клинических центров (Дворецкий Л.И., Александрова М.А., 2008).

### **1.3. Иммунологические изменения при внебольничной пневмонии**

Острый воспалительный процесс, характерный для пневмонии, происходит в наиболее уязвимой области бронхоальвеолярного дерева, а именно в дистальных отделах легких. Это связано с иным анатомическим строением этой области, особенностями лимфо- и гемодинамики. В то же время дистальные отделы обладают более мощной системой защиты (Северин С.Е., Пальцев М.А., Иванов А.А., 2001, Караулов А.В., 2002).

Факторы естественной колонизационной резистентности дыхательных путей (механизм мукоцилиарного клиренса, иммуноглобулины класса А, сурфактант, фагоцитоз альвеолярными макрофагами, активность натуральных киллеров, функциональная активность Т-клеток, система комплемента) обеспечивают стерильность бронхолегочной ткани и её устойчивость к инфицированию (Караулов А.В., 2002, Байгозина Е.А., Совалкин В.И., Долгих Т.И., 2007).

Инфицирование нижних отделов дыхательных путей происходит при недостаточности определенных звеньев данной системы, а также при комплексных ее нарушениях. Развитие пневмонии напрямую зависит от состояния макроорганизма и патогенного потенциала микроорганизма (Караулов А.В. и соавт., 2007).

Пневмония сопровождается изменениями в системе периферической крови и в бронхоассоциированной лимфоидной ткани. Сопровождаются эти процессы с резкой активацией всех компонентов иммунной системы. Происходят изменения иммунокомпетентных клеток периферического русла в виде изменения фенотипа Т-клеток с преобладанием CD8+ клеток, увеличением их функциональной активности с различными дисфункциями в системе комплемента и фагоцитоза, одновременным увеличением числа незрелых клеток (Земсков В.М., Караулов А.В., Земсков А.М., 1995, Земсков А.М., 2000, Дубинина В.В., 2005, Боровская Т.Ф., 2006).

Также отмечается повышение концентрации сывороточных цитокинов – ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, МСР-1. От их уровня зависит степень выраженности воспаления. Они определяют выработку белков острой фазы (С-реактивный белок), фибриногена, уровень лейкоцитоза и уровень СОЭ, активируют выработку эндотелиальными клетками хемокинов ИЛ-8, медленно реагирующей субстанции анафилаксии, усиливающих адгезию и мобилизацию лейкоцитов. Перечисленные иммунологические показатели являются патогенетически значимыми при пневмонии, определяющими тяжелое течение заболевания и более высокую летальность (Сенников С.В.,

Силков А.Н., Козлов В.А., 2002, Дубинина В.В., 2005, Мавзютова Г.А., 2008, Pantelidis P., 2002, Lee Y.-L. et al., 2009).

На иммунной стадии воспаления в очаге поражения легочной ткани участвуют цитотоксические Т-лимфоциты, Т-хелперы и антитела различных классов. Кооперируясь с белками системы комплемента, они активируют фагоцитарную функцию нейтрофилов. Особая субпопуляция Т-клеток – натуральные киллеры, могут продуцировать интерлейкин-4, способствующий дифференцировке Т-хелперов в сторону 2 типа (Сильвестров В.П., Москалева Е.Ю., Илюшина Н.А., Караулов А.В., Порошенко Г.Г., 1985, Земсков А.М., 2000, Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В., 2006).

Последовательность дальнейших событий и исход острого воспаления легких определяются балансом активности Т-хелперов. Преобладание Т-хелперов 1-го типа характерно для внутриклеточных инфекций. Основными цитокинами являются гамма-интерферон и интерлейкин-2. Под их воздействием активированные макрофаги осуществляют воспаление по типу гиперчувствительности замедленного типа, а В-лимфоциты переключают синтез IgM на IgG<sub>2</sub> и IgG<sub>3</sub>. Ингибция процесса осуществляется с помощью ИЛ-10, вырабатываемого Т-хелперами 2-го типа (Караулов А.В., 2007).

При внеклеточных инфекциях преобладают иммунные реакции, опосредованные В-лимфоцитами и эозинофилами. Выработка интерлейкинов-4, 6, 13, продуцируемыми самими Т-хелперами и тучными клетками, способствует отклонению иммунного ответа в сторону Т-хелперов 2-го типа, переключению синтеза класса иммуноглобулинов с исходного IgM на IgG<sub>4</sub>, IgE, IgA, IgG<sub>2</sub>; при этом процесс ингибируется интерфероном-гамма (Козлов В.А., 2002, Standiford T.J., Kunkel S.L., Greenberger M.J., Laichalk L.L., Strieter R.M., 1996).

Цитокины запускают цепь реакций в определенной последовательности, характерную для пневмоний, что выражается в нарушении микроциркуляторного русла, возникновении гипоксии тканей, отека

альвеолярной и интерстициальной тканей, нарушении метаболической функции легких (Маркелова Е.В., 2000, Мавзютова Г.А., 2010, Ewig S., Torres A., 1999, Isles P., de Rochemonteix B.G., Songeon F., Boehringer N., Nicod L.P., 1999). Динамика уровня цитокинов в периферической крови имеет важное прогностическое значение в оценки степени тяжести и исхода пневмоний, а также мониторинга эффективности проводимой терапии (Симбирцев А.С., 2002, Moore T., Standiford T.J., 2001).

Как правило, с самого начала воспалительного процесса в первые тридцать дней в сыворотке крови значительно увеличивается содержание провоспалительных цитокинов: ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12. Динамика уровня этих цитокинов информативна для оценки эффективности лечения и прогнозирования исхода болезни (Караулов А.В., 2002, Cameron L.A., Taha R.A., Tsicopoulos A., Kurimoto M., Olivenstein R., Wallaert B., Minshall E.M., Hamid Q.A., 1999).

Изменения цитокинового статуса зависят от возбудителя пневмонии. При пневмококковой пневмонии значительно активируются альвеолярные макрофаги и Т-лимфоциты. Уже в первые сутки идет продукция ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-10. Уровни ИЛ-6, интерферона-гамма остаются повышенными в течение недели. При ассоциации пневмонии с вирусной инфекцией возрастает продукция провоспалительных цитокинов. При этом может происходить повышение уровня секреции цитокинов Th2 типа (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13), которые привлекают эозинофилы в ткань легких, что наряду с увеличением ФНО- $\alpha$  приводит к формированию бронхиальной обструкции (Пальцев М.А., 1996, Заворуева Д.В., 2005, Kolling U.K., Hansen F., Braun J., Rink L., Katus H.A., Dalhoff K., 2001).

При пневмококковых пневмониях повышение уровня ФНО- $\alpha$  и интерферон-гамма в клетках легких оказывает защитное действие, а ИЛ-10 ослабляет местный воспалительный ответ в легких и препятствует эффективному обезвреживанию инфекции. По-видимому, различные возбудители могут сами вызывать сдвиг дифференцировки Т-хелперов в

сторону Th2, обуславливая развитие иммунологической некомпетентности. Например, инфекционный процесс, вызванный *Mycoplasma pneumoniae*, сопровождается постепенным снижением уровня ИЛ-4 и интерферона-гамма, обуславливая возникновение сочетанной иммунологической недостаточности и появление хронической инфекции (Железникова Г.Ф., 2003).

Цитокины могут оказывать прямое и опосредованное бактерицидное действие. Установлено, что ФНО- $\alpha$  и интерферон-гамма обладают токсинсвязывающей активностью в отношении экзотоксинов грамположительных бактерий – стрептолизина «О» и тетанолизина (Назаров П.Г., 1998, Галстян Г.М., Берковский А.Л., Зуева В.А., 2002).

Течение пневмонии и ее исход определяются способностью организма отвечать на возбудитель синтезом определяющих протективных интерлейкинов, к которым относятся интерферон-гамма, ИЛ-12, ИЛ-6 и в меньшей степени – ИЛ-18. При снижении продукции ИЛ-12 возможно возникновение повторных пневмоний, так как он играет ведущую роль в антибактериальной защите против целого ряда возбудителей. Протективные эффекты ИЛ-12 обусловлены интерферон-гамма зависимыми механизмами: стимуляцией цитотоксической активности, Т-клеточной инфильтрацией и усиленной продукцией оксида азота. Интерферон-гамма и ИЛ-4 вовлекаются в процесс восстановления клеток эпителия слизистой дыхательных путей при повреждении легких. ИЛ-18, являясь синергистом ИЛ-12, вместе с интерфероном-гамма, играют решающую роль в исходе воспалительного процесса в легких (Кудряшева И.А., 2008, Dey A.B., Chaudhry R., Kumar P., Nisar N., Nagarkar K.M., 2000).

С другой стороны, способность интерферона-гамма и ФНО- $\alpha$  индуцировать экспрессию CD54/ICAM-1 способствует прикреплению клеток к эндотелию и агрегации частиц фибрина. Эти процессы вносят свой вклад в нарушение капиллярного кровотока, увеличении проницаемости капилляров,

в индуцировании локального отека тканей при воспалении (Пальцев М.А., 1996, Молчанова Л.В., Мороз В.В., 1999, Симбирцев А.С., 2004).

Активность Т- и В-лимфоцитов, антител и функции цитокинов определяют степень выраженности течения воспалительного процесса в легких, в том числе его исход (Хаитов Р.М., 2000, Воробьев А.А. и др., 2006, Рабсон А., 2006). Цитокины могут играть как протективную роль, так и способствовать деструкции ткани легкого, приводить к усилению воспаления и нарушению защитных сил организма (Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Чернеховская Н.Е., 2002).

Недостаточно полно изучены и трактуются неоднозначно возникающие изменения в системе иммунитета с нарушением факторов межклеточного взаимодействия при наличии воспалительного процесса в легких. Остаются неясными вопросы значения статуса и соотношения провоспалительных и протективных цитокинов для диагностики степени тяжести лёгочного воспаления, их влияния на течение и исход заболевания. Поэтому изучение гуморальных и клеточных факторов иммунитета является важным для понимания их влияния на течение патологического процесса при внебольничной пневмонии и индивидуальный прогноз пациента.

#### **1.4. Микробиологические аспекты внебольничной пневмонии**

Описано более 100 микроорганизмов, способных вызвать внебольничную пневмонию (ВП), почти все они были хотя бы единожды выделены из легочной ткани. Этиология ВП напрямую связана с составом нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей. Из многочисленных микроорганизмов лишь те, что обладают высокой вирулентной способностью, могут вызвать воспалительный процесс при попадании в нижние отделы дыхательных путей. К таким возбудителям, в первую очередь, относится пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*), который выявляется в 30-50 % случаев заболевания. На втором месте находятся возбудители так называемой «атипичной» пневмонии - *M. pneumoniae*, *C.*

*pneumoniae*, *L. pneumophila*, удельный вес которых составляет в пределах от 3 до 22 %. (Гучев И.А., 2003, Тартаковский И.С. 2003).

К редким возбудителям ВП относятся *H. influenzae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *M. catarrhalis* (3-5 %). Очень редко ВП может вызывать *P. aeruginosa* при наличии у больного бронхоэктазов или муковисцидоза (Чучалин А.Г. и др., 2010, Luna С.М., Famiglietti А., Absi R. et al., 2000, Lim W.S., Macfarlane J.T., Bosivell T.C. et al., 2001).

Пневмококк – самый частый возбудитель ВП, как уже было сказано выше, морфологически представляет собой грамположительные диплококки в полисахаридной капсуле, которая препятствует опсонизации и фагоцитозу их макрофагами. Существует порядка 90 капсульных типов *S. pneumoniae*, однако наиболее вирулентны 23 серотипа (Белобородов В.Б., 2000).

Пневмококк может являться представителем нормальной микрофлоры зева и полости рта. Явление бессимптомного носительства *S. pneumoniae* наблюдается у 5-60 % здоровых лиц и зависит от сезона – наибольший процент выявления приходится на зимнее время года. Именно в этот период чаще отмечаются пневмококковые пневмонии (Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., 1996, Козлов Р.С., 2005, Savage Р.С., 1989).

*Streptococcus pneumoniae* является наиболее распространенной причиной внебольничной пневмонии у взрослых больных и госпитализации их в 30–70 % случаев из-за тяжести состояния (Биличенко Т.Н., 2012, Bartlett J.G., Mundy L.M., 1995, Ortqvist A., Hedlund J., Kalin M., 2005). При помощи метаанализа данных 122 исследований случаев ВП за период 1966–1995 гг. было определено, что *S. pneumoniae* встречался в 66 % среди 7000 случаев заболевания с установленной этиологией (Kalin M., Ortqvist A., Almela M. et al., 2000).

В связи с особой значимостью пневмококковой инфекции среди групп повышенного риска заболевания (люди в возрасте старше 65 лет с хроническими заболеваниями, курильщики и др.) проводится вакцинация

против пневмококка (Костинов М.П., Протасов А.Д., Жестков А.В., Полищук В.Б., 2014).

Распространение пневмококка осуществляется воздушно-капельным путем от больных пневмонией и носителей. Медицинские работники и лица, контактирующие с больными, могут заразиться при кашле больного (Страчунский Л.С., 2002, Гучев И.А., 2003).

Пневмококк – труднокультивируемый, требующий особых условий микроорганизм. Исходя из методических указаний (МУК 4.2.1890-04), в средах для выделения необходимо высокое содержание аминного азота и нативного животного белка. Обычно используют готовые специализированные пневмококковые среды – кровяные агары. Содержание крови в агаре также необходимо с целью контроля вероятной гемолитической реакции, благодаря которой можно идентифицировать микроорганизм. Кроме того, инкубация требует повышенного содержания  $\text{CO}_2$  (5 %), что достигается применением  $\text{CO}_2$ -термостата. Цитратная кровь не пригодна для исследования (Страчунский Л.С., 2000, Козлов Р.С., 2010).

Несмотря на то, что среди всех возбудителей ВП *S. pneumoniae* встречается наиболее часто, существующие диагностические подходы имеют в отношении него ограниченную чувствительность и специфичность в связи с качеством этих исследований и сложностью выделения пневмококка. В последние годы ведется разработка альтернативных методов идентификации пневмококка в связи с тем, что классические методы диагностики (микроскопический и бактериологический) обладают относительно невысокими скоростью и чувствительностью. Такими методами на данный момент являются серологические тесты и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Из них наиболее распространены латекс-агглютинация, тест Нейфельда и экспресс-тест для выявления антигена пневмококка в моче (Тартаковский И.С., 2000, Дворецкий Л.И., Александрова М.А., 2008).

Суть последнего метода заключается в выявлении антигена пневмококка (С-полисахарида) в моче с помощью иммунохроматографической мембраны,

на которую нанесены антипневмококковые антитела. Длительность исследования составляет около 15 минут при чувствительности 86 % и специфичности 94 % (Хамитов Р.Ф., Визель А.А., 2011).

Определение антигена *S. pneumoniae* в моче методом иммунохроматографии (тест BinaxNOW® *S. pneumoniae*, США) позволяет внести существенные изменения в оценку значимости этого возбудителя при ВП, а также улучшить этиологическую диагностику заболевания. Пневмококковый экспресс-тест продемонстрировал приемлемую чувствительность – 74,0 % (66,6–82,3 %) и достаточно высокую специфичность – 97,2 % (92,7–99,8 %) при ВП у взрослых (Sinclair A., Xie X., Teltscher M., Dendukuri N., 2013).

В исследовании, проведенном в трех клиниках США, было установлено, что в группе пациентов без пневмонии результат этого теста был положительным только у 2 % обследованных, а у больных ВП, подтвержденной клинически, – в 13 %, рентгенологически – в 17 % случаев. Исследование антигена *S. pneumoniae* в моче и выделение возбудителя в культуре из крови подтвердило, что 11 % клинически и 15 % рентгенологически подтвержденных случаев ВП были связаны с пневмококком (Watt J.P., Moisi J.C., Donaldson R.L.A. et al., 2010). В Российской Федерации популяционные исследования с применением теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* не проводились.

Гемофильные палочки (*Haemophilus influenzae*) по морфологии представляют собой грамотрицательные мелкие полиморфные коккобациллы. Часть штаммов имеют полисахаридную капсулу и подразделяются на 6 серовариантов (a-f). Бескапсульные штаммы обозначаются как нетипируемые. Основную эпидемическую опасность представляет гемофильная палочка типа b. Бескапсульные штаммы неоднородны по набору антигенов; один из них, антиген М, имеет белковую природу и присутствует у всех штаммов (Филимонова О.Ю., Грудинина С.А., Сидоренко С.В. и др., 2004).

ВП, вызванные гемофильной палочкой, составляют 3-10 % случаев у взрослых пациентов, чаще возникают у курильщиков и на фоне ХОБЛ. *H. influenzae* – патоген, свойственный исключительно человеку, передается воздушно-капельным путем или при контакте с контаминированным материалом. Часто входит в состав нормальной микрофлоры ВДП у здоровых взрослых и детей. Частота бессимптомного назофарингеального носительства гемофильной палочки у взрослого населения достигает 75 %, у 3-5 % отмечают носительство капсулированных штаммов, преимущественно типа b (Богданович Т.М., Стецюк О.У., Кречикова О.И. и др., 2000).

Основу диагностики гемофильной палочки составляют выделение и идентификация возбудителя. Бактерии хорошо растут на питательных средах с добавлением крови или ее препаратов в аэробных условиях. Для нормального роста гемофилам необходимы ростовые факторы X и V. Фактор X содержится в эритроцитах в виде термостабильной группы тетрапирролов, входящих в состав гематина и гемина. Фактор V – термолабильный кофермент, продуцируемый многими бактериями (Рачина С.А., Козлов Р.С., Шаль Е.П., 2011).

*Moraxella catarrhalis* – грамотрицательные диплококки, аэробы диаметром 0,6-1,0 мкм. Иногда отмечается наличие фимбрий. Отличительной особенностью является возможность образовывать тетрады при делении в двух взаимно перпендикулярных плоскостях.

*M. catarrhalis*, как и *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, колонизируют носоглотку в раннем детском возрасте, и к 2 годам около 78 % детей становятся бактерионосителями. До недавнего времени *M. catarrhalis* считались нормальными обитателями слизистых оболочек верхних дыхательных путей, однако за последние 10-15 лет накоплены убедительные данные об их участии в развитии различных инфекций (Tamang M.D., Dey S., Makaju R.K. et al., 2005).

*Klebsiella pneumoniae* – грамотрицательные условно-патогенные бактерии, факультативные анаэробы. Имеют вид небольшой округлой

палочки размером 0,5–0,8 на 1–2 мкм. *Klebsiella pneumoniae* неподвижна, способна к образованию капсул, не образует спор. При микроскопии могут располагаться одиночно, попарно и скоплениями (Зубков М.Н., 2006).

Устаревшее название *klebsiella pneumoniae* – палочка Фридлиндера. Карл Фридлиндер (нем. Carl Friedländer, 1847 – 1887) — немецкий микробиолог, выделивший чистую культуру данного патогена в 1882 году.

Клебсиелла относится к условно-патогенным бактериям из семейства энтеробактерий. Благодаря толстой капсуле она может долгое время находится в окружающей среде. Данный патоген устойчив к действию высоких температур. Изначально *K. pneumoniae* считалась микроорганизмом, вызывающего пневмонию. Тем не менее, ее роль не сводится только к инфекциям респираторной системы. В общем случае данный патоген классифицируется как условно-патогенный микроб, находящийся в нормальной ситуации и в определенных органах в симбиотическом отношении с человеческим организмом, а в иных ситуациях являющийся причиной инфекционных заболеваний (Поникаровская Л.А., 2007).

Культивируется на простых питательных средах. Образует круглые слизистые серовато-белые колонии на агаризованных питательных средах. Не образует индола, сбраживает лактозу.

Источником инфекции является человек, больной клебсиеллезной инфекцией и/или носитель клебсиеллы. Инфицирование окружающих происходит воздушно-капельным путем. Восприимчивость к инфекции всеобщая, однако группами риска к возникновению данной инфекции являются: новорожденные и дети грудного возраста в силу несовершенства иммунной системы; пожилые лица с вторичным (возрастным) иммунодефицитом; лица с приобретенным иммунодефицитом (хронические заболевания, сахарный диабет, онкология, болезни крови, пациенты после пересадки органов и тканей); лица, страдающие хроническим алкоголизмом (Мельниченко П.И., 2003).

Таким образом, диагностика микроорганизмов, лечение и профилактика вызываемых им заболеваний, – актуальные, социально важные и сложные проблемы. В нашей стране требуется существенно улучшить качество микробиологической диагностики и обеспечить переход лабораторий на работу по современным стандартам.

Проанализировав материалы отечественной и зарубежной литературы, можно сделать вывод о необходимости дальнейшего изучения патогенетических аспектов ВП, значения гуморальных и клеточных факторов иммунитета при наличии воспаления в легочной ткани. Проводимое исследование направлено на изучение состава патогенных микроорганизмов с целью получения современных данных о возбудителях ВП.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе отделения пульмонологии и аллергологии клиник ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, а также отделений пульмонологии Городской больницы № 4 (г. Самара) и Городской клинической больницы № 5 (г. Тольятти) с применением общеклинических, инструментальных, иммунологических, микробиологических и статистических методов. Все исследования проводились после письменного согласия больного.

При обследовании пациентов использовались следующие методы:

### I. Общеклинический:

1. Сбор анамнеза болезни и жизни;
2. Физикальное обследование;
3. Клинический анализ крови с лейкоцитограммой;

### II. Инструментальные методы исследования:

1. Рентгенография органов грудной клетки;
2. Пульсоксиметрия;

### III. Иммунологический:

1. Оценка популяций и субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитометрии;
2. Определение методом ИФА уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови;
3. Определение методом ИФА в сыворотке крови уровней интерлейкинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10, МСР-1) а также сывороточного СРБ в отделе иммунологии института экспериментальной медицины и биотехнологий ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России (заведующая иммунологическим отделом – д.б.н. Л.В.Лимарева, директор – профессор, д.м.н. Л.Т. Волова);

4. Выявление антигена пневмококка в моче с помощью быстрого иммунохроматографического теста BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* Test;

IV. Микробиологический (МУК 4.2.3115-13):

1. Микроскопическое исследование мокроты с окрашиванием нативных препаратов по Граму;
2. Посев чистых культур микроорганизмов;

V. Методы статистической обработки данных.

### **2.1. Методы общеклинического исследования**

Клиническое обследование больных включало в себя сбор анамнеза, физикальное обследование, исследование крови с лейкоцитограммой.

Всего было обследовано 98 пациентов с установленным диагнозом «внебольничная пневмония» различной локализации. Группу контроля составили 65 здоровых доноров.

Критериями включения являлись:

- возраст старше 18 лет;
- подтвержденные рентгенологическим исследованием инфильтраты в легочной ткани;
- один из следующих симптомов: кашель с мокротой, лихорадка и типичная для ВП аускультативная картина в легких;
- наличие добровольного согласия на исследование.

Исключались пациенты:

- с каким-либо иммунодефицитным состоянием;
- с активным туберкулезом легких;
- пациенты, проходившие лечение в стационаре в предшествующие 4 недели до развития данной инфекции или употреблявшие antimicrobные химиопрепараты в предшествующие 3 месяца;
- пациенты, вакцинированные от пневмококка.

Диагноз подтверждали на основании совокупности клинических и лабораторно-инструментальных показателей. Клиническое обследование заключалось в изучении жалоб, сбора анамнеза, физикального обследования, а также в динамическом наблюдении за течением заболевания. Учитывались результаты рентгенологического, микробиологического и иммунологического исследований (Чучалин А.Г. и др., 2014).

На первом этапе обследованные пациенты были условно разделены на две группы в соответствии с тяжестью ВП, а именно: нетяжелое течение заболевания – 50 человек (51 %) и тяжелое течение – 48 человек (49 %). При распределении обследованных пациентов по степени тяжести ВП мы руководствовались практическими рекомендациями РРО по диагностике, лечению и профилактике внебольничных пневмоний у взрослых (2010).

Тяжелое течение пневмонии у пациента считали по наличию хотя бы одного из ниже перечисленных критериев:

- частота дыхания  $> 30$  в минуту;
- $SpO_2 < 90$  %;
- систолическое АД  $< 90$  мм рт. ст.;
- диастолическое АД  $< 60$  мм рт. ст.;
- поражение двух и более долей легких;
- нарушение сознания;
- внелегочный очаг инфекции (менингит, перикардит и др.);
- анурия;
- снижение лейкоцитов крови  $< 4 \times 10^9$ /л;
- гипоксемия ( $PaO_2 < 60$  мм рт. ст.);
- гемоглобин  $< 100$  г/л;
- гематокрит  $< 30$  %;
- острая почечная недостаточность (креатинин крови  $> 176,7$  мкмоль/л, азот мочевины  $> 7,0$  ммоль/л).

## **2.2. Инструментальные методы исследования**

### **2.2.1 Рентгенография органов грудной клетки**

Рентгенологическое исследование органов грудной клетки проводилось всем обследуемым в двух проекциях в соответствии с требованиями, предъявляемыми к этой процедуре в отечественной литературе (Розенштраух Л.С., 1997; Линденбратен Л.Д., Королюк И.П., 2013).

### **2.3. Пульсоксиметрия**

Пульсоксиметрия – неинвазивный метод измерения процентного содержания оксигемоглобина в артериальной крови (сатурации). Основу метода составляет принцип спектрофотометрии - измерения поглощения света заданной длины волны гемоглобином, содержащимся в эритроцитах периферической крови. В процессе измерения оксигенации также происходит фиксирование изменения «толщины» крови в связи с пульсацией артериол. Таким образом, пульсоксиметр измеряет и частоту пульса (Зислин Б.Д., Чистяков А.В., 2006).

Датчик пульсоксиметра состоит из комбинации светодиодов: один излучает красный цвет, а второй дает поток инфракрасного излучения. С другой стороны прибора находится фотодетектор, определяющий интенсивность попадающего на него светового потока. Помещая палец между светодиодами и фотодетектором, часть излучаемого света поглощается, рассеивается, отражается тканями и кровью, и световой поток, достигающий детектора, ослабляется (Шурыгин И.А., 2000).

Ткани, находящиеся на пути светового потока, являются неизбирательным фильтром и ослабляют его равномерно. Гемоглобин напротив, являясь цветным фильтром, дает различное поглощение излучения от двух источников (Griffiths A., Lowes T., Henning J., 2010).

Гемоглобин в различных своих состояниях имеет разные степени поглощения светового излучения. Так, оксигемоглобин хорошо рассеивает

красный цвет и интенсивно поглощает инфракрасное излучение. Тогда как дезоксигемоглобин, имеющий темно-вишневый цвет, плохо задерживает инфракрасные лучи, но хорошо поглощает красный цвет. Становится понятным, какой же поток пройдет через оксигенированную кровь (Pinsky M.R., Payen D., 2005).

Таким образом, используя специальный алгоритм, прибор рассчитывает процентное содержание оксигемоглобина в периферической крови. При этом в зачет идут показатели только пульсирующего кровотока, отражающего насыщение кислородом именно артериальной крови.

## **2.3. Иммунологическое исследование**

### **2.3.1. Взятие и хранение крови**

Забор крови осуществлялся в асептических условиях из локтевой вены иглой в вакуумную пробирку. Непосредственно после забора крови производилось её центрифугирование в течение 15 минут, забор полученной сыворотки и последующее замораживание в морозильной камере при температуре минус  $20\pm 3^{\circ}\text{C}$  в течение не более трех месяцев.

### **2.3.2. Метод проточной цитометрии**

Проточная цитометрия используется для определения различных популяций и субпопуляций лимфоцитов и является одним из наиболее высокочувствительных и объективных методов. В настоящее время с помощью МКА идентифицировано около 166 поверхностных антигенов лейкоцитов (CD antigens antibodies, 1998). У большинства из них определены молекулярная масса, химическая структура и функции (Чередеев А.Н., Горлина Н.А., Козлов И.Г., 1999).

Кластеры дифференцировки «CD» - это дифференцировочные лейкоцитарные антигены, они имеют свой соответствующий номер. Анализируя состав поверхностных дифференцировочных маркеров, можно

определить к какой популяции или субпопуляции относятся исследуемые клетки; функцию клеток и их взаимодействие с другими клетками; стадию их дифференцировки и активации (Owens M.A., Loken M.R., 1995).

В основе работы проточного цитометра лежит разделение лейкоцитов на три популяции – лимфоциты, моноциты и гранулоциты. Это происходит посредством измерения сигналов светорассеивания от клеток под малым (1-10°) и большим (90°) углами, а также измерения интенсивности флюоресценции изучаемых клеток, меченных специфическими МКА.

Сигналы светорассеивания, говорящие о размере клетки, а также различные цитоплазматические и мембранные особенности, позволяют связать данные флюоресцентного анализа с морфологически определенными популяциями.

С помощью МКА, меченных различными флюорохромами может быть проведен иммунофенотипический анализ лимфоцитов.

Во время процедуры окрашивания клеток МКА можно использовать как прямые конъюгированные с флюорохромом антитела, так и с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции. Прямое окрашивание заключается в инкубации клеток с флюорохром-конъюгированным реагентом. Он является специфичным по отношению к исследуемому клеточному маркеру.

Непрямое окрашивание состоит из двух этапов. Сначала клетки обрабатывают реагентом, который взаимодействует с искомым поверхностным и цитоплазматическим антигеном. Затем добавляют конъюгированный с флюорохромом агент, специфически связывающийся с реагентом, использованным на первом этапе. Обычно для этих целей используют биотин и авидин, являющиеся нефлюоресцирующими молекулами и обладающие высоким сродством друг к другу. Чаще всего авидин конъюгирует с флюорохромами, а биотин – с антителами. При проведении реакции непрямой иммунофлюоресценции клетки сначала

инкубируют с биотилированными антителами, а затем с конъюгатом флюорохром-авидин.

Основная процедура для двух вариантов окрашивания одинаковая. В течение 30 минут клетки инкубируют с насыщающими концентрациями реагентов, а затем отмывают от несвязавшихся агентов. Для определения оптимального при окрашивании количества реагентов (например, МКА) проводят предварительные эксперименты. При этом сводятся к минимуму эффект неспецифического окрашивания и ошибка в дозировке соответствующих реактивов (Davey H., 2004).

### **2.3.3. Методика определения иммуноглобулинов А, М, G посредством иммуноферментного анализа**

Иммуноферментный анализ (ИФА, англ. — enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) — лабораторный иммунологический метод качественного определения и количественного измерения антител.

Иммуноферментный метод основан на учете реакции антиген-антитело. Меткой служит фермент, например пероксидаза, которая позволяет обнаружить иммунный комплекс. В основу метода иммуноферментного анализа заложен принцип взаимодействия иммуносорбента (антигена) с выявляемыми антителами с последующим соединением их в комплекс антиген-антитело с иммуноглобулинами, содержащим ферментную метку.

В таких тест-системах иммуноглобулины называются конъюгатом. Они могут быть получены на основе антител, направленных против человеческих иммуноглобулинов определенного класса (А, М, G) или из антивидовых антител (например кроличьи антитела против иммуноглобулинов человека).

Используются специальные 96-луночные планшеты, с круглыми лунками с плоским дном, вместимостью около 300 мкл, сделанные из полистирола.

Перед анализом с помощью раствор антигена планшету сенсibiliзируют. Обычно это наиболее характерная часть белков оболочки возбудителя, а не целая его структура.

Растворимые антигены закрепляются на поверхности планшеты. Участки незанятой антигеном поверхности «укрывают» нанесением раствора бычьего сывороточного альбумина для снижения помех. Несвязанный материал удаляют и планшету сушат. Сенсibiliзированные планшеты можно хранить при минус 18 С не более двух недель.

Лунки заполняют исследуемым материалом, нанося его в разные лунки с дробным разбавлением (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 и т.д.), после чего выдерживают около 30 минут для связывания. При наличии в образцах антитела, комплементарных нанесенному антигену, образуются прочные комплексы. Содержимое из лунок удаляют трехкратной промывкой буфером и несвязавшийся материал удаляется при промывке.

На следующем этапе лунки заполняются раствором конъюгата. Это связанные глутаровым альдегидом молекулы белка-фермента и молекулы антител против антител к возбудителю, полученные из сыворотки кролика при введении в его кровь антител человека к искомому возбудителю. После прохождения реакции комплементарного связывания избыток раствора конъюгата удаляется и лунки промываются буфером.

В заключительной части исследования лунки заполняют раствором субстрата, окрашенный которого осуществляется конъюгированным ферментом. Такое ферментативное превращение осуществляется примерно 60 минут. Количество превращенного субстрата пропорционально концентрации конъюгата и, следовательно, концентрации антител против возбудителя в исследуемом образце. При ультрафиолетовом облучении можно судить о концентрации антител в исследуемом материале по плотности окраски. В неиспользуемых лунках параллельно проводят реакцию контроля для установления порога «шумов». Имеются также лунки,

заполненные антителами из контрольного раствора для проверки специфичности реакции.

В качестве субстратов для конъюгатов применяется о-фенилендиамин в смеси с перекисью водорода. Это придает раствору оранжево-коричневый окрас после остановки реакции. Измеряется степень окрашивания раствора при длине волны 492 нм. Субстратом для щелочной фосфатазы является п-нитрофенилфосфат, превращающийся в п-нитрофенол, индицируемый при длине волны 405 нм.

#### **2.3.4. Методика определения уровня интерлейкинов и С-реактивного белка**

Количественное содержание цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10, МСР-1) а также уровень сывороточного С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем («Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Реагенты «ИЛ-ИФА» представляют собой набор, основным компонентом которого являются моноклональные антитела к интерлейкину (ИЛ), сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета. Наборы предназначены для количественного определения ИЛ в биологических жидкостях человека и культуральных средах.

Стадии анализа исследуемого материала во многом повторяют вышеописанные моменты. На первом этапе исследуемые образцы инкубируют в лунках с антителами. Содержащийся в образцах интерлейкин связывается с этими антителами. Несвязавшийся материал удаляется отмывкой. При инкубации связавшийся интерлейкин определяется с конъюгатом антител. После очередной отмывки количество связанного конъюгата измеряют цветной реакцией с применением пероксидазы хрена (перекиси водорода) и хромогена (тетраметилбензидина). Реакцию останавливают с помощью добавления серной кислоты. Затем измеряют

оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. По степени желтого окрашивания рассчитывают пропорциональное количество интерлейкина в исследуемом образце.

Во время исследования были соблюдены всевозможные меры предосторожности, которые необходимы при работе с потенциально опасным материалом инфекционной природы: использовались резиновые перчатки; все биологические материалы обрабатывались 6 % раствором перекиси водорода (не менее шести часов). Для заготовки растворов и проведения анализа использовались чистая мерная посуда и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5 %. Сыворотки подвергались центрифугированию в течение 10-15 минут при 3000 об/мин перед исследованием.

В работе использовался супернатант. Реагенты, которые не были использованы в процессе исследования помещались в холодильник при температуре 2-8°C до истечения срока годности. Растворы хромогена (ТМБ) и конъюгата в рабочем разведении приготавливались перед использованием. При промывке стрипов лунки заполнялись полностью (не менее 300 мкл промывочного раствора). Время между заполнением и опорожнением лунок было не менее десяти секунд. Не допускалось высыхание лунок планшета между отдельными операциями.

Для определения концентрации цитокинов использовались образцы, хранившиеся в течение не более трех месяцев при температуре минус  $20\pm 3^\circ\text{C}$ . Повторные циклы заморозки после оттаивания биоматериалов исключались. При наличии гемолиза в пробирке образцы выбраковывались. Перед исследованием необходимые реагенты и биоматериалы после извлечения из холодильника прогревались до комнатной температуры (18-25°C).

Для получения достоверных результатов при определении концентрации цитокинов использовался термостатирующий шейкер орбитального типа с частотой оборотов 400-700 RPM.

Калибровочные и контрольный образцы восстанавливались в 0,7 мл фосфатно-солевого буфера до полного растворения. Восстановленные стандартные калибровочные и контрольный образцы после первого использования аликвотировались и замораживались.

Во все лунки вносили по 100 мкл раствора для разведения сывороток. В лунки А-1, В-1, С-1, D-1, Е-1, F-1, G-1 вносили по 100 мкл исследуемых проб. Инкубация происходила при температуре 37°C, длилась 120 минут, при оборотах шейкера равных 700 RPM. По завершению процесса инкубации стрипы пятикратно промывали фосфатно-солевым буферным раствором путем добавления не менее 300 мкл раствора в каждую лунку в течение каждого промывания. Затем раствор удаляли из лунок. В каждую лунку стрипов вносили по 100 мкл конъюгата. Их инкубация длилась 60 мин при температуре 37°C, при частоте оборотов шейкера 700 RPM. После инкубирования стрипы подвергались пятикратной промывке путем ввода раствора ТМБ в количестве 100 мкл в каждую лунку. Затем стрипы укладывали в темное место при комнатной температуре (18-25°C) на 30 минут.

Остановка реакции производилась посредством добавления стоп-реагента в количестве 100 мкл в каждую лунку. После этого с помощью спектрофотометра «Проплан» («Пикон», Россия) производился замер оптической плотности (ОП) не позднее 10-15 минут после остановки реакции. Оптическую плотность измеряли в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – в диапазоне 620-650 нм. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень («бланк») осуществляли по воздуху.

Для измерения уровней интерлейкинов в исследуемом материале производили построение калибровочного графика в координатах: ось абсцисс – концентрация (пг/мл); ось ординат – значение оптической плотности образца. Для этого значение ОП, определенное в каждом стандартном растворе, откладывали на миллиметровой бумаге. По полученным точкам проводили калибровочную кривую, соединяя их отрезками. Для определения

концентрации ИЛ в анализируемых пробах на оси ординат отмечали значение ОП анализируемого образца. Проводили прямую до пересечения с калибровочной кривой, от полученной точки пересечения опускали перпендикуляр на ось абсцисс. Точка пересечения и являлась искомым значением концентрации в анализируемой пробе.

### **2.3.5. Выявление антигена пневмококка в моче быстрым иммунохроматографическим тестом BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* Test**

Образцы мочи для исследования собирались в стандартные пластиковые контейнеры. Эти образцы могли храниться при комнатной температуре (15-30°C) до 24 часов после сбора.

BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* Test является быстрым тестом для выявления растворимого антигена пневмококка в моче с помощью иммунохроматографической мембраны (регистрационное удостоверение № ФСЗ 2008/02110 от 19 июня 2008 года, Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития).

Мембрана состоит из нитроцеллюлозной бумаги, на которую адсорбированы кроличьи антитела к антигену *S.pneumoniae* в виде первой полосы в зоне чтения результата пациента. На той же мембране в виде второй полосы (контрольная линия) адсорбированы козы антитела против IgG кролика. Кроличьи и антивидовые антитела конъюгированы с окрашенными частицами для визуализации и нанесены на волокнистую инертную подложку с последующим высушиванием. Подложка с конъюгатом и мембранная полоска соединены для формирования тест-полоски. Данная тест-полоска вмонтирована в кассету в форме открывающейся книжки. В нижней части кассеты имеется лунка для внесения тампона с исследуемым образцом.

Для проведения теста ватный тампон погружают в мочу, вынимают и помещают в тест-устройство (Патенты США №№: 6,017,767; 6,548,309; 6,824,997). Затем добавляется буферный раствор (реагент А) из прилагающейся пластиковой капельницы. Затем устройство закрывают для того, чтобы произошел контакт между исследуемым образцом мочи и тест-полоской. Содержащийся в исследуемом образце мочи антиген *S.pneumoniae* связывается с находящимися на подложке антителами окрашенного конъюгата. Формирование окрашенной линии в зоне чтения образца происходит за счет наличия антигена с иммобилизованными на мембране кроличьими антителами к антигену *S.pneumoniae*. Контрольная линия формируется вследствие связывания окрашенного конъюгата с иммобилизованными на полоске козьими антителами против IgG кролика.

Спустя 15 минут от внесения в кассету тампона, по наличию или отсутствию окрашенных линий (от розового до пурпурного цвета) интерпретируются результаты теста. Положительным результатом является выявление двух линий в зоне чтения результата тестирования пациента, окрашенных с различной интенсивностью в зависимости от концентрации антигена. Отрицательный результат дает только одну окрашенную линию (тест-контроль). Если контрольная линия отсутствует, то это свидетельствует о недействительности проведенного теста, вне зависимости от наличия или отсутствия окрашенной линии в зоне чтения результата пациента.

Быстрый тест для выявления антигена пневмококка в моче – BinaxNOW® *Streptococcus pneumoniae* – был зарегистрирован только для использования с образцами мочи и спинномозговой жидкости. Другие образцы (например плазма), которые могут содержать антиген *S.pneumoniae*, не изучались.

Отрицательный результат, полученный в быстром тесте для выявления антигена пневмококка в моче не исключает наличия инфекции. Поэтому результаты теста следует интерпретировать в сочетании с результатами культуральных или серологических исследований в сочетании с клиническим и рентгенологическим исследованиями для постановки точного диагноза.

Тест не оценивался на больных, получавших лечение антибиотиками в течение более 24 часов или на пациентах, недавно завершивших курс антимикробной химиотерапии. В течение 48 часов после вакцинации против *Streptococcus pneumoniae* могут быть ложно-положительные результаты. Поэтому не рекомендуется использовать данный тест в течение пяти суток после применения вакцины против пневмококка.

#### 2.4. Микробиологическое исследование

Для микробиологического исследования собиралась натощак утренняя порция мокроты в стерильные флаконы. В лабораторию собранные образцы доставлялись в изотермических условиях в течение двух часов после сбора. Из гнойных участков образцов готовились окрашенные по Граму препараты. Проводилась микроскопия мазков при стократном увеличении для оценки количества эпителиоцитов и сегменто-ядерных лейкоцитов. Образцы, в которых количество эпителиоцитов не превышало 10, а количество сегменто-ядерных лейкоцитов было более 25 в поле зрения, использовались для дальнейшего исследования.

Мокроту гомогенизировали и готовили десятикратные разведения для посева на питательные среды. Для посева использовали кровяной и шоколадный агары, инкубацию чашек проводили при 37°C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в течение одних суток. Для создания необходимой концентрации CO<sub>2</sub> использовали газогенерирующие пакеты (BioMérieux). Затем производился посев биологического материала методом «газона» при помощи микробиологической петли на твердую питательную среду.

После посева биологического материала на поверхности твердой питательной среды производилось выделение чистых культур микроорганизмов, их идентификация по видовым, биохимическим и культуральным признакам.

Идентификацию *Streptococcus pneumoniae* проводили по чувствительности к оптохину и желчи (диски HiMedia). Идентификацию

*Haemophilus influenzae* осуществляли по определению потребности в факторах X и V у выросших на шоколадном агаре культур. Последующую идентификацию культур проводили с использованием систем для идентификации API® (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии).

Состав микрофлоры нижних дыхательных путей определялся для каждого пациента отдельно.

## 2.5. Методика статистического анализа

Расчеты и оценка полученных результатов выполнены на IBM – совместимом компьютере с операционной системой Windows XP с использованием пакета программ «MS Excel 2007» (Microsoft), пакета статистической обработки данных SPSS 12.0.2 и «Statistica, 6.0» (Stat Soft). Полученные цифровые значения обрабатывали методами вариационной статистики. Средние значения переменных в таблицах представлены в виде  $M \pm m$  (выборочное среднее  $\pm$  выборочная стандартная ошибка), вне зависимости от использовавшегося критерия. Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента (t) и уровню значимости (p). За достоверность различий принимались значения  $p = 0,05; 0,01; 0,001$ , достоверность различий составляла 95 % и более (Реброва О.Ю., 2006).

Для определения достоверности различий между выборочными средними значениями сравниваемых параметров в независимых выборках использовали W-критерий Вилкоксона и непарный коэффициент Стьюдента с числом степеней свободы  $n_1+n_2-3$ . В процессе исследования применялись регрессионный и дискриминантный анализы. При использовании пошагового дискриминантного анализа необходимо было отнести пациента к одному из классов (k), основываясь на параметрах наблюдения (p). Переменная с наибольшим влиянием на разделение групп вводилась в уравнение на каждом шаге. В итоге была получена оценка дискриминантной функции для популяции (i):

$d_i = a_{i1}x_1 + a_{i2}x_2 \dots a_{ip}x_p + c_i$ , где  $i=1, \dots, k$ .

При  $k$ , равном 2 (две популяции), пациент относился к первой группе при выполнении условия:

$$\sum_{j=1}^p a_j x_j > c_2 - c_1, \quad a_j = a_{1j} + a_{2j}, \quad \text{где}$$

$$j = 1, \dots, p$$

Отбор комбинаций при дискриминантном анализе при таких условиях, чтобы центры популяций были удалены друг от друга как можно дальше. Используя величину Махаланобиса производилось вычисление расстояния между популяциями:

$$\Delta^2 = (\zeta_1 - \zeta_2)^2 / \delta_z^2, \quad \text{где,}$$

$\zeta_1$  и  $\zeta_2$  – средние распределений  $W_1$  и  $W_2$ ,

$\delta_z^2$  – дисперсия распределений  $W_1$  и  $W_2$ .

Вычисление коэффициентов дискриминантных функций, которые соответствовали наибольшему расстоянию Махаланобиса, было конечной задачей дискриминантного анализа и снижало вероятность ошибки при классификации объектов.

При расчетах полученных результатов была использована система единиц СИ (Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э., 1998, Котельников Г.П., Шпигель А.С., 2012).

## ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП БОЛЬНЫХ

### 3.1. Исследование качества оказания медицинской помощи

Перед началом исследования нами был проведен ретроспективный анализ 200 историй болезни пациентов с установленным диагнозом внебольничной пневмонии для оценки качества оказания медицинской помощи. Оценка проводилась на основании соответствия индикаторам качества, рекомендуемым РРО (2010). Для облегчения подсчета относительные величины целевых уровней были переведены в балльную систему оценки и в итоге составили 62 балла при тотальном следовании индикаторам качества (таблица 1).

**Таблица 1 – Индикаторы качества оказания медицинской помощи при внебольничной пневмонии у госпитализированных пациентов**

№ п/п	Индикатор качества	Целевой уровень, %	Баллы
1	Рентгенологическое исследование органов грудной клетки при наличии клинических признаков ВП в течение 24 ч с момента госпитализации (если не выполнено амбулаторно)	100	10
2	Бактериологическое исследование мокроты до назначения антибиотиков	50	5
3	Бактериологическое исследование крови до назначения антибиотиков при тяжелой ВП	100	10

Таблица 1(окончание)

№ п/п	Индикатор качества	Целевой уровень, %	Баллы
4	Введение первой дозы системного антимикробного химиопрепарата в срок $\leq$ 4 ч (при септическом шоке $\leq$ 60 мин) с момента госпитализации	100	10
5	Соответствие стартового режима антибактериальной терапии национальным или составленным на их основе локальным рекомендациям/стандартам терапии	90	9
6	Использование ступенчатой антибактериальной терапии	80	8
7	Наличие рекомендаций по вакцинации пневмококковой вакциной и гриппозной вакциной (в осеннее-зимний сезон) пациентам из группы риска	100	10
8	Итого, баллов		62

Подсчет производился по каждой отдельной истории болезни. Оценивалось наличие или отсутствие того или иного индикатора качества. Затем производился расчет относительного достигнутого уровня соответствия с последующим переводом в балльную систему.

После изучения историй болезни были выявлены следующие несоответствия: очень низкий достигнутый уровень бактериологического исследования крови (8 %) и использования ступенчатой антибактериальной терапии (5 %); стартовый режим антибактериальной терапии соответствовал национальным рекомендациям на 60 %; бактериологическое исследование мокроты проводилось в 40 % случаев; лишь в половине случаев были даны рекомендации по вакцинации пациентов из групп риска (таблица 2).

В результате оценки историй болезни мы получили достигнутый уровень, равный 34,3 баллам. Это говорит о том, что в данной выборке выявлено несоответствие целевому уровню на 44,7 %.

**Таблица 2 – Соответствие индикаторам качества оказания  
медицинской помощи при ВП**

Индикаторы	Эталонные показатели		Истории болезни (n=200)	
	Целевой уровень, %	Целевой уровень, баллы	Достигнутый уровень, %	Достигнутый уровень, баллы
Индикатор 1	100	10	100	10
Индикатор 2	50	5	40	4
Индикатор 3	100	10	8	0,8
Индикатор 4	100	10	80	8
Индикатор 5	90	9	60	6
Индикатор 6	80	8	5	0,5
Индикатор 7	100	10	50	5
Итого, баллов		62		34,3

### 3.2. Характеристика исследуемых групп больных

В соответствии с поставленными задачами нами было обследовано 98 пациентов с установленным диагнозом внебольничной пневмонии. Из них 54 (55,1 %) мужчин и 44 (44,9 %) женщины в возрасте от 18 до 83 лет. Средний возраст мужчин составил 47,4 лет, женщин – 58,3 года. Распределение пациентов по полу и возрасту, а также по степени тяжести течения внебольничной пневмонии отражено в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Распределение пациентов по полу и возрасту

Возраст	Пол			
	Мужчины		Женщины	
	абс.	%	абс.	%
18-30 лет	18	33,3	6	13,6
31-40 лет	5	9,3	5	11,4
41-50 лет	4	7,4	2	4,5
> 51 года	27	50	31	70,5
Итого	54	100	44	100

Таблица 4 – Распределение пациентов по степени тяжести внебольничной пневмонии

Пол	Степень тяжести ВП (n=98)	
	нетяжелая (абс.)	тяжелая (абс.)
Мужчины	30	24
Женщины	20	24
Итого	50	48

У обследованных пациентов была выявлена различная сопутствующая патология: у 18 пациентов ХОБЛ, бронхиальная астма – у 4, фиброз легких – у 1, бронхоэктазы – у 2, сахарный диабет II типа – у 2, церебро-васкулярные заболевания – у 5, болезни желудочно-кишечного тракта – у 9, хронические болезни сердца – у 47 человек. В процессе опроса было выявлено, что 55 пациентов относят себя к некурящим и 43 – курят. У последних вычислялся индекс курящего человека, который составил в среднем 193,5 (таблица 5).

**Таблица 5 – Сопутствующие заболевания и состояния у обследованных пациентов**

Сопутствующие заболевания и состояния	Мужчины				Женщины			
	нетяжелое течение		тяжелое течение		нетяжелое течение		тяжелое течение	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ХОБЛ	8	26,6	9	37,5	1	5	0	0
БА	0	0	0	0	2	10	2	8,3
Фиброз	0	0	1	4,16	0	0	0	0
Бронхоэктазы	1	3,3	1	4,16	0	0	0	0
СД	1	3,3	0	0	1	10	0	0
ЦВЗ	1	3,3	2	8,3	0	0	2	8,3
ЖКТ	3	10	2	8,3	3	15	1	4,16
ХБС	12	40	11	45,8	11	55	14	58,3
Курение	17	56,6	19	79,2	3	15	0	0
Злоупотребление алкоголем	0	0	5	20,8	0	0	0	0

Подавляющее большинство пациентов заболело пневмонией впервые в жизни и были госпитализированы на  $4,1 \pm 1,2$  сутки от начала заболевания. Основным фактором заболевания, который отмечали пациенты, являлось переохлаждение – при нетяжелом течении в 40 % (20) и при тяжелом течении – в 77 % (37) случаев. ОРВИ как причина развития пневмонии наблюдались в 20 % (10) наблюдений при нетяжелом течении заболевания и в 16,6 % (8) случаях при тяжелом течении. Острое начало заболевания было отмечено достоверно чаще у пациентов с тяжелым течением пневмонии и составило 83,3 % (40) случаев, тогда как при нетяжелом течении у 68 % (34) больных.

От начала заболевания до момента госпитализации проходило 3,4 суток при тяжелом течении внебольничной пневмонии, что достоверно ниже, чем при нетяжелом течении – 4,7 суток. Догоспитальное лечение отсутствовало у 76,0 % пациентов с нетяжелой пневмонией и у 70,8 % у пациентов с тяжелой пневмонией (таблица 6).

**Таблица 6 – Сравнительная характеристика анамнестических данных у обследованных пациентов**

Анамнестические данные		Степень тяжести пневмонии			
		нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
		абс.	%	абс.	%
Провоцирующий фактор	переохлаждение	26	52,0	33	68,8
	ОРВИ	10	20,0	8	16,6
	нет	14	28,0	7	14,6

Таблица 6 (окончание)

Анамнестические данные		Степень тяжести пневмонии			
		нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
		абс.	%	абс.	%
Начало заболевания	острое	34*	68,*0	40*	83,3*
	постепенное	16*	32,0*	8*	16,7*
Догоспитальное лечение	есть	12	24,0	14	29,2
	нет	38	76,0	34	70,8
Пневмонии в анамнезе	есть	5	10,0	8	16,7
	нет	45	90,0	40	83,3

Примечание: \* - достоверные различия ( $p < 0,05$ )

### 3.3. Комплексный анализ клинических признаков

Клинические симптомы заболевания складывались из явлений интоксикации (общая слабость, головная боль, одышка), общей воспалительной реакции (озноб, потливость, повышение температуры тела) и синдрома воспалительных изменений в легких (кашель с мокротой или без нее, болезненность в грудной клетке, укорочение перкуторного звука, усиление голосового дрожания, появление бронхофонии, ослабленного дыхания, мелко- и крупнопузырчатые влажные хрипы).

Анализ характера и частоты клинических признаков показал, что жалобы в обеих группах носят схожий характер, однако достоверно

различаются по степени выраженности (таблица 7). Так, жалобы на кашель предъявляли все исследуемые, кроме одного пациента с нетяжелой пневмонией. Непродуктивный кашель был более свойственен для нетяжелого течения. На продуктивный кашель жаловались более чем 70 % больных в обеих группах. В группе с пневмонией нетяжелого течения этот симптом был у 78,0 % больных (39 из 50), а в группе пациентов с тяжелой пневмонией частота его составила 87,5 % (42 из 48).

**Таблица 7 – Совокупность клинических симптомов у пациентов из обследованных групп**

Признак		Степень тяжести пневмонии			
		нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
		абс.	%	абс.	%
Кашель	непродуктивный	10*	20*	6*	12,5*
	продуктивный	39*	78*	42*	87,5*
	нет	1	2	0	0
Мокрота	слизистая	24*	48*	16*	33,3*
	слизисто-гнойная	23	46	25	52,1
	гнойная	3*	6*	6*	12,5*
	кровохарканье	0	0	1	2,1
Одышка	Есть	4*	8*	23*	48*
	Нет	46*	92*	25*	52*

Таблица 7 (окончание)

Признак		Степень тяжести пневмонии			
		нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
		абс.	%	абс.	%
Озноб	Есть	15*	30*	30*	62,5*
	Нет	35*	70*	18*	37,5*
Температура тела	Субфебрильная	31*	62*	19*	39,5
	Фебрильная	6*	12*	24*	50*
Аускультативная картина	Притупление перкуторного звука	15*	30*	39*	81,3*
	Ослабление везикулярного дыхания	25*	50*	11*	22,9*
	Влажные хрипы	23	46	27	56,3
	Крепитация	2*	4*	10*	20,8*
Уровень сатурации O <sub>2</sub> в крови	96 % и выше	39*	78*	26*	54,2*
	95% и ниже	11*	22*	22*	45,8*
Частота сердечных сокращений	до 99 ударов в минуту	49*	98*	35*	73*
	свыше 100 ударов в минуту	1*	2*	13*	27*

Примечание: \* - различия статистически значимы (p<0,05)

При наличии продуктивного кашля преобладало выделение мокроты слизистого и слизисто-гнойного характера. Количество пациентов со слизистой мокротой достоверно больше было в группе с нетяжелым течением пневмонии (48,0 %), чем в группе с тяжелым течением – 33,3 %. Слизисто-гнойная мокрота встречается у 23 больных с нетяжелым течением и у 25 больных с тяжелой пневмонией. Гнойная мокрота достоверно чаще определялась у больных тяжелой пневмонией - 12,5 % случаев против 6,0 % у больных с нетяжелым течением. Кровохаркание выявлено только у одного пациента во второй группе.

Симптомы интоксикации, общая слабость, головокружение, головная боль, озноб, одышка встречались в обеих группах. Однако, озноб (62,5 %; 30) и одышка (48 %; 23) достоверно чаще выявлялись при тяжелом течении пневмонии ( $p < 0,05$ ).

Повышение температуры тела отмечалось у 74,0 % пациентов в группе с нетяжелой пневмонией, и у 89,5 % - в группе с тяжелой пневмонией. При этом в 1-й группе преобладал субфебрильный (62 %) характер повышения (до 38°C). У поступающих пациентов с тяжелой пневмонией наблюдалась фебрильная температура тела (50 %) и у 12 % больных в группе пневмоний нетяжелого течения отмечалось повышение температуры тела до 39°C и выше.

Длительность лихорадки составляла  $2,56 \pm 0,44$  суток у пациентов с нетяжелой пневмонией и  $3,47 \pm 0,31$  суток при тяжелом течении заболевания.

При физикальном исследовании притупление перкуторного звука у пациентов с нетяжелой пневмонией отмечалось в трети случаев. У половины больных этой же группы выслушивалось ослабленное везикулярное дыхание и влажные мелкопузырчатые хрипы. Крепитирующие хрипы выявлены лишь у двоих пациентов.

При сравнении указанных аускультативных феноменов с группой тяжелой пневмонии выявились достоверные различия: притупление

перкуторного звука у 81,3 % пациентов, ослабление везикулярного дыхания лишь у четверти пациентов, наличие крепитации у 20,8 % (10 пациентов).

При измерении сатурации кислорода в крови пациентов выявились достоверные различия: так сатурация, равная 96 % и выше, чаще наблюдалась в группе с нетяжелой пневмонией, а сатурация кислорода 95 % и ниже чаще встречалась при тяжелом течении ВП. Таким образом, уровень сатурации кислорода в крови косвенно показывает объем поражения легочной ткани, не участвующей в газообменных процессах.

Частота сердечных сокращений, как еще один признак комплексной оценки тяжести пневмонии, у большинства пациентов их обеих групп составила до 100 ударов в минуту. При этом в группе с тяжелым течением пневмонии ЧСС свыше 100 ударов наблюдалась у 13 пациентов, тогда как в группе с нетяжелой пневмонией – у одного пациента.

Длительность госпитализации пациентов с внебольничной пневмонией нетяжелого течения длилась  $14,24 \pm 2,24$  суток, больные же с пневмонией тяжелого течения находились в стационаре  $18,6 \pm 3,36$  суток.

## **ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **4.1. Результаты оценки инструментальных исследований**

Анализ локализации патологического процесса при рентгенологическом обследовании показал, что в группе нетяжелой пневмонии отсутствует двустороннее поражение легочной ткани, т.к. наличие его классифицирует пневмонию как тяжелую. В первой группе преобладали правосторонние пневмонии (56 %), больше диагностировалось нижнедолевых поражений (справа – 44 %, слева – 36 %). При тяжелой пневмонии частота двустороннего поражения составила 50 %, с поражением правого легкого – 29,2 % и левого легкого – 20,8 %.

Рентгенологическая картина у пациентов первой группы характеризовалась поражением в виде инфильтрации одного или двух сегментов (52,0 %), тогда как во второй группе в 66,7 % отмечалось поражение трех и более сегментов, а также двустороннее поражение легких в 50,0 % случаев. Оценка осложнений показала их наличие в виде плеврита лишь при тяжелой форме заболевания – 12,5 % случаев.

Были выявлены достоверные различия между двумя степенями тяжести исходя из количества пораженных сегментов: при тяжелом течении пневмонии поражается чаще три и более сегмента; при нетяжелом – один, два сегмента. Данные рентгенологические признаки в большинстве случаев совпадали с нашими клиническими показателями.

Исходя из результатов инструментального обследования, можно с уверенностью заключить, что рентгенологическое исследование остается «золотым стандартом» диагностики пневмоний (таблица 8).

Таблица 8 – Рентгенологические признаки у обследованных  
пациентов

Признак	Степени тяжести пневмонии			
	Нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
	абс.	%	абс.	%
Двустороннее поражение	0*	0*	24*	50*
Одностороннее поражение	50*	100*	24*	50*
Поражение правого легкого	28*	56*	14*	29,2*
Поражение левого легкого	22*	44*	10*	20,8*
Поражение верхней доли справа	5	10	2	4,2
Поражение средней доли справа	1*	2*	6*	12,5*
Поражение нижней доли справа	22*	44*	12*	25*
Поражение верхней доли слева	4	8	5	10,4
Поражение нижней доли слева	18*	36*	6*	12,5*
Поражение одного сегмента	24*	48*	4*	8,3*
Поражение двух сегментов	26*	52*	11*	23*
Поражение трех и более сегментов	0*	0*	33*	66,7*
Плеврит	0*	0*	6*	12,5*

Примечание: \* - различия статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Применив статистический анализ к полученным результатам, показательной оказалась высокая степень достоверности различий между нетяжелой пневмонией и пневмонией тяжелого течения по рассматриваемым нами признакам. Таким образом, следует отметить, что при тяжелом течении заболевания обязательно имеется поражение легочной ткани с двух сторон с преимущественным вовлечением в воспалительный процесс трех и более сегментов, большая частота возникновения осложнений, чем при нетяжелом течении. При нетяжелом течении пневмонии было отмечено более частое поражение правого легкого с вовлечением в процесс одного или двух сегментов.

#### **4.2. Результаты оценки лабораторных показателей**

Изменения общеклинических и биохимических показателей крови у обследованных нами пациентов оказались разнообразными. Кровь для общего и биохимического анализов забиралась в первые сутки после поступления пациента в стационар, что соответствовало острому периоду заболевания. На десятые сутки осуществлялся повторный забор крови с исследованием тех же показателей, что и при поступлении.

В общем анализе крови выявлялось повышение СОЭ и количества лейкоцитов у пациентов обеих степеней тяжести. В частности, выраженность изменений уровня СОЭ и лейкоцитоз со сдвигом лейкоформулы влево были достоверно выше у больных с тяжелым течением пневмонии, чем с нетяжелым. На десятые сутки количество лейкоцитов и уровень СОЭ в обеих группах снижались (таблица 9).

При тяжелом течении пневмонии отмечалось достоверное повышение числа лимфоцитов по сравнению с нормальными показателями при нетяжелом течении. Эти результаты в определенной степени отражают недостаточность иммунного ответа у пациентов с тяжелым течением пневмонии.

Таблица 9 – Данные лейкоцитограммы и СОЭ у пациентов с внебольничной пневмонией в динамике

Показатели	Степень тяжести внебольничной пневмонии (M±m)			
	нетяжелая (n=50)		тяжелая (n=48)	
	1-е сутки	10-е сутки	1-е сутки	10-е сутки
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	9,2±0,8*	6,35±0,19	14,7±0,1*	7,08±0,43
Нейтрофилы палочко-ядерные, %	4,9±2,62*	3,09±0,25	9,5±1,9*	3,57±0,51
Нейтрофилы сегменто-ядерные, %	58,3±1,49	58,67±0,76	53,4±2,73	54,48±1,3
Лимфоциты, %	24,3±1,09*	30,79±0,78	12,1±1,9*	28,7±1,15
Моноциты, %	6,8±0,3*	5,02±0,23	5,2±0,39*	5,01±0,27
Эозинофилы, %	2,9±0,58	1,95±0,18	2,1±0,32	1,91±0,27
СОЭ, мм/ч	27±1,8*	15,04±1,25	35±1,68*	22,57±2,34

Примечание - \* различия статистически значимы (p<0,05)

Имелось достоверное различие числа эритроцитов и моноцитов между больными двух степеней тяжести при сохранении данных показателей в пределах нормы у всех больных. Нами отмечено снижение уровня гематокрита и гемоглобина ниже нормальных значений у больных с тяжелым течением, что явилось достоверным различием с нетяжелой пневмонией.

У пациентов с нетяжелым течением заболевания биохимические показатели при исследовании крови находились в пределах нормы или

приближались к нижней границе нормы. При тяжелой форме заболевания выраженность изменений этих показателей заставляет обратить на себя внимание. В частности, содержание общего белка и альбуминов в периферической крови было ниже нормы и достоверно отличалось от значений при нетяжелой пневмонии. Уровень фибриногена и мочевины выше границ нормы достоверно выше определялся только у пациентов с тяжелой пневмонией. У больных всех групп отмечалось снижение протромбинового индекса ниже нормальных значений с достоверным различием между собой ( $p < 0,05$ ).

Выявленной нами особенностью иммунологической реактивности явилась тенденция к снижению относительного числа лимфоцитов во второй группе, что свидетельствует об адекватном реагировании лимфоцитарного звена у пациентов с тяжелой пневмонией. Данная тенденция может являться дополнительным критерием в оценке тяжести заболевания вместе с общеизвестными параметрами (таблица 10).

Было проведено биохимическое исследование периферической крови для оценки роли гуморальных маркеров в активности легочного воспаления. С-реактивный белок стал тем самым маркером острой фазы внебольничной пневмонии. Этот белок показывает наличие воспаления и степень его выраженности. Он является самым чувствительным и быстрым (первые 6-8 ч) показателем воспалительной реакции.

СРБ - это элемент раннего (неспецифического) иммунного ответа. Данный белок появляется в крови на начальных стадиях воспаления после проникновения антигена в организм и действует как опсонин, стимулируя фагоцитоз нейтрофилов и клеток моноцитарно-макрофагальной системы. Комплексы СРБ с лигандами при присоединении к мембранам патогенов и поврежденным клеткам активируют каскадный процесс системы комплемента. СРБ также обеспечивает устранение эндогенных веществ, которые образуются при деструкции клеток – еще одна важная функция. Уровень СРБ у здоровых людей в плазме не превышает 0,5 мг/л (Шепеленко

А.Ф. и др., 2005). Исследование крови на СРБ осуществлялось в первые сутки госпитализации.

Таблица 10 – **Изменения лабораторных показателей у больных с внебольничной пневмонией**

	Показатели	Степень тяжести пневмонии (M±m)	
		нетяжелая (n=50)	тяжелая (n=48)
Общий анализ крови	эритроциты, $\times 10^{12}$	4,7±0,057*	4,1±0,054*
	гемоглобин, г/л	140±0,71*	129±0,56*
	гематокрит	41±0,52*	37±0,48*
	Лейкоциты, $\times 10^9$	9,2±0,8*	14,7±0,1*
	палочкоядерные, %	4,9±2,62*	9,5±1,9*
	сегментоядерные, %	58,3±1,49	53,4±2,73
	лимфоциты, %	24,3±1,09*	12,1±1,9*
	моноциты, %	6,8±0,3*	5,2±0,39*
	эозинофилы, %	2,9±0,58	2,1±0,32
	СОЭ мм/ч	27±1,8*	35±1,68*
Биохимический анализ крови	ПТИ, %	86,4±1,27*	68,2±3,28*
	фибриноген, г/л	7,6±3,1	5,6±0,38
	СРБ, мг/л	69,6±8,7*	98,5±16,8*
	билирубин, мкмоль/л	14,8±1,95	13,8±1,05
	мочевина, ммоль/л	7,9±2,6*	8,2±1,08*
	креатинин, мкмоль/л	76,3±2,2	67,2±0,04
	общий белок, г/л	76,7±0,06*	66,5±0,11*
	альбумины, г/л	43,5±0,16*	33,7±0,17*
	глобулины, г/л	33,5±0,74	32,2±1,23

Примечание: \* - достоверные отличия между двумя степенями тяжести ( $p < 0,05$ ).

В проведенном нами анализе у больных нетяжелым течением пневмонии показатель СРБ в среднем составил 69,6 мг/л, с тяжелым течением - 98,5 мг/л. Таким образом результаты исследования показывают повышенные в несколько раз значения маркера воспаления как по сравнению с нормальными значениями, так и между группами. ( $p < 0,05$ ).

В динамике заболевания содержание СРБ имело тенденцию к снижению и приближалось к нормальным значениям, достоверно не имея отличий между группами. Резюмируя, можно сделать заключение, что процесс изменения уровня С-реактивного белка подтверждает его регулирующее влияние на ранних этапах воспалительного процесса. В то же время количественное определение этого белка на разных этапах исследования показало его достоверность как критерия тяжести пневмонии.

Таким образом, учитывая вариационные методы статистики, получены определенные клинические и лабораторные показатели, которые характеризуют достоверные отличия между степенями тяжести внебольничной пневмонии. Исследование лабораторных показателей, получение которых возможно уже в первые сутки после госпитализации больного, выявило такие характерные изменения, как лейкоцитоз с палочко-ядерным сдвигом, увеличение моноцитов, повышение СОЭ, лимфоцитопению, увеличение С-реактивного белка, отражающие различную интенсивность воспалительной реакции.

#### **4.3. Иммунологические особенности внебольничных пневмоний у обследованных групп больных**

После проведения общеклинического и инструментального обследования пациентов с внебольничной пневмонией было выявлено, что использованные методики не дают полной картины воспалительного процесса в легочной ткани. Следующим этапом исследований стал анализ

диагностического значения комплексных методов оценки отдельных звеньев иммунитета, в том числе цитокинов.

Исследование уровней отдельных звеньев иммунитета при ВП проводился с учетом разделения пациентов на нетяжелое и тяжелое течение ВП, а также от объема вовлеченной в воспалительный процесс легочной ткани.

При изучении гуморальных факторов системы иммунитета у пациентов с внебольничной пневмонией были установлены следующие особенности: отсутствие значимой зависимости уровней IgG и IgM от степени тяжести заболевания, выявлена закономерность содержания IgA в крови соответственно объему легочного поражения. Значения IgA были повышены, а уровень IgM снижался у пациентов обеих групп. Уровень IgG был достоверно ( $p < 0,05$ ) снижен у больных с тяжелым течением пневмонии (таблица 11).

**Таблица 11 – Динамика показателей гуморального иммунитета у пациентов с внебольничной пневмонией различной степени тяжести**

Обследованные больные с ВП (n=98) (M±m)		Иммуно- глобулин А, г/л	Иммуно- глобулин М, г/л	Иммуно- глобулин G, г/л
Нетяжелое течение (n=50)	1-е сутки	3,03±0,23	0,96±0,08	11,02±1,13
	10-е сутки	3,13±0,31	1,07±0,15	11,89±1,38
Тяжелое течение (n=48)	1-е сутки	3,49±0,45	1,01±0,27	10,87±0,45*
	10-е сутки	2,92±0,38	1,12±0,23	10,42±0,57*
Группа контроля (n=65)		1,82±0,01	1,14±0,02	14,53±4,73

Примечание: \* - статистически значимое различие с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

Результаты исследования иммуноглобулинов у пациентов внебольничной пневмонией в зависимости от объема поражения легких представлены на рисунке 1.

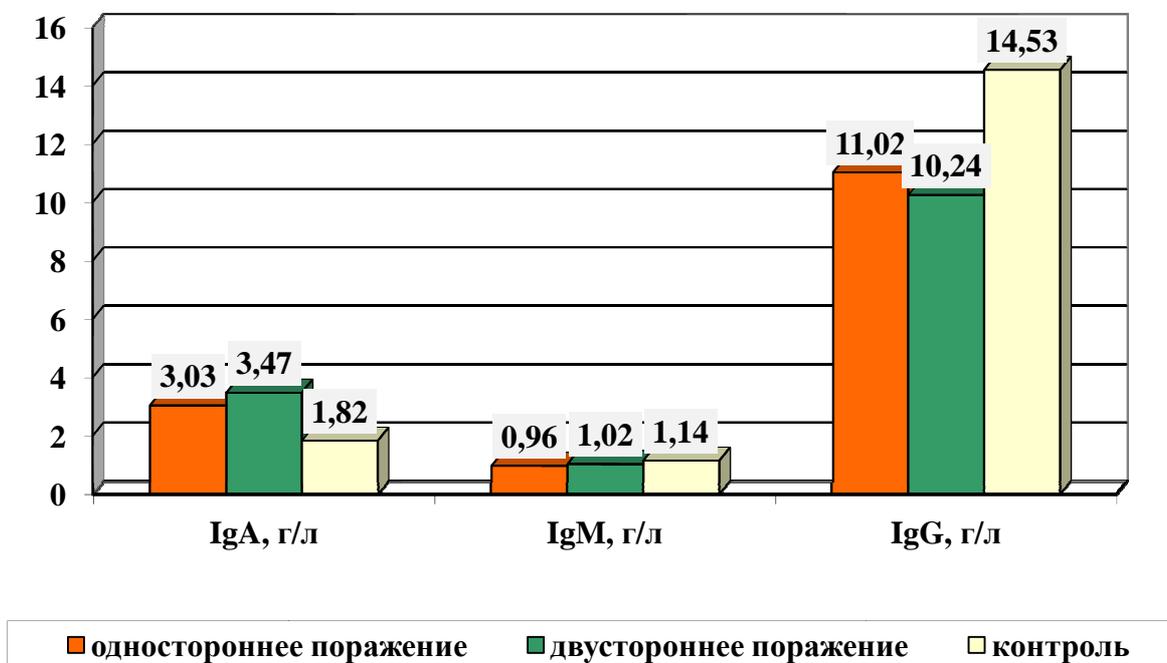


Рисунок 1 - Содержание иммуноглобулинов у пациентов с внебольничной пневмонией в зависимости от объема поражения легочной ткани (г/л) \* -  $p < 0,05$

Более выраженную зависимость от объема поражения легочной ткани показал уровень IgA. Он имел тенденцию к повышению у пациентов с двусторонним поражением легких. При этом отмечалось незначительное снижение уровня IgM у пациентов из двух групп ( $p > 0,05$ ).

Результаты исследования клеточного звена иммунитета показали, что течение воспалительного процесса при пневмонии у пациентов с различной степенью тяжести сопровождалось дифференцированной иммунной реактивностью. При этом, для первой группы (нетяжелое течение ВП, соответствующее одностороннему поражению легочной ткани) была характерна умеренная активация основных значений, в то время как у

пациентов с тяжелым течением ВП с двусторонним поражением легких, у которых отмечалась депрессия иммунного ответа (рисунок 2).

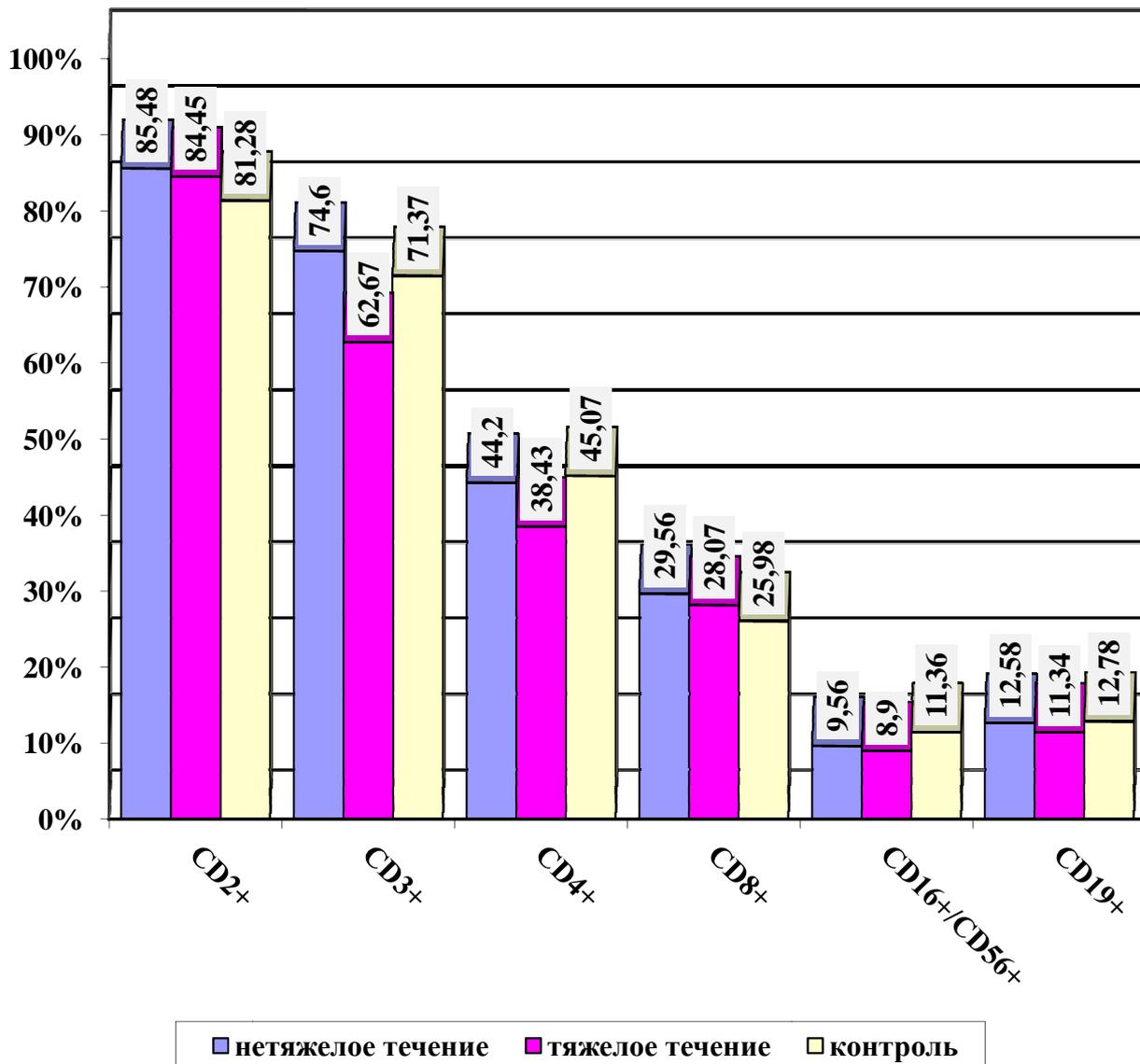


Рисунок 2 - Показатели субпопуляций лимфоцитов у пациентов с внебольничной пневмонией различной степени тяжести (%).

Нами было выявлено увеличение относительного количества Т-лимфоцитов (CD2+) только в обеих группах:  $85,48 \pm 1,05$  % в первой группе и  $84,45 \pm 1,32$  % во второй группе, в сравнении с группой контроля (рисунок 3). Абсолютное значение Т-лимфоцитов имело тенденцию к снижению с большей выраженностью в группе с тяжелой пневмонией ( $p < 0,05$ ).

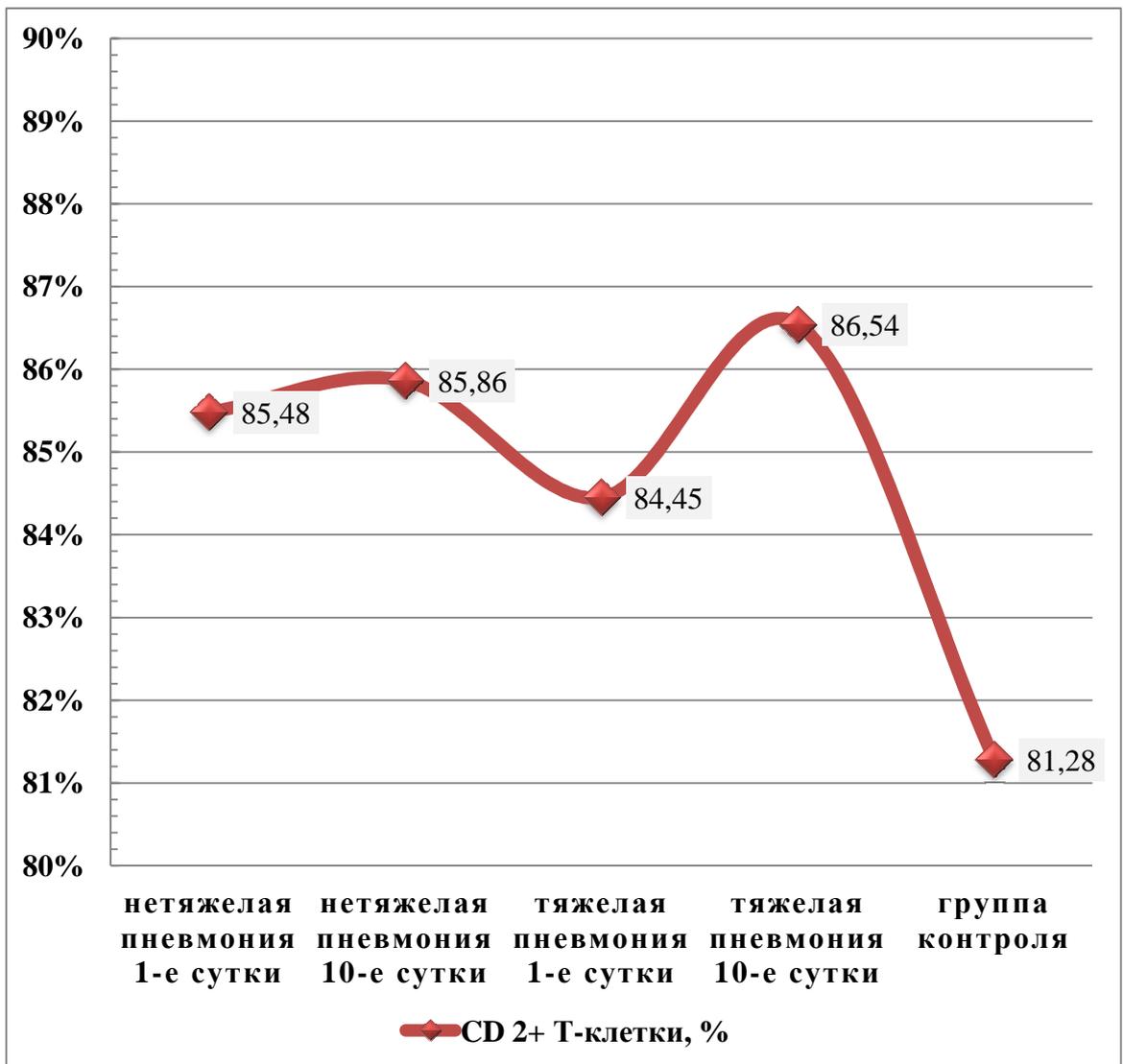


Рисунок 3 – Изменения относительного количества CD 2+ Т-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Исследование показало, что в отличие от пациентов с нетяжелой формой заболевания, у которых выявлено повышение лимфоцитов CD3+ ( $74,60 \pm 1,43$  %), у больных с тяжелой степенью ВП наблюдалось снижение относительного количества CD3+ Т-лимфоцитов до  $62,67 \pm 2,34$  % ( $p < 0,05$ ) (рисунок 4). Абсолютные значения опять же были снижены ( $p < 0,05$ ) больше во второй группе.

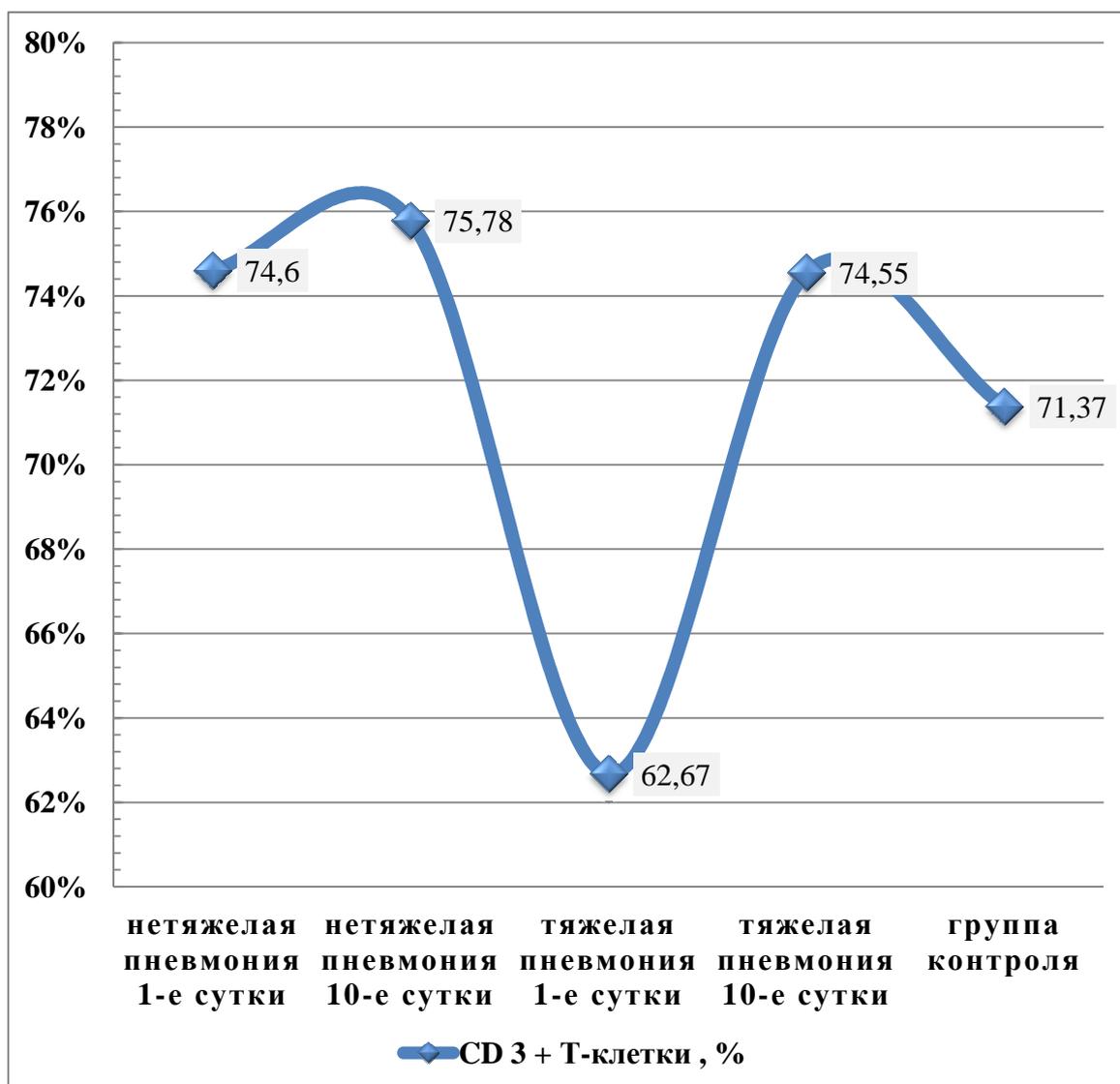


Рисунок 4 – Изменения относительного количества CD 3+ Т-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

При анализе содержания Т-клеток с хелперной активностью (CD4+) установлены статистически значимые сниженные уровни относительного количества этих клеток у пациентов обеих групп: при нетяжелом течении ВП –  $44,2 \pm 0,83$  %, при тяжелом течении -  $38,43 \pm 2,46$  % ( $p < 0,05$ ) (рисунок 5). Абсолютные значения опять таки были снижены в обеих группах.

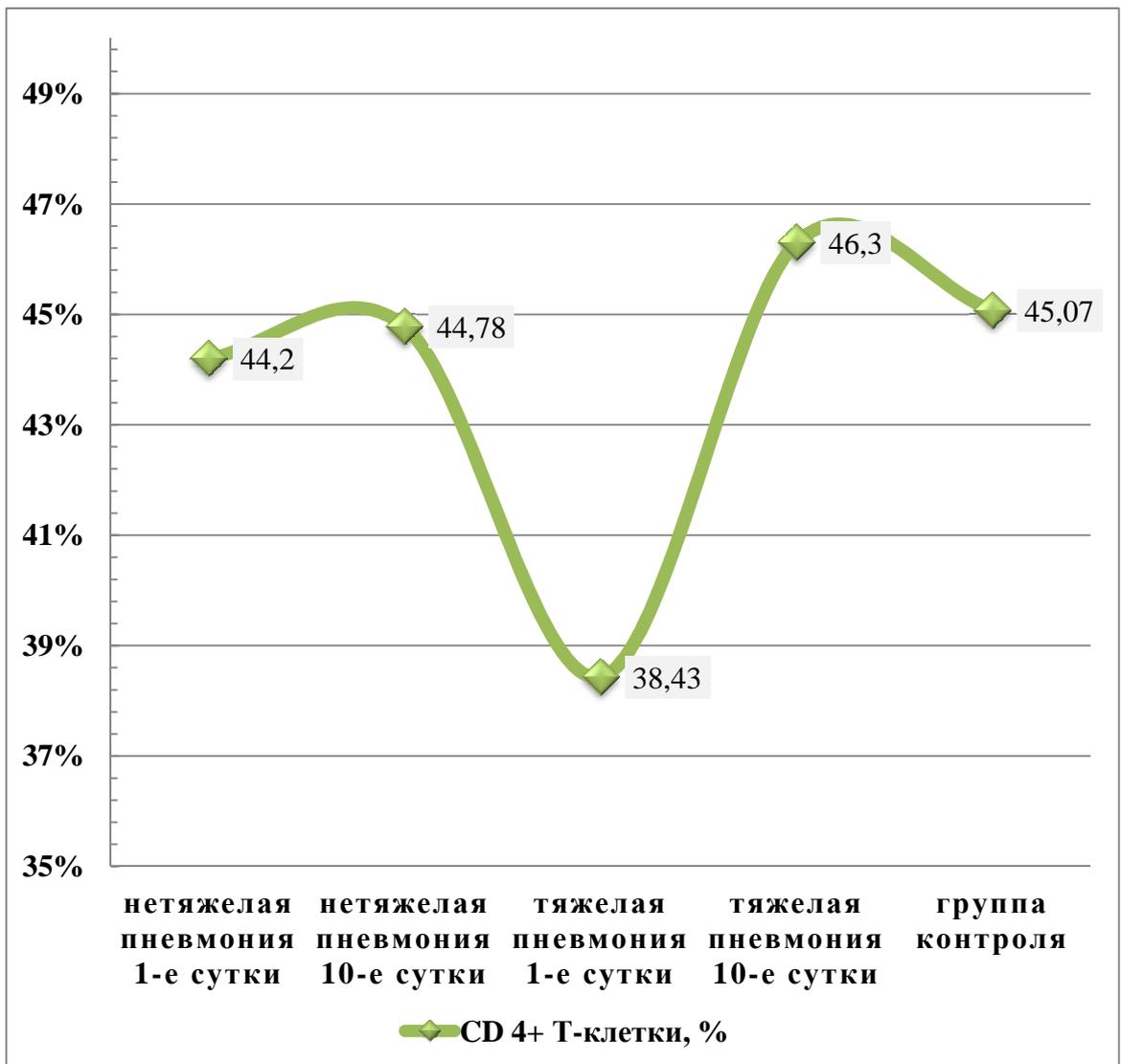


Рисунок 5 – Изменения относительного количества CD 4+ Т-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Относительное количество Т-лимфоцитов с супрессорной активностью (CD8+), наоборот, имело тенденцию к повышению в двух группах пациентов с ВП. Статистически значимое повышение было у пациентов из первой группы ( $29,56 \pm 0,45$  %), в контроле -  $25,98 \pm 0,33$  % ( $p < 0,05$ ) (рисунок 6). Абсолютное число CD8+ Т-лимфоцитов было снижено в обеих группах, но достоверно не отличалось от группы контроля.

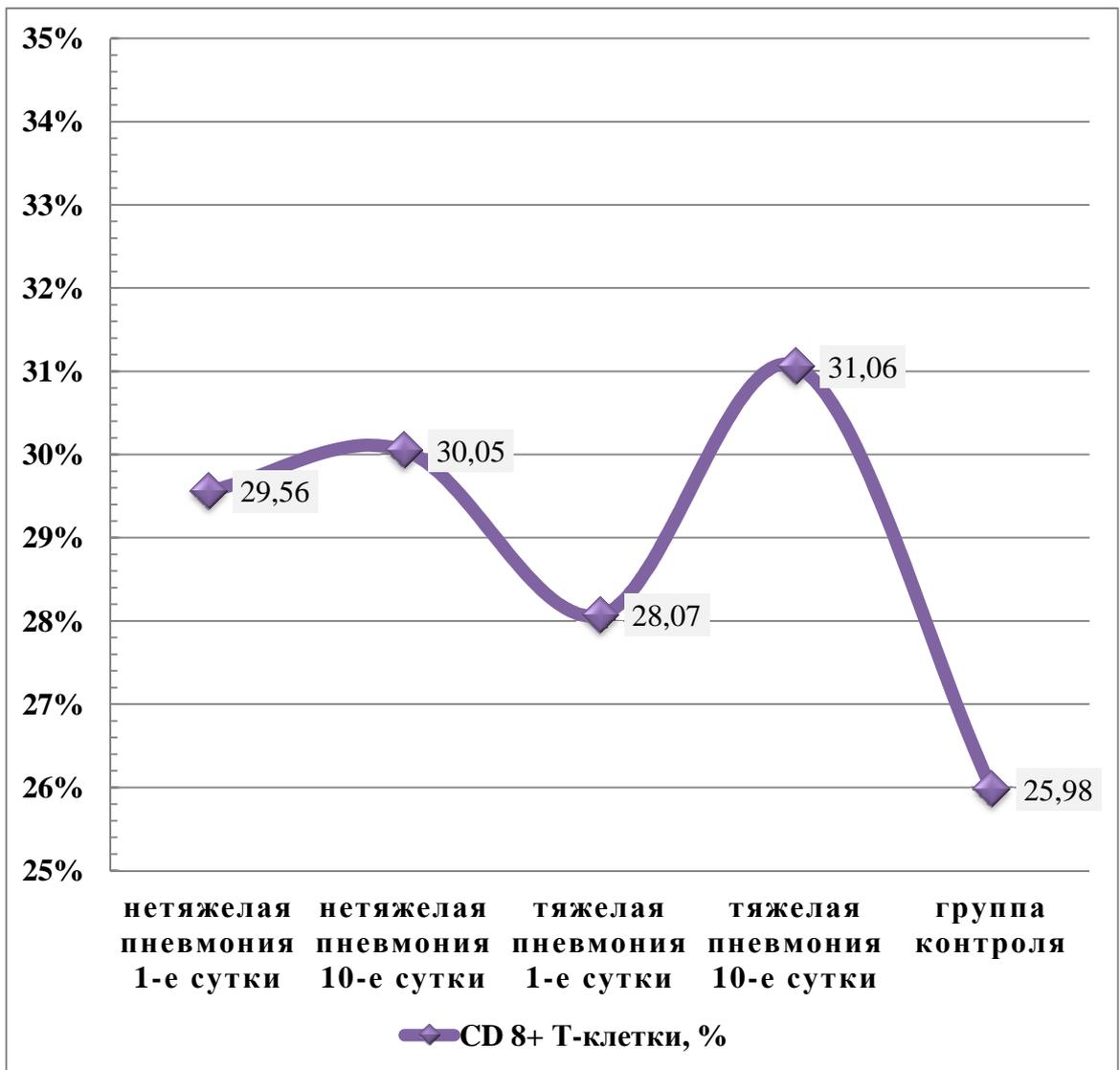


Рисунок 6 – Изменения относительного количества CD 8+ Т-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Вышеуказанные результаты изменили коэффициент соотношения хелперов к супрессорам (CD4+/CD8+), который оказался сниженным у всех пациентов, но с большей депрессией при тяжелом течении ВП, составляя, соответственно, в первой и второй группах  $1,64 \pm 0,14$  и  $1,45 \pm 0,15$  ( $p < 0,05$ ) (рисунок 7).

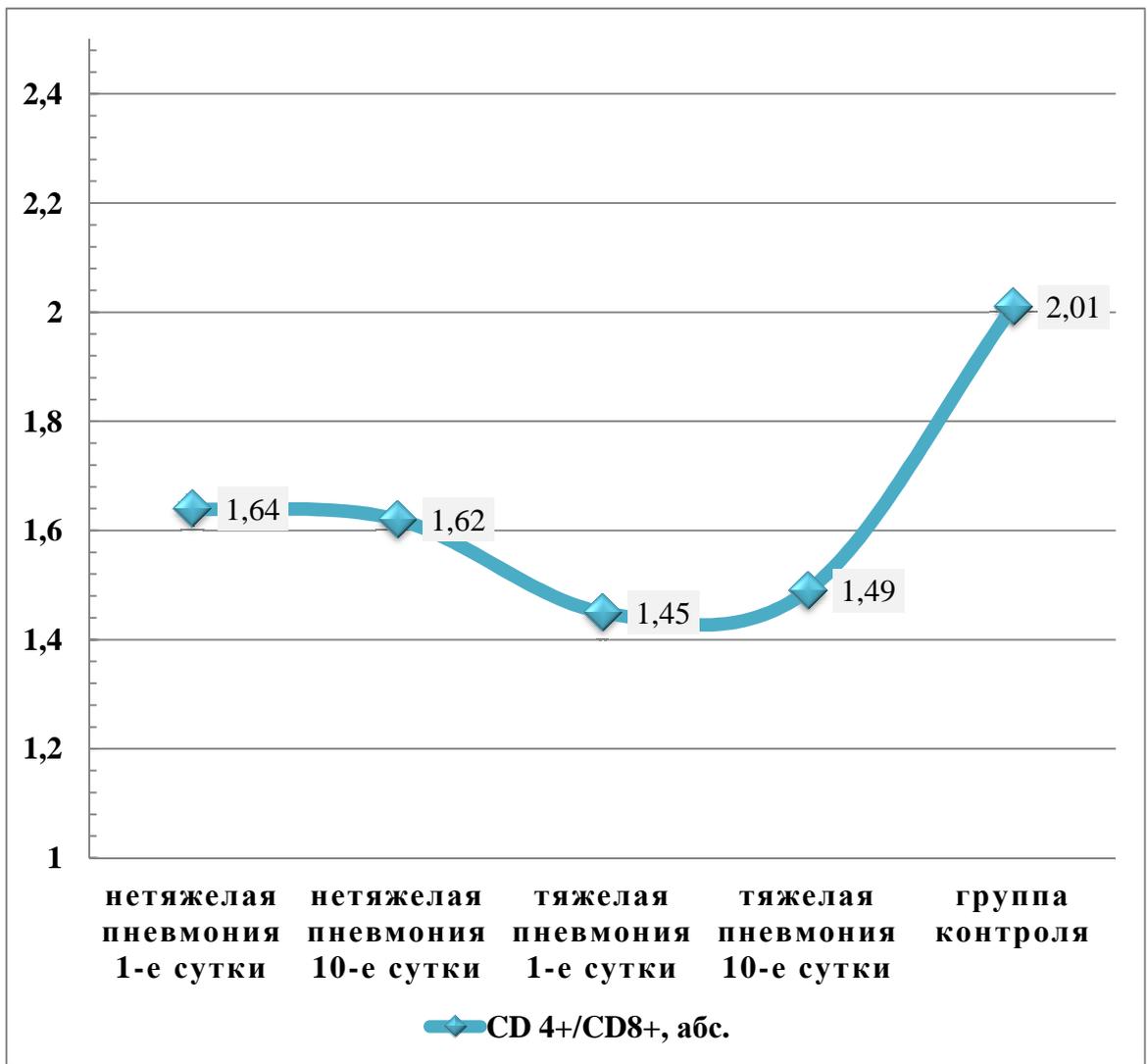


Рисунок 7 – Изменения коэффициента соотношения CD4+/CD 8+ в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Уровень естественной киллерной цитотоксичности является еще одним из механизмов, отражающих степень тяжести заболевания и возможное развитие осложнений помимо вышеперечисленных показателей. Иммунофенотипический анализ показал, что у пациентов с ВП имеется статистически значимое снижение количества естественных киллерных клеток (CD16+/56+), с большей выраженностью при тяжелых формах воспаления. Так, у больных из первой группы относительное содержание CD16+/56+ составило  $9,56 \pm 0,2$  %, а у пациентов из второй группы -  $8,9 \pm 0,3$  %

( $p < 0,05$ ), в контрольной группе -  $11,36 \pm 0,48$  % (рисунок 8). Абсолютные значения имели тенденцию к снижению ( $p < 0,05$ ) в обеих когортах пациентов.

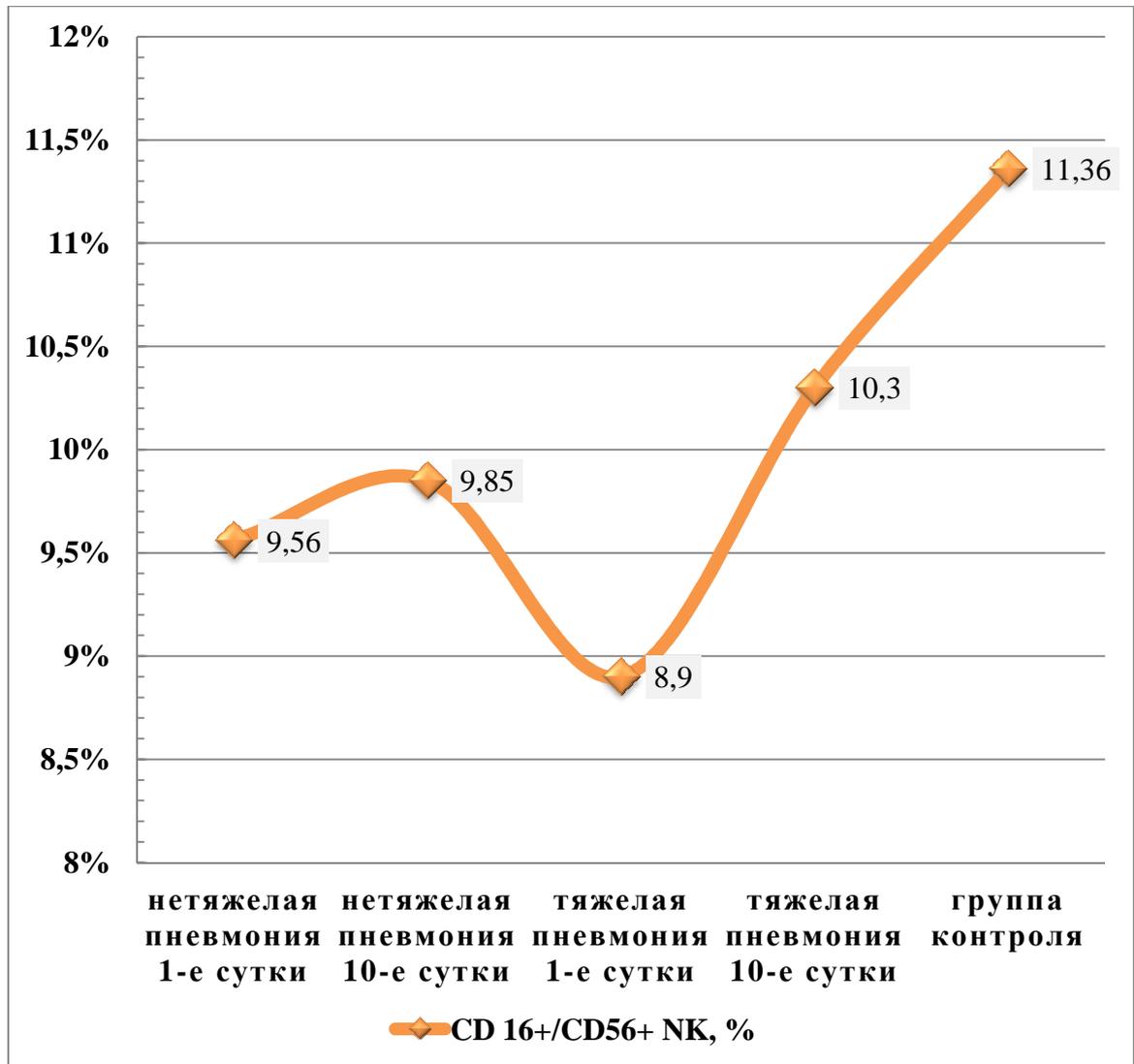


Рисунок 8 – Изменения относительного количества CD16+/CD56+ NK-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Относительное количество CD19+ В-лимфоцитов у пациентов с нетяжелым течением ВП составило  $12,58 \pm 2,5$  %, у пациентов с тяжелой пневмонией –  $11,34 \pm 1,34$  % ( $p < 0,05$ ), в контрольной группе -  $12,78 \pm 0,16$  % (различия статистически не значимы) (рисунок 9). Абсолютное число В-лимфоцитов было снижено у всех пациентов.

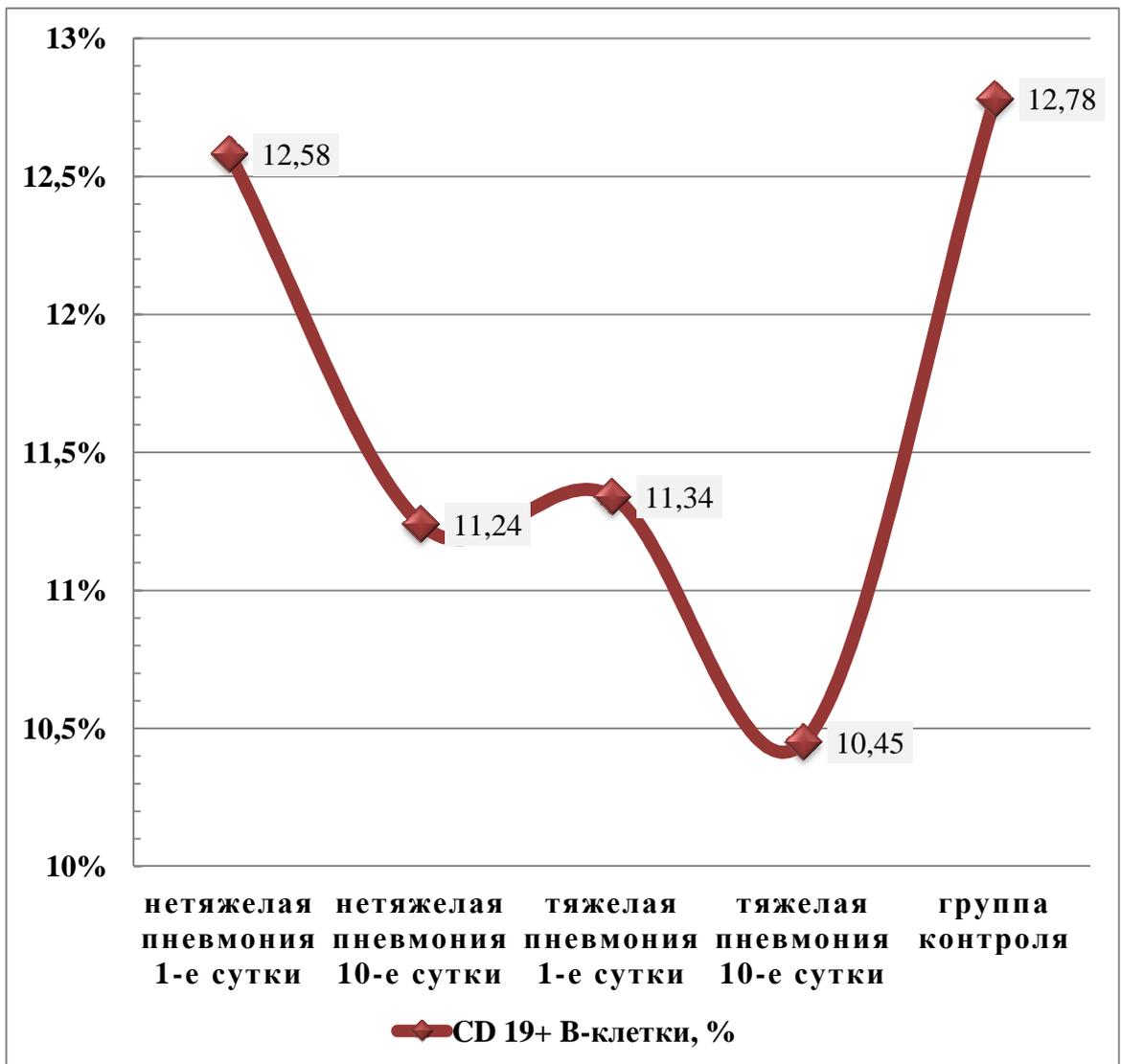


Рисунок 9 – Изменения относительного количества CD19+ В-клеток в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

При динамическом исследовании иммунологических показателей на десятые сутки наблюдения, на фоне проводимой антимикробной химиотерапии установлено повышение значений общих Т-клеток (CD2+), (CD3+), Т-клеток с хелперной активностью (CD4+), Т-клеток с супрессорной активностью (CD8+) в обеих группах. Показатели В-клеток (CD19+) в первой группе не подверглось существенным изменениям. В то же время у пациентов с тяжелым течением пневмонии значения были статистически значимо снижены ( $p < 0,05$ ). Этот факт, безусловно, характеризует угнетение

В-лимфоцитарного звена при тяжелом течении заболевания. Относительные значения CD16+/56+ клеток приходили к нормальным цифрам динамике в двух группах больных на десятые сутки (таблицы 12, 13).

**Таблица 12 – Динамика показателей клеточного иммунитета у пациентов с внебольничной пневмонией нетяжелого течения**

Показатели	Пациенты с внебольничной пневмонией (M±m), нетяжелое течение (n=50)		Группа контроля (n=65)
	1-е сутки	10-е сутки	
CD2+ Т-клетки, %	85,48±1,05*	85,86±1,24*	81,28±0,76
CD2+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	1,55±0,12	1,68±0,15	1,67±0,08
CD3+ Т-клетки, %	74,60±1,43	75,78±1,45	71,37±1,15
CD3+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	1,29±0,07	1,43±0,06	1,55±0,04
CD4+ Т-клетки, %	44,20±0,83	44,78±1,64	45,07±0,91
CD4+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,80±0,06	0,85±0,05	0,94±0,03
CD8+ Т-клетки, %	29,56±0,45*	30,05±1,56*	25,98±0,33
CD8+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,51±0,05	0,56±0,04	0,56±0,04
CD4+/CD8+	1,64±0,14	1,62±0,16*	2,01±0,12
CD16+/CD56+, %	9,56±0,2	9,85±2,1*	11,36±0,48
CD16+/CD56+, 10 <sup>9</sup> /л	0,26±0,04	0,24±0,03	0,27±0,02
CD19+ В-клетки, %	12,58±2,5	11,24±1,15	12,78±0,16
CD19+ В-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,25±0,03	0,23±0,04	0,28±0,02

Примечание – различия с группой контроля статистически значимы:

\* - p<0,05; \*\* - p<0,01.

Таблица 13 – Динамика показателей клеточного иммунитета у пациентов с внебольничной пневмонией тяжелого течения

Показатели	Пациенты с внебольничной пневмонией (M±m), тяжелое течение (n=48)		Практически здоровые доноры (контроль) (n=65)
	1-е сутки	10-е сутки	
CD2+ Т-клетки, %	84,45±1,32	86,54±0,15*	81,28±0,76
CD2+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	1,46±0,32	1,62±0,18	1,67±0,08
CD3+ Т-клетки, %	62,67±2,34**	74,55±2,82	71,37±1,15
CD3+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	1,17±0,19	1,40±0,18	1,55±0,04
CD4+ Т-клетки, %	38,43±2,46**	46,30±2,05	45,07±0,91
CD4+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,71±0,14	0,87±0,10	0,94±0,03
CD8+ Т-клетки, %	28,07±0,35	31,06±2,15**	25,98±0,33
CD8+ Т-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,51±0,02	0,61±0,03	0,56±0,04
CD4+/CD8+	1,45±0,15**	1,49±0,14*	2,01±0,12
CD16+/CD56+, %	8,90±0,3*	10,30±1,5	11,36±0,48
CD16+/CD56+, 10 <sup>9</sup> /л	0,22±0,06	0,23±0,07	0,27±0,02
CD19+ В-клетки, %	11,34±1,34	10,45±1,09*	12,78±0,16
CD19+ В-клетки, 10 <sup>9</sup> /л	0,19±0,04	0,17±0,01**	0,28±0,02

Примечание – различия с группой контроля статистически значимы:

\* - p<0,05; \*\* - p<0,01.

С целью изучения особенностей иммунологической реактивности в разных возрастных категориях были изучены показатели клеточного звена иммунитета у пациентов с ВП в возрасте от 18 до 30 лет, от 31 года до 40 лет,

от 41 года до 50 лет и старше 51 года. В результате не было получено статистически значимых различий.

Таким образом, изучение отдельных показателей клеточного звена иммунитета у пациентов с внебольничной пневмонией показало снижение относительного числа общих Т-лимфоцитов (CD3+) и Т-клеток с хелперной активностью (CD4+), достоверное уменьшение регуляторного коэффициента (CD4+/CD8+), снижение относительных значений количества натуральных киллеров (CD16+/56+), тенденцию к относительной и абсолютной В-лимфоцитопении (CD19+) при тяжелой степени пневмонии с двусторонним поражением легочной ткани, с неполной нормализацией указанных показателей на десятые сутки.

По результатам проведенного нами иммунологического мониторинга выявлены основные патологические реакции, обуславливающие формирование тяжелых форм заболевания с большим объемом поражения легочной ткани, а именно - снижение Т-лимфоцитов (CD3+), Т-лимфоцитов с хелперной активностью (CD4+), снижение В-лимфоцитов (CD19+), уменьшение числа натуральных киллеров (CD16+/56+), дисбаланс иммуноглобулинов на фоне общей воспалительной реакции.

Выявленные нарушения иммунного ответа у пациентов с тяжелой степенью заболевания предполагают наличие измененной иммунорегуляции, которую осуществляют цитокины. При пневмонии, согласно данным научной литературы, эту функцию выполняет целый спектр таких веществ с про- и противовоспалительной активностью. Поэтому для исследования в динамике воспалительного процесса были выбраны следующие биопептиды: L-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , MCP-1.

Указанные цитокины контролируют клеточное и гуморальное звенья иммунной системы и, следовательно, их изучение позволит оценить степень выраженности воспалительной реакции и адекватность иммунологической реактивности при различных степенях тяжести внебольничной пневмонии.

Исследование уровней цитокинов в периферической крови проводилось также с учетом степени тяжести ВП. В процессе изучения были выявлены следующие особенности (рисунок 10).

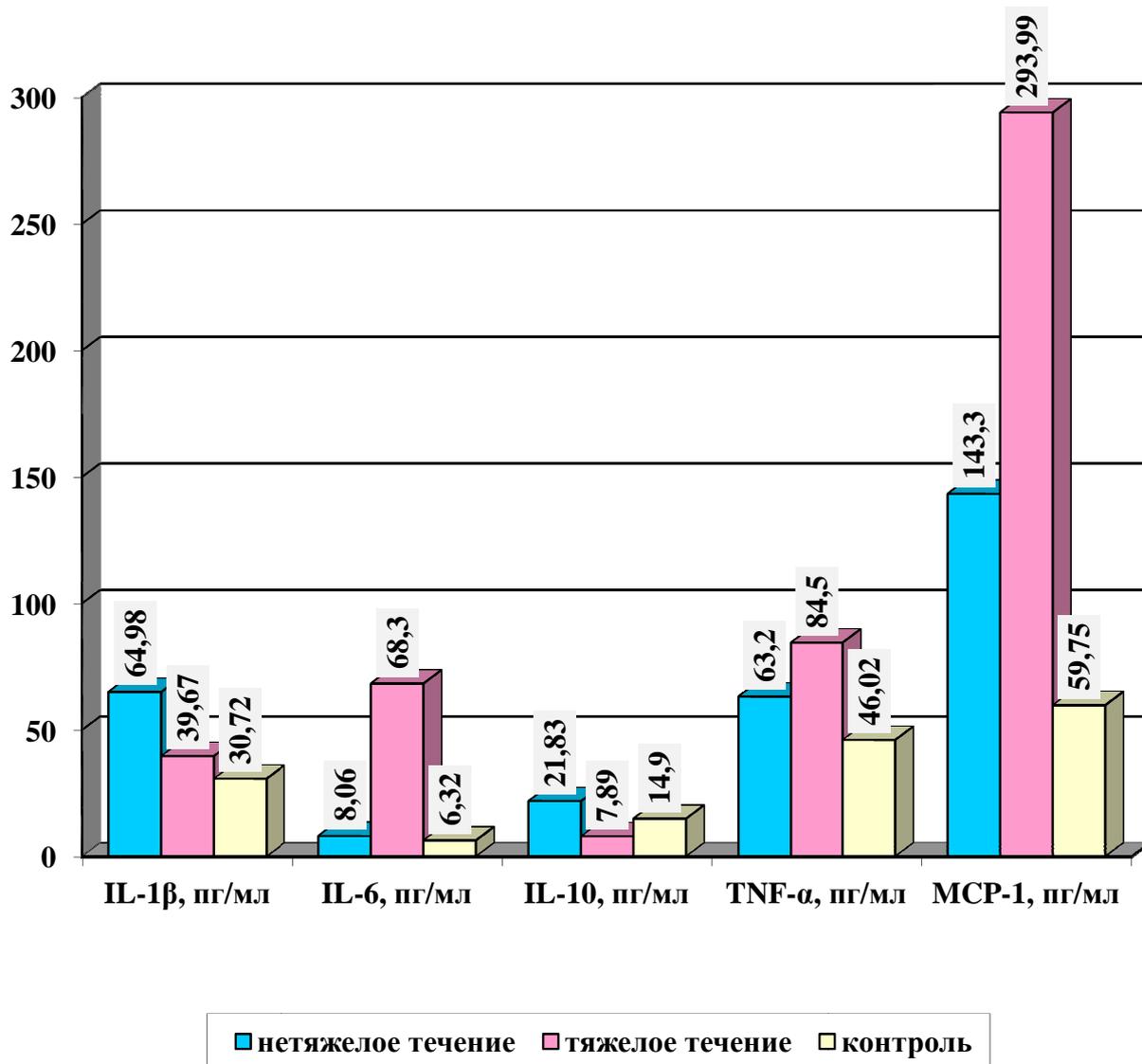


Рисунок 10 - Уровень цитокинов в сыворотке крови пациентов с внебольничной пневмонией на первые сутки госпитализации (пг/мл)

Повышение уровня IL-1 $\beta$  в крови отмечалось у больных ВП с нетяжелым и тяжелым течением и являлось статистически значимым ( $p < 0,01$ ). Более выраженное повышение отмечено у больных с нетяжелым течением, как и увеличение содержания TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

У пациентов первой группы несколько повышались значения IL-6 и противовоспалительного IL-10. Тогда как во второй группе значение IL-10 было достоверно ниже, чем у группы контроля ( $p < 0,001$ ), а показатель IL-6 превышал аналогичный параметр первой группы в несколько раз ( $p < 0,001$ ). Значение уровня лимфокина MCP-1 было достоверно выше в обеих группах ( $p < 0,001$ ), особенно у пациентов с тяжелой пневмонией.

В процессе иммунологического мониторинга, при исследовании на десятые сутки заболевания, выявлены следующие особенности (таблицы 14, 15).

Таблица 14 – Динамика показателей цитокинов у пациентов внебольничной пневмонией нетяжелого течения

Обследованные больные с ВП нетяжелого течения (n=50)	IL-1 $\beta$ , пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-10, пг/мл	TNF- $\alpha$ , пг/мл	MCP-1, пг/мл
1-е сутки	64,98 $\pm$ 5,40**	8,06 $\pm$ 3,44	21,83 $\pm$ 7,44*	63,20 $\pm$ 0,60*	143,30 $\pm$ 25,18**
10-е сутки	69,89 $\pm$ 1,15**	4,25 $\pm$ 2,05	25,53 $\pm$ 6,05*	52,80 $\pm$ 0,50	60,61 $\pm$ 10,49**
Группа контроля (n=65)	30,72 $\pm$ 5,51	6,32 $\pm$ 1,98	14,90 $\pm$ 9,02	46,02 $\pm$ 4,39	59,75 $\pm$ 21,9

Примечание – статистическая значимость различий с группой контроля: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,001$ .

Таблица 15 – Динамика показателей цитокинов у пациентов  
внебольничной пневмонией тяжелого течения

Обследованные больные с ВП тяжелого течения (n=48)	IL-1 $\beta$ , пг/мл	IL-6, пг/мл	IL-10, пг/мл	TNF- $\alpha$ , пг/мл	MCP-1, пг/мл
1-е сутки	39,67 $\pm$ 3,20*	68,30 $\pm$ 17,5**	7,89 $\pm$ 3,9**	84,50 $\pm$ 2,70*	293,99 $\pm$ 43,45**
10-е сутки	47,00 $\pm$ 8,90*	62,40 $\pm$ 18,7**	3,54 $\pm$ 1,19**	59,45 $\pm$ 1,45*	192,66 $\pm$ 23,74**
Группа контроля (n=65)	30,72 $\pm$ 5,51	6,32 $\pm$ 1,98	14,90 $\pm$ 9,02	46,02 $\pm$ 4,39	59,75 $\pm$ 21,9

Примечание – статистическая значимость различий с группой контроля:

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,001$

При исследовании основных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в динамике выявились основные закономерности иммунологических нарушений, которые приводят к возникновению тяжелых форм заболевания.

Уровень IL-1 $\beta$  оставался повышенным в обеих группах, а у тяжелых больных даже нарастал, значение же MCP-1 снижалось до нормальных значений в первой группе и оставалось повышенным у пациентов с тяжелой пневмонией ( $p < 0,001$ ) (рисунки 11 и 12).

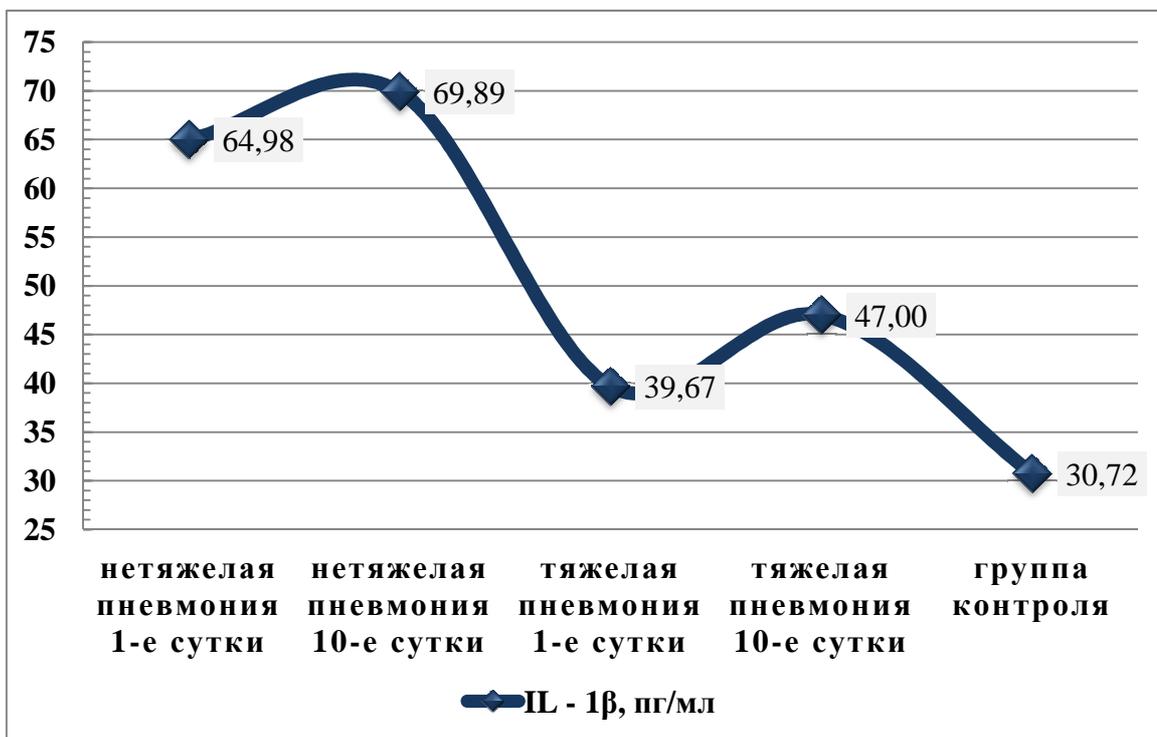


Рисунок 11 – Изменения уровня IL-1 $\beta$  в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

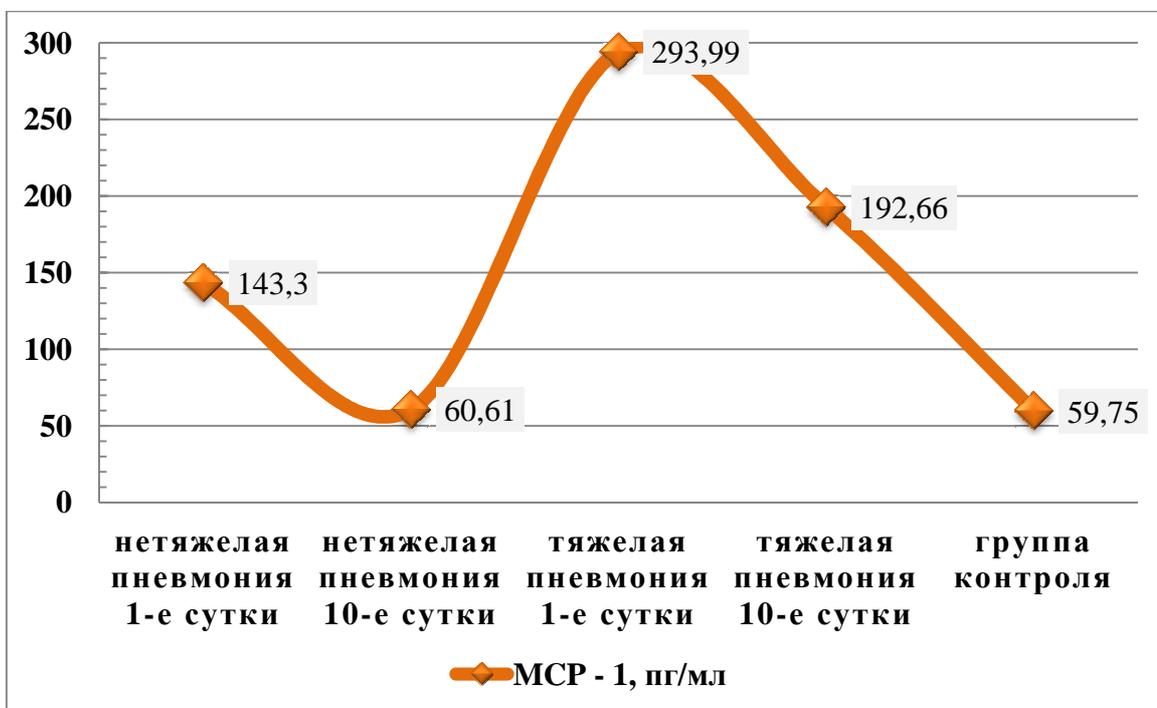


Рисунок 12 – Изменения уровня МСР-1 в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Значение IL-10 несколько увеличивалось в группе с нетяжелой пневмонией, а при тяжелом течении достоверно уменьшалось ( $p < 0,001$ ) (рисунок 13).

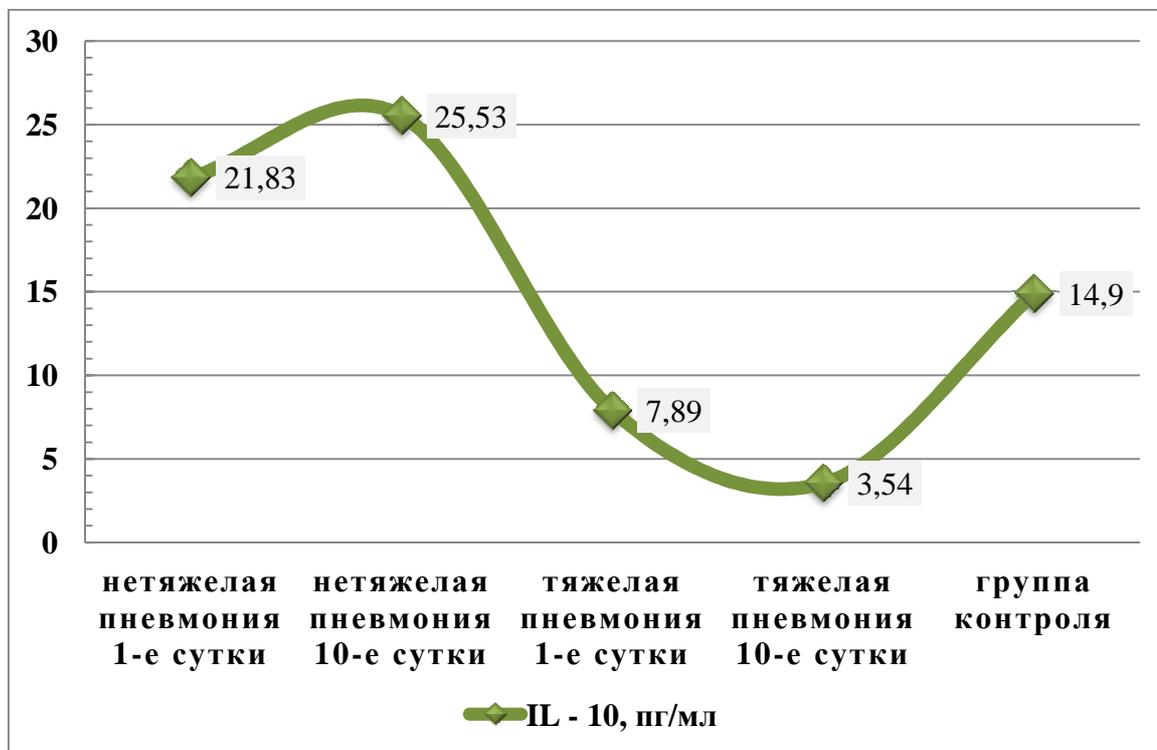


Рисунок 13 – Изменения уровня IL-10 в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

У пациентов с тяжелой степенью ВП уровень IL-6 оставался достоверно высоким (рисунок 14). А уровень лимфокина с выраженной провоспалительной активностью TNF-а, который имел высокие значения в двух группах в первый день заболевания, снижался в динамике при нетяжелом течении ВП до значений близким к группе контроля, и оставался повышенным у больных с тяжелой пневмонией, впрочем, с тенденцией к снижению уровня (рисунок 15).

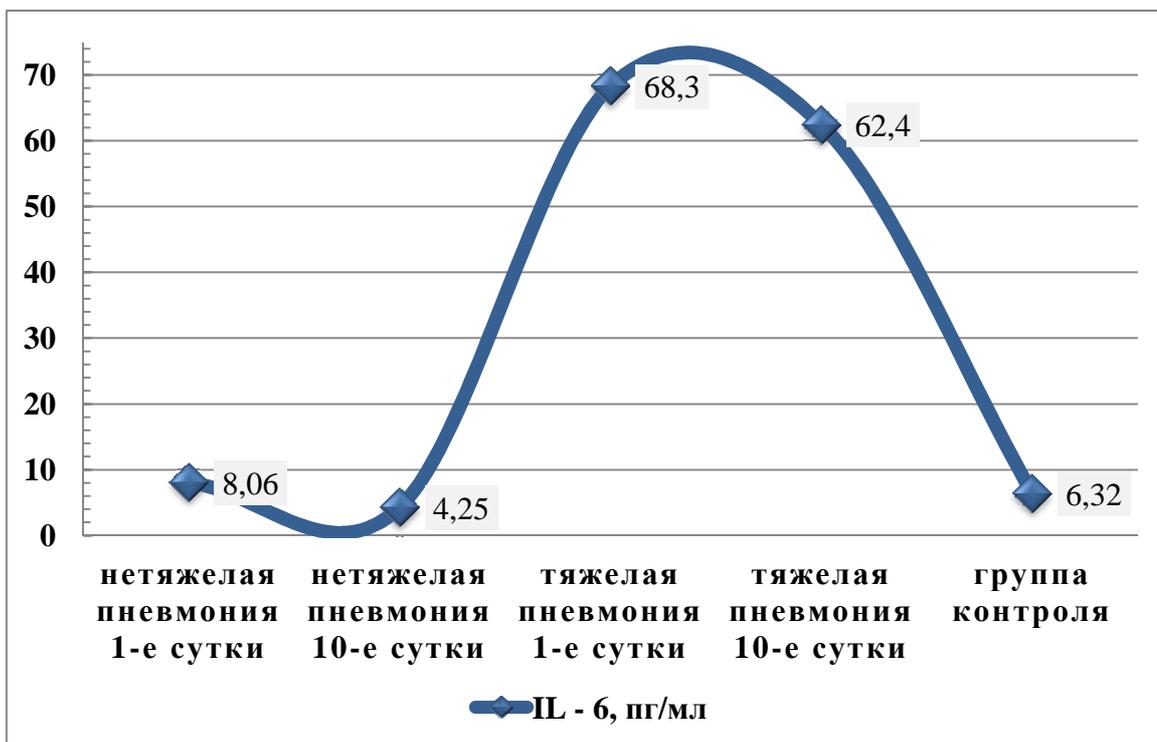


Рисунок 14 – Изменения уровня IL-6 в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

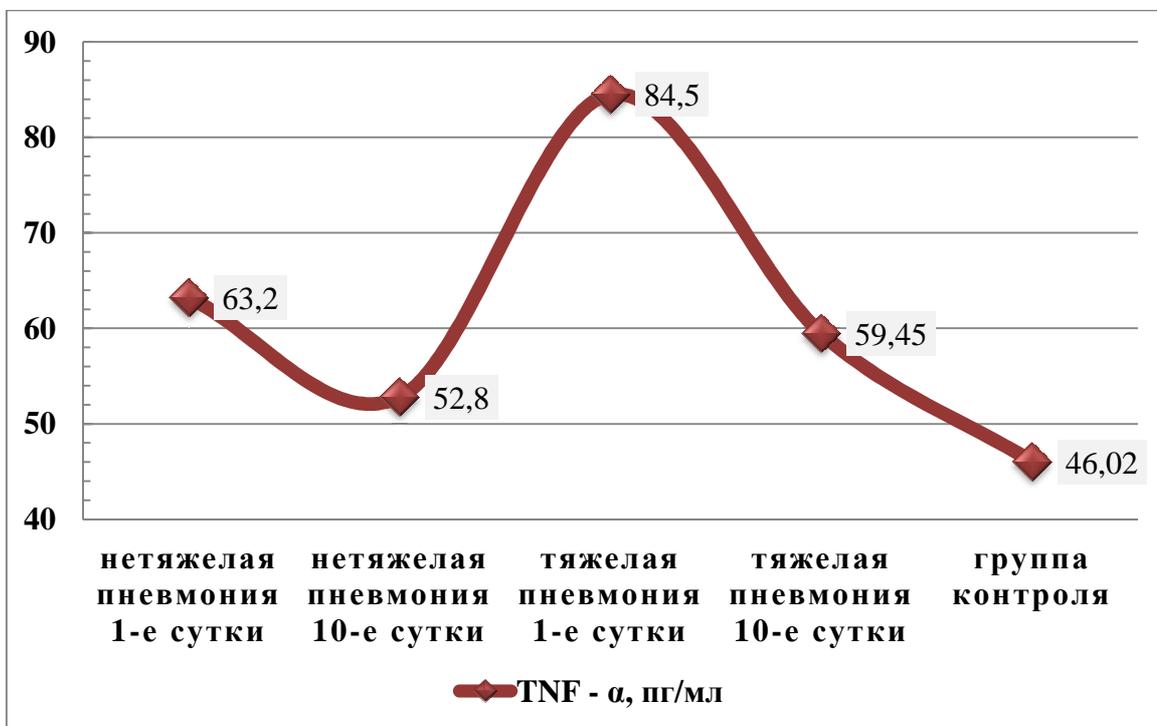


Рисунок 15 – Изменения уровня TNF-α в динамике в зависимости от тяжести внебольничной пневмонии.

Количественные изменения цитокинов также менялись в зависимости от объема легочного воспаления. Так, концентрация IL-1 $\beta$  понижалась при большем объеме воспалительного инфильтрата в легких. Этот показатель был в два раза выше при одностороннем поражении, чем при двустороннем, в тоже время значения IL-10 были достоверно повышены. Зависимость выявлена следующая – чем больше объем поражения легких, тем ниже был уровень цитокина (в три с половиной раза при двустороннем поражении легких). Значения МСР-1 и провоспалительного и регуляторного цитокина IL-6 были в полтора раза выше при одностороннем и в четыре раза - при двустороннем процессе по сравнению с нормальными показателями (рисунок 16).

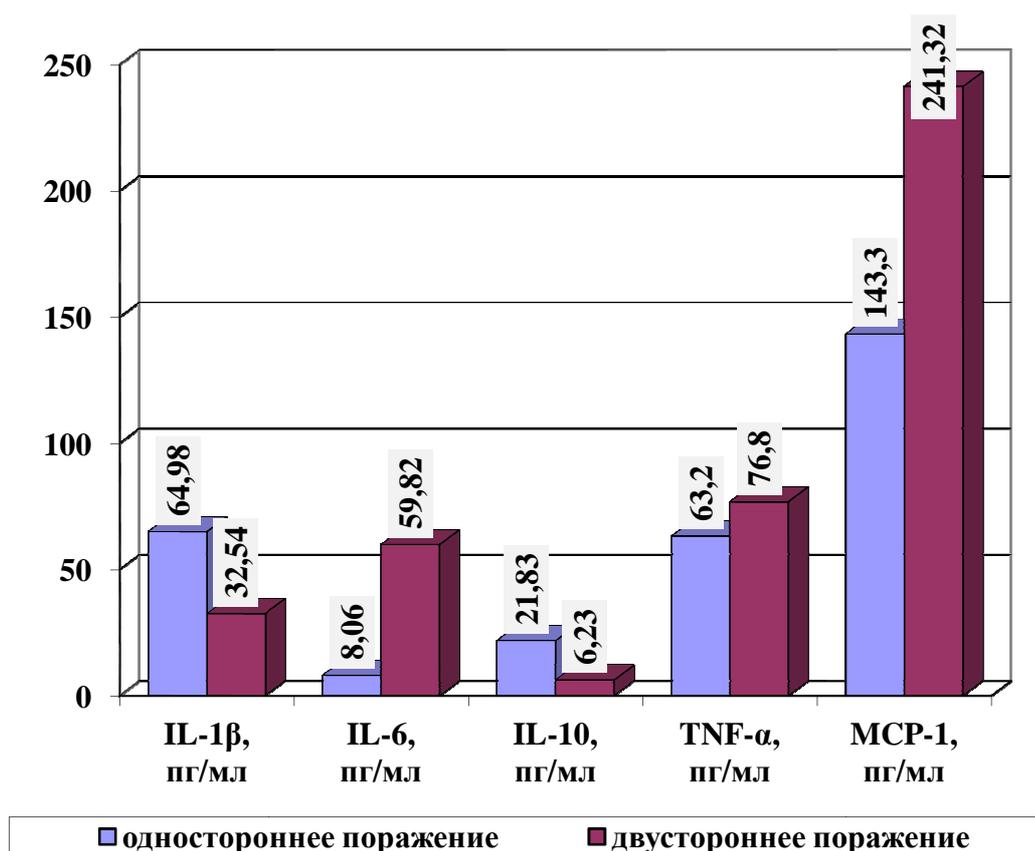


Рисунок 16 - Содержание цитокинов в сыворотке крови пациентов с внебольничной пневмонией в зависимости от объема поражения легочной ткани (пг/мл).

Таким образом, изучение уровней цитокинов в периферической крови пациентов с внебольничной пневмонией различной степени тяжести показало изменение их в сравнении с нормальными значениями в популяции. Этот факт может рассматриваться как явный показатель системной воспалительной реакции. Также проведенное исследование показало выраженную активацию и предсказываемую динамику интерлейкинов в направлении снижения показателей у больных с нетяжелым течением ВП и сохраняющийся выраженный дисбаланс уровня цитокинов у пациентов с тяжелой степенью ВП, что в клиническом плане также проявлялось более значительным поражением легочной ткани.

Подводя итог вышесказанному, следует отметить, что комплексное исследование различных звеньев иммунного ответа у пациентов с ВП различной степени тяжести показало наличие сочетанных нарушений иммунной реактивности, включающее неадекватность клеточных механизмов защиты, адекватный гуморальный иммунный ответ на фоне выраженной цитокиновой активации у больных с тяжелым течением пневмонии, большим объемом поражения легочной ткани (сохраняющееся повышение уровней IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$  даже на десятые сутки заболевания).

Выявленная нами динамика иммунологических показателей при внебольничной пневмонии позволяет констатировать активацию иммунного ответа по Th1 пути у пациентов с выраженной инфекцией, вызванной бактериальными агентами, на фоне нарушения цитокиновой регуляции.

Результаты проведенного исследования также подтверждают главенствующую роль интерлейкинов в патогенезе различных нарушений иммунного ответа.

#### **4.4 Результаты микробиологических исследований**

Этиология внебольничных пневмоний является одним из важнейших вопросов современной микробиологии как при изучении, так и в процессе

рутинной диагностики. Именно учет этиологического спектра возбудителей, определяемых при внебольничных пневмониях у взрослых пациентов в клинически значимом, диагностическом титре, позволяет организовать как рациональную антимикробную химиотерапию, так и профилактические мероприятия.

Для установления этиологии внебольничной пневмонии в нашей работе у всех пациентов проводился анализ мокроты на микрофлору, используя микроскопический и бактериологический методы.

Итоговый результат выделенных штаммов микроорганизмов из мокроты пациентов выглядит следующим образом: *S. pneumoniae* – 30, *St. aureus* – 2, *Candida alb.* – 2, *H. influenzae* – 3, *K. pneumoniae* – 11, *M. catarrhalis* – 13, *P. aeruginosa* – 1, *St. epidermidis* – 2, *St. haemolyticus* – 1, *Sten. maltophilia* – 1, *S. pyogenes* – 3, *St. spp* – 3 штамма.

Этиологически значимый возбудитель был идентифицирован у 58,2 % больных (рисунок 17). В 10,2 % случаев не было роста на питательной среде, в 16,3 % - не было получено материала для исследования. Оставшиеся 15,3 % составили штаммы, которые при росте на питательной среде показали низкие количественные значения и/или являлись следствием контаминации образцов слюной. Таким образом, микробиологическое исследование мокроты было проведено 82 (83,7 %) больных.

Грамположительная микрофлора в большинстве своем была представлена *S. pneumoniae* - у 27 (32,9 %) пациентов *S. epidermidis* и другие представители рода *Staphylococcus* выделялись в 7,3 %, тогда как *S. aureus* – в 2,4 % случаев. Грамотрицательные микроорганизмы в мокроте пациентов в 15,8 % случаев были представлены *M. catarrhalis*, в 13,4 % случаев – *K. pneumoniae* и в 3,7 % - *H. influenzae*. Один случай пришелся на выделение *Sten. maltophilia*.

Следует сказать, что доля пневмококка, как этиологического фактора развития ВП, по данным нашего исследования оказалась сопоставимой с

данными научной литературы, тогда как значение граммотрицательных бактерий – более высоким.

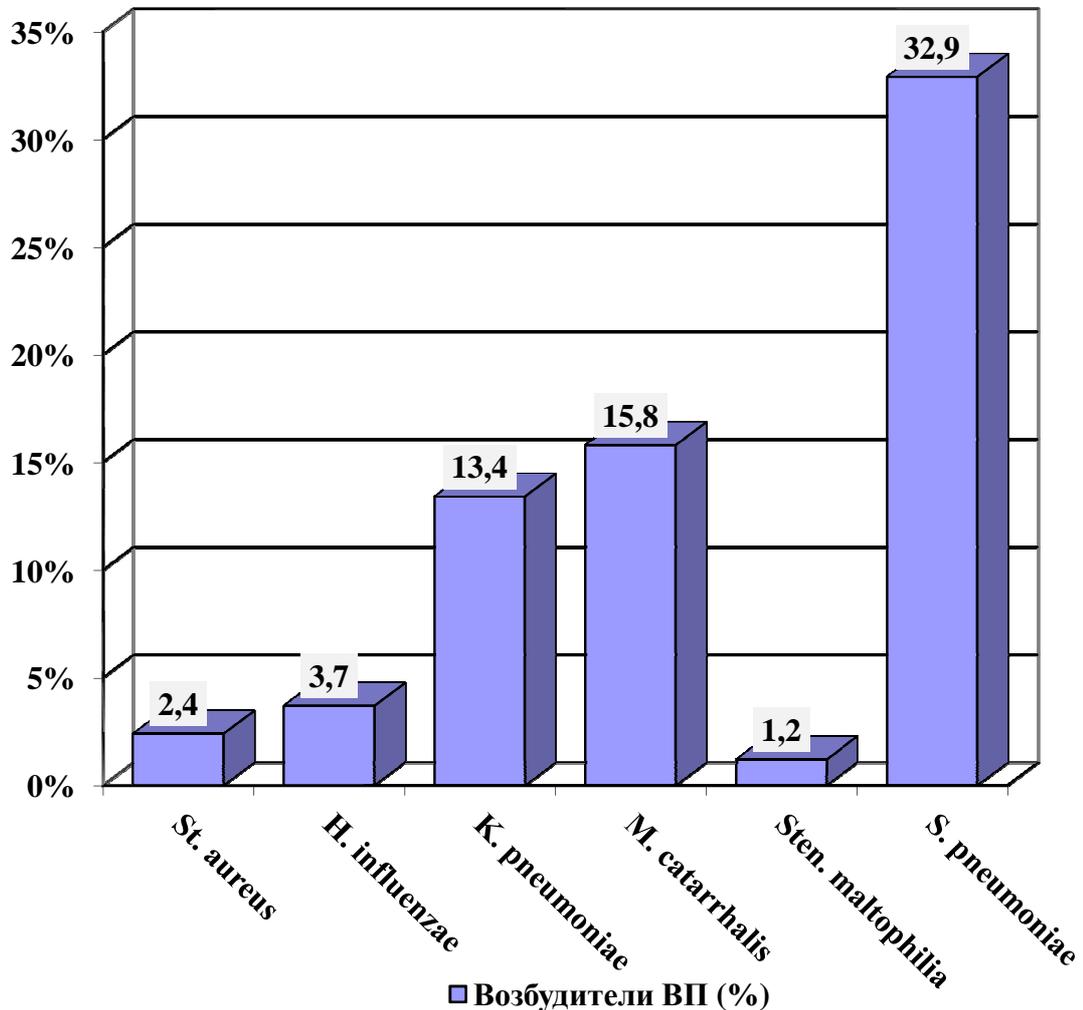


Рисунок 17 - Общая структура этиологически значимых возбудителей ВП (%).

Некоторые выявленные возбудители имели неоднозначную роль. Так, выделение *S. epidermidis*, *Candida albicans*, *Streptococcus spp.* и других представителей нормальной микрофлоры из мокроты, больше говорит нам о «загрязнении» материала бактериями из верхних отделов дыхательных путей. Несмотря на это, получившиеся результаты по структуре возбудителей внебольничной пневмонии согласуются с результатами

исследований других авторов (Козлов Р.С. и др., 2006, Чучалин А.Г. и др., 2014).

Проведенный нами анализ подтверждает выводы о сохранении роли пневмококка, как наиболее часто выделяемого микроорганизма при внебольничной пневмонии. Также, по результатам нашего исследования, отмечается увеличение роли грамотрицательной микрофлоры, в особенности *M. catarrhalis* и *K. pneumoniae*. Данный факт дает предпосылки к дальнейшему изучению и мониторингу возбудителей внебольничной пневмонии у стационарных больных.

В возрастной категории от 18 до 30 лет случаи выделения клинически значимой бактериальной флоры составили 18 %, в категории 31-40 лет – 40 %, 41-50 лет – 50 % и в категории свыше 51 года – 45 % (рисунок 18).

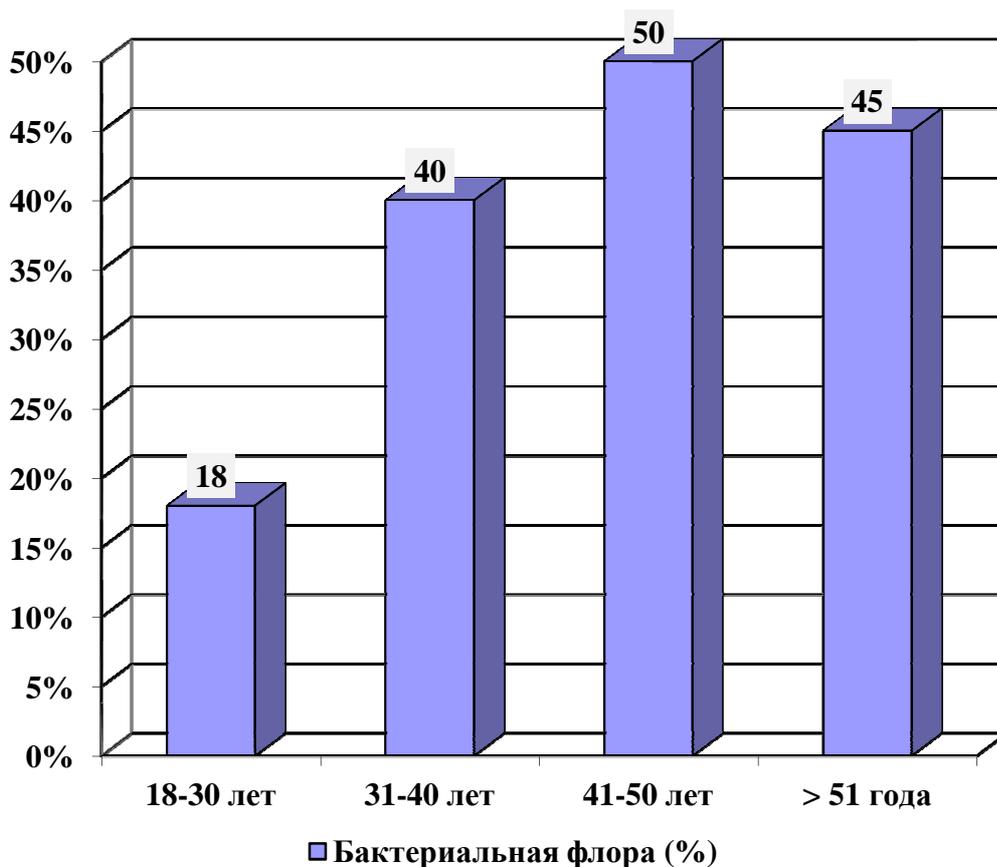


Рисунок 18 - Выделение клинически значимой бактериальной флоры в разных возрастных группах (%).

Распределение штаммов в указанных возрастных группах подробно отражено на рисунке 19.

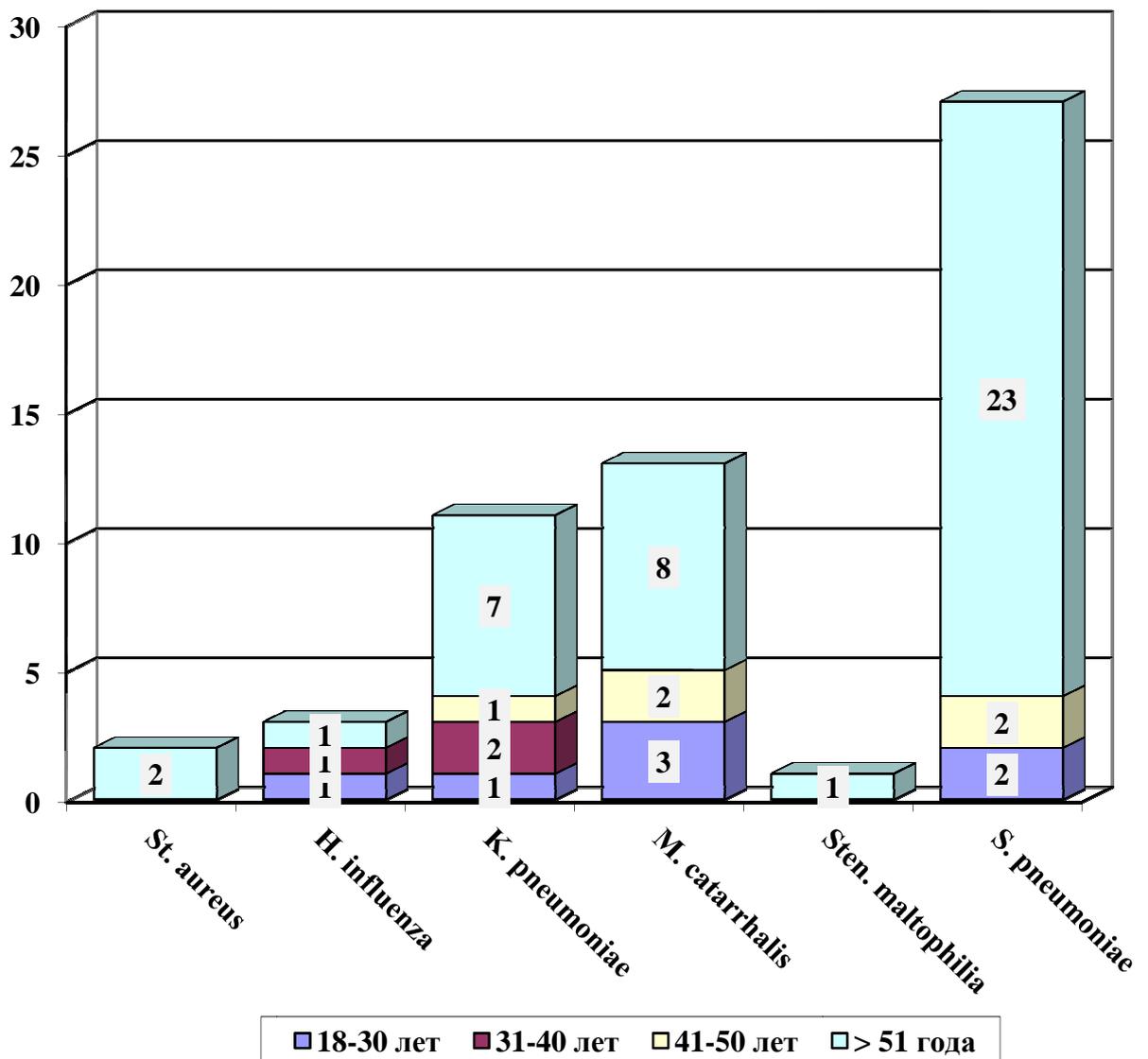


Рисунок 19 - Распределение возбудителей ВП в возрастных группах (абс.).

Одним из этапов микробиологического исследования явился анализ этиологической структуры ВП у пациентов с различной степенью тяжести заболевания. При разделении обследованных пациентов на две группы с нетяжелой и тяжелой пневмонией были выявлены некоторые особенности микробиологического пейзажа мокроты. Так, у больных с нетяжелым течением преимущественно обнаруживались *S. pneumoniae* и *K. pneumoniae* –

в 41,7 % и в 29,2 % случаев соответственно. Остальная грамотрицательная микрофлора встречалась в 20,8 % случаев в виде *M. catarrhalis* и на долю *H. influenzae* пришлось 8,3 %.

Проведенное исследование подтвердило данные других авторов о значимости *S. pneumoniae* у больных с тяжелой степенью внебольничной пневмонии, который обнаруживался в 51,5 % случаев. Также, было установлено важное значение в этиологии тяжелых форм ВП грамотрицательной микрофлоры (*M. catarrhalis*), которая была обнаружена в 8 случаях (24,2 %) (таблица 16).

**Таблица 16 – Распределение клинически значимой микрофлоры в зависимости от тяжести пневмонии**

Патогены	Тяжесть внебольничной пневмонии			
	Нетяжелая (n=24)		Тяжелая (n=33)	
	абс.	%	абс.	%
<i>S. pneumoniae</i>	10	41,7	17	51,5
<i>K. pneumoniae</i>	7	29,2	4	12,1
<i>M. catarrhalis</i>	5	20,8	8	24,2
<i>H. influenzae</i>	2	8,3	1	3,03
<i>St. aureus</i>	0	0	2	6,06
<i>Sten. maltophilia</i>	0	0	1	3,03

Резюмируя вышесказанное можно сказать, что проведенное микробиологическое исследование показало, что при тяжелых формах внебольничной пневмонии значительное место в этиологической структуре наряду с грамположительными микроорганизмами занимают грамотрицательные патогенны.

#### **4.5 Результаты использования мочевого теста BinaxNOW® *S.***

##### ***pneumoniae* при ВП у госпитализированных пациентов**

Тест для выявления антигена *Streptococcus pneumoniae* в моче является быстрым и простым методом диагностики пневмококковой пневмонии. В качестве материала исследования используются обычно собираемые, хранимые и транспортируемые образцы мочи.

Все исследуемые пациенты ВП никогда не были привиты против пневмококка. При обследовании больных ВП (n = 98) с помощью мочевого теста на антиген пневмококка (АгП) BinaxNOW® *S. pneumoniae* было установлено, что у 26 (26,5 %) человек результат этого теста положительный, что указывало на связь заболевания с *S. pneumoniae*. Среди всех обследованных с помощью теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* больных ВП с положительным результатом 76,9 % были в возрасте старше 51 года.

Частота положительных результатов теста при нетяжелом течении ВП составила 20,0 % и увеличивалась в зависимости от степени тяжести заболевания (29,2 % при тяжелом течении) и наличия осложнения в виде плеврита (таблица 17). У больных плевритом этот тест был положительным в 66,6 % случаев, что в три раза чаще, чем при ВП без плеврита (21,7 %).

При применении 2 методов (бактериологическое исследование мокроты и мочевого тест BinaxNOW® *S. pneumoniae*) наличие пневмококка было подтверждено в 80,0 % всех случаев, когда он был обнаружен в мокроте (таблица 18).

Таблица 17 – **Выявление антигена пневмококка (АгП) в моче у больных пневмонией разной степени тяжести**

Характеристика пневмонии	Больные внебольничной пневмонией (n=98)		
	АгП в моче	Число больных	%
Нетяжелая	10	50	20,0
Тяжелая	14	48	29,2
Односторонняя	16	74	21,6
Двусторонняя	8	24	33,3
С плевритом	4	6	66,6
Без плеврита	20	92	21,7

Таблица 18 – **Выявление пневмококка при исследовании мокроты и применении мочевого теста BinaxNOW® *S. pneumoniae***

Результаты исследования	Пациенты с внебольничной пневмонией		
	Выявление пневмококка (абс.)	Число больных ВП	%
Пневмококк в мокроте	30	82	36,5
Пневмококк обнаружен в моче	26	98	26,5
Пневмококк в мокроте и моче	24	30	80,0
Пневмококковая пневмония подтвержденная	24	82	29,3

Пневмококковая этиология ВП, подтвержденная этими двумя лабораторными методами одновременно, в группах больных с исследованием мокроты составила 29,3 %. Эти цифры приближались к результатам исследования с помощью мочевого теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* у всех больных ВП, включенных в данное исследование. Лишь у 2 (2,4 %) пациентов с неустановленным микробиологическими методами возбудителем внебольничной пневмонии экспресс-тест был положительным.

Применение экспресс-теста значительно повысило диагностические возможности и позволило получить достоверные сравнительные данные. Чувствительность мочевого теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* в отношении пневмококка у больных ВП, обследованных с выделением культуры возбудителей заболевания из мокроты, составила 80,0 %, а специфичность – 96,2 % (таблица 19). Это сопоставимо с данными других исследователей (Watt J.P., Moisi J.C., Donaldson R.L.A. et al., 2010, Sinclair A., Xie X., Teltscher M., Dendukuri N., 2013).

**Таблица 19 – Чувствительность и специфичность мочевого теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* в отношении пневмококковой этиологии пневмонии**

Наличие пневмококка	Пневмококк (+) (мокрота)	Пневмококк (-) (мокрота)
Пневмококк (+), BinaxNOW® <i>S. pneumoniae</i>	24	2
Пневмококк (-), BinaxNOW® <i>S. pneumoniae</i>	6	50
	Чувствительность (24 : 30) x 100 = 80,0	Специфичность (50 : 52) x 100 = 96,2

При микробиологическом исследовании фарингеального секрета на носительство пневмококка возбудитель был выделен у больных внебольничной пневмонией в 20 (25,3 %) случаях, при этом у 30,0 % из них тест BinaxNOW® *S. pneumoniae* был положительным. Из мокроты пневмококк был выделен в 30 (36,5 %) случаях и тест BinaxNOW® *S. pneumoniae* был положительным у 80,0 % из них. Из фарингеального секрета и мокроты одного и того же больного пневмококк был выделен в 12 (15,6 %) случаях, тест BinaxNOW® *S. pneumoniae* был положительным у 50,0 % из них.

При выделении пневмококка из мокроты у 80,0 % больных можно быть уверенным, что он является значимым возбудителем заболевания.

При наличии пневмококка в фарингеальном секрете у части больных ВП выделялись одновременно и другие возбудители: *S. pyogenes* (n = 5), *M. cattaralis* (n = 4), *S. epidermidis* (n = 1), *S. aureus* (n = 1), *C. albicans* (n = 1), *K. pneumoniae* (n = 1). При выделении пневмококка из мокроты были обнаружены также *S. pyogenes* (n = 1), *M. catarrhalis* (n = 1), *S. aureus* (n = 1), *K. pneumoniae* (n = 1). С прочими патогенами пневмококк не сочетался.

Полученные данные подтверждают высокую значимость пневмококка в этиологии внебольничной пневмонии у взрослых больных, не привитых против пневмококка. Профилактические мероприятия и широкое применение вакцины против пневмококковой инфекции у лиц старше 40 лет, а также имеющих сопутствующие хронические заболевания, могли бы существенно изменить заболеваемость взрослого населения пневмококковой ВП.

## ГЛАВА 5. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТЕПЕНИ

### ТЯЖЕСТИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ

Создание математических моделей с целью оценки степени тяжести внебольничной пневмонии осуществлялось на результатах 105 показателей, отражающих клиническую картину, а также лабораторно-инструментальных данных у 98 обследованных пациентов. В когорте обследованных мужчины составили 54 (55,1 %), женщины 44 (44,9 %) в возрасте от 18 до 83 лет.

Все обследованные пациенты были разделены на две группы в соответствии с тяжестью ВП, а именно: нетяжелое течение – 50 человек (51 %) и тяжелое течение – 48 человек (49 %). При распределении обследованных пациентов по степени тяжести мы руководствовались практическими рекомендациями РРО по диагностике, лечению и профилактике внебольничных пневмоний у взрослых (2014).

Предпосылки к разработке математической модели рассматривались с целью ранней диагностики степени тяжести ВП (в течение первых суток после поступления в стационар).

При построении моделей мы опирались на множество симптомов и синдромов с последующим отбором наиболее важных данных. Для осуществления данной задачи использовался дискриминантный анализ.

Для каждого признака определялся критерий Фишера. На основании полученного цифрового значения оценивался количественный вклад каждого признака. Симптомы, для которых уровень значимости по F-критерию соответствовал  $p < 0,05$ , были включены в математическую модель. Также учитывались и разнонаправленные параметры гемограммы - как повышенные, так и пониженные для наиболее полного охвата лабораторных данных. Основу математической модели тяжести ВП

составили признаки, константа и коэффициенты уравнений, определяемые методом наименьших квадратов. Знак коэффициента соответствовал знаку корреляции между кодом заболевания и соответствующим информационным показателем.

### **5.1. Модель тяжести течения внебольничной пневмонии**

Известно, что при пневмонии главным проявлением воспалительного процесса, развивающегося в ткани легких, является инфильтрация соответствующих сегментов, долей, выявляемая при рентгенологическом исследовании. При построении математической модели именно наличие инфильтрации было наиболее информативным признаком из числа использованных показателей. Критерий Фишера составил 335 и в итоге оказался самым большим показателем, по сравнению с другими (рисунок 20).

Вторым по значимости признаком (критерий Фишера 132) явилась дыхательная недостаточность. Ее степень выраженности напрямую зависит от объема поражения легких, пораженных воспалительным процессом.

Далее по степени информативности оказался лабораторный показатель - протромбиновый индекс, а именно его снижение ниже 80 %. Это явление наблюдалось у большого числа пациентов при тяжелой степени ВП. Критерий Фишера для этого признака был равен 19.

Несмотря на малую специфичность такого синдрома, как снижение систолического артериального давления ниже 90 мм рт. ст. он был включен в математическую модель (критерий Фишера 17). Это сделано вследствие того, что на этапе клинического исследования и динамического наблюдения за пациентами было выявлено 25 % случаев гипотония при поступлении у больных с последующим тяжелым течением.

Начало заболевания оказалось самым информативным признаком из всех данных анамнеза заболевания. Оно было острым в 68 % случаев при

нетяжелом течении и в 83 % случаев при тяжелой степени ВП. Для этого признака был также рассчитан критерий Фишера (19).

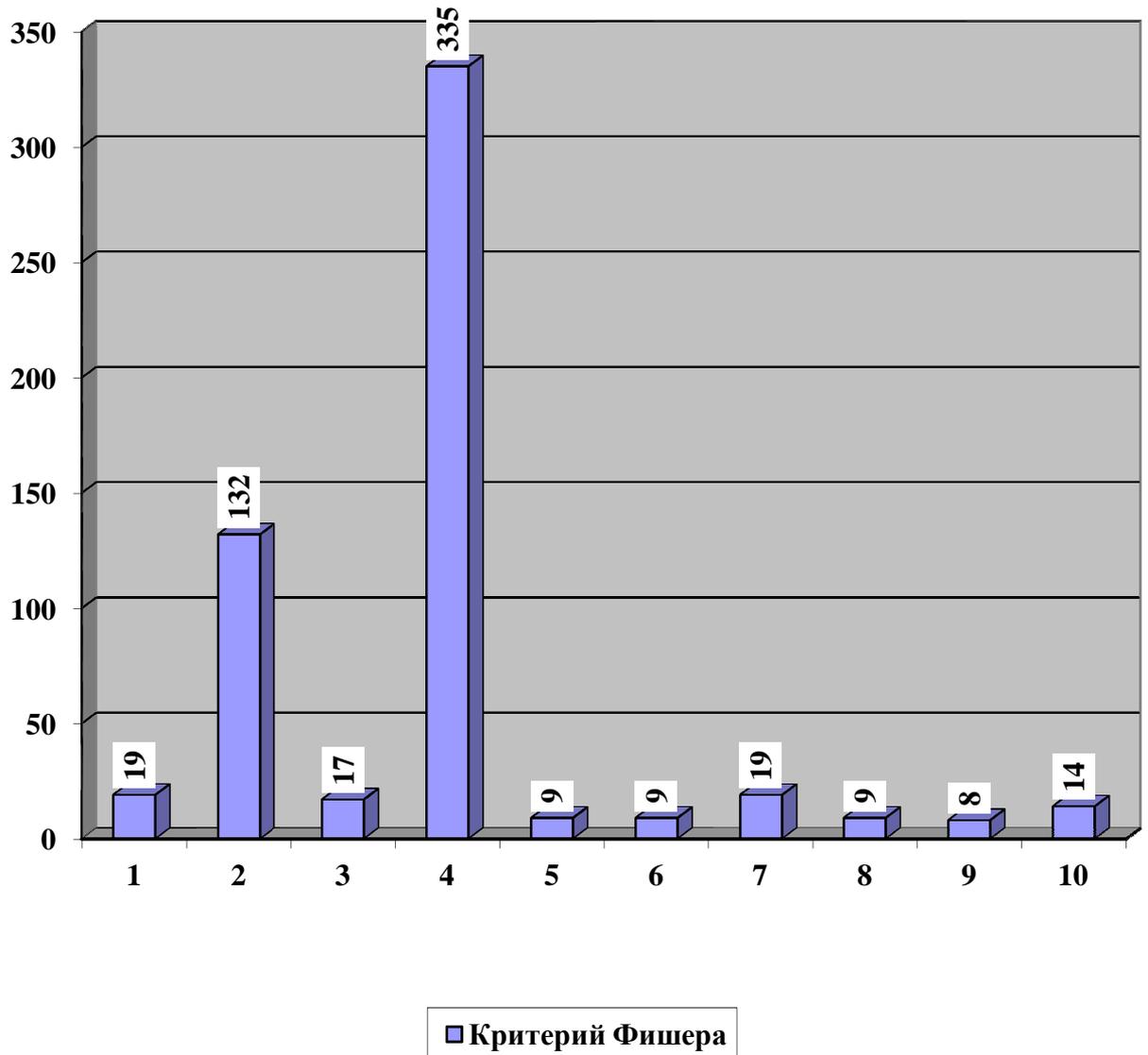


Рисунок 20 - Значимость информативных признаков в прогнозировании тяжести внебольничной пневмонии.

Такие показатели биохимического анализа периферической крови, как уровень альбумина, общего белка и содержание в плазме крови С-реактивного белка имели тенденцию к изменениям при различной степени

тяжести заболевания. Критерии Фишера для альбумина и общего белка в сыворотке крови составили 9, а содержания СРБ - 14.

Традиционные гематологические показатели показали сравнительно невысокую информативную значимость по сравнению с другими признаками. Поэтому в математическую модель были введены лишь наиболее значимые из них - уровень лейкоцитов (критерий Фишера 9) и лимфоцитов (критерий Фишера 8) в периферической крови.

Данную модель можно использовать с целью ранней оценки степени тяжести заболевания – уже в первые сутки госпитализации пациента.

В итоговом варианте модель выглядит следующим образом:

$$S_1 = -46,2 + 6,7 \times M_1 + 3,4 \times M_2 + 19,3 \times M_3 + 1,6 \times M_4 + 1,5 \times M_5 + 3,8 \times M_6 + 7,4 \times M_7 + 2,1 \times M_8 + 1,8 \times M_9 + 1,8 \times M_{10}$$

$$S_2 = -46,6 + 5,8 \times M_1 + 2,1 \times M_2 + 18,1 \times M_3 + 3,7 \times M_4 + 1,7 \times M_5 + 4,0 \times M_6 + 6,4 \times M_7 + 2,3 \times M_8 + 2,0 \times M_9 + 2,2 \times M_{10}$$

где S – закодированная тяжесть пневмонии (1-нетяжелая, 2-тяжелая пневмония);

M - информативный признак:

1. начало заболевания (1 - острое, 2 - постепенное);
2. выраженность дыхательной недостаточности (1 - 1 степени, 2 – 2 степени, 3 – 3 степени, 4 - нет);
3. снижение систолического артериального давления ниже 90 мм рт. ст. (1 – есть снижение АД, 2 - нет снижения АД);
4. наличие инфильтративных теней в легких при рентгенографическом исследовании (1 – с поражением одного сегмента, 2 - двух сегментов, 3 - трех и более сегментов, 4 - двустороннее поражение легких);
5. уровень общего белка при биохимическом исследовании крови (1 - 68 г/л и более, 2 - от 65 до 68 г/л, 3 - менее 65 г/л);

6. уровень альбумина при биохимическом исследовании крови (1 - 42 г/л и более, 2 - от 40 до 42 г/л, 3 - менее 40 г/л);

7. показатель протромбинового индекса (1 – 80 % и более, 2 - от 70 % до 80 %, 3 - ниже 70 %);

8. уровень лейкоцитов периферической крови (1 - до  $10 \times 10^9$ /л, 2 - от 10 до  $14 \times 10^9$ /л, 3 - более  $14 \times 10^9$ /л);

9. уровень лимфоцитов периферической крови (1 - от 19 % и выше, 2 - от 12 до 19 %, 3 - 12 % и ниже);

10. уровень СРБ в плазме крови (1 - до 40 г/л, 2 - от 40 до 80 г/л, 80 г/л и выше).

После обследования больного в приемном отделении или при поступлении в специализированное пульмонологическое отделение, в разработанные формулы подставляются значения перечисленных признаков. Затем производится расчет формул, в результате которого пациента необходимо отнести в группу, значение суммы для которых является большим.

Математическая модель является статистически значимой ( $p < 0,00001$ ) и обладает вполне высокой прогностической способностью (88,3 %), даже при том условии, что создана модель на основе десяти признаков, выявляемых в первые сутки пребывания пациента в стационаре. Разработанные формулы обеспечивали совпадение прогнозируемого исхода с реальным результатом в 79,2 % случаев в группе больных с тяжелым течением. В группе больных с нетяжелым течением совпадение прогнозируемого исхода с полученными результатами составило 94 %. Вышесказанное основывается на построенной нами классификационной матрице.

Таким образом, дискриминантная модель оценки степени тяжести воспалительного процесса в легочной ткани по результатам исследования в первые сутки поступления в стационар, имеет высокую прогностическую

способность (88,3 %) и является статистически значимой ( $p < 0,00001$ ). Чувствительность модели составляет 79,2 %, специфичность – 94,0 %, доля ложноотрицательных ответов составила 20,8 %, а ложноположительных – 6,0 %. Качество модели позволяет нам рекомендовать её для ранней комплексной оценки тяжести внебольничной пневмонии.

## **5.2. Проверка разработанной модели. Клинические примеры**

Нами была произведена проверка разработанных моделей. Реализовать эту задачу было решено на базе отделения пульмонологии и аллергологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России на проверочной выборке из 52 больных в возрасте старше 18 лет, проходивших лечение с диагнозом «внебольничная пневмония». В неё вошли 22 человека с нетяжелым течением болезни и 20 человек – тяжелым. Методика исследования заключалась во включении в разработанные формулы признаков, полученных в процессе обследования пациента. Это позволяло в течение первых суток заболевания спрогнозировать степень тяжести внебольничной пневмонии.

В результате анализа полученных данных выявилось 91 % совпадений заключительного клинического диагноза в группе пациентов с нетяжелым течением ВП (20 по расчетам из 22 пролеченных). В группе с тяжелой степенью ВП число совпадений заключительного клинического диагноза составило 80 % (16 по расчетам из 20 пролеченных).

Таким образом, результаты проверки математической модели тяжести течения ВП на практике в первые сутки пребывания пациента в стационаре показали целесообразность ее клинического применения.

В качестве иллюстрации результатов исследования приводим наши наблюдения, в которых нашли отражение вопросы клинического, инструментального, лабораторного, микробиологического методов исследований, а также элементы прогнозирования степени тяжести внебольничной пневмонии на основе математического моделирования.

Больной И., 59 лет, история болезни №16432/546 поступил в отделение пульмонологии и аллергологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России 25 октября 2012 г. При поступлении предъявлял жалобы на кашель с мокротой слизистого характера, общую слабость, заложенность носа, ринорею. Из анамнеза: болен вторые сутки, заболел после переохлаждения, начало заболевания острое. Аллергологический анамнез не отягощен. Курит на протяжении 35 лет по 20 сигарет в сутки (ИКЧ 240). При поступлении в отделение: температура тела 39,4°C; при аускультации выслушиваются крепитирующие хрипы в нижних отделах с двух сторон; при перкуссии определяется притупление легочного звука также в нижних отделах с обеих сторон. Частота дыхательных движений 21 в минуту; артериальное давление 120 и 80 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 90 ударов в минуту, SpO<sub>2</sub> – 95%. Проведено рентгенологическое исследование органов грудной клетки – выявлен очаг инфильтрации в S9 справа и в S8, S9 слева. Предварительный диагноз: Внебольничная двусторонняя нижнедолевая пневмония.

В течение первых полутора часов нахождения пациента в отделении выполнено исследование мочи на содержание антигена пневмококка (BinaxNOW ® *S. Pneumoniae*). Полученный в течение 15 минут результат оказался положительным. До назначения антимикробной химиотерапии пациент сдал мокроту для микробиологического исследования. Введение первой дозы системного антибиотика (полусинтетического пенициллина с ингибитором β-лактамаз) было произведено в первые четыре часа после поступления в стационар, что полностью соответствует Национальным клиническим рекомендациям (РРО, 2010).

В течение первых суток у больного была взята кровь из периферической вены для исследования общих и биохимических показателей, а также для изучения факторов гуморального и клеточного иммунитета. В общем анализе крови выявлено: лейкоциты –  $13,6 \times 10^9$ /л, эозинофилы – 2 %, базофилы – 3 %, палочко-ядерные нейтрофилы – 8 %,

сегменто-ядерные – 55 %, лимфоциты – 13 %, моноциты – 20 %, гемоглобин - 129 г/л, эритроциты -  $4,29 \times 10^{12}$ /л, гематокрит - 38,8. В биохимическом анализе крови следующие показатели: общий белок - 67 г/л, альбумины - 36 г/л, билирубин - 25,6 мкмоль/л, креатинин - 80 мкмоль/л, фибриноген - 6,0 г/л, ПТИ – 74 %, С-реактивный белок - 155 мг/л.

Для определения дальнейшего течения заболевания мы воспользовались математической моделью прогнозирования течения заболевания. В формулы подставляем значения признаков:

$$S_1 = -46,2 + 6,7 \times 1 + 3,4 \times 2 + 19,3 \times 2 + 1,6 \times 5 + 1,5 \times 2 + 3,8 \times 3 + 7,4 \times 2 + 2,1 \times 2 + 1,8 \times 2 + 1,8 \times 3 = 56,3$$

$$S_2 = -46,6 + 5,8 \times 1 + 2,1 \times 2 + 18,1 \times 2 + 3,7 \times 5 + 1,7 \times 2 + 4,0 \times 3 + 6,4 \times 2 + 2,3 \times 2 + 2,0 \times 2 + 2,2 \times 3 = 61,5$$

Получаем результат по первой формуле 56,3 и по второй формуле 61,5 – соответственно, можно прогнозировать тяжелое течение внебольничной пневмонии.

При исследовании гуморальных и клеточных звеньев иммунитета были получены следующие показатели: IgA – 3,42 г/л, IgM – 1,02 г/л, IgG – 10,69 г/л, CD2+ - 84,32 % ( $1,54 \times 10^9$ /л), CD3+ - 63,54 % ( $1,21 \times 10^9$ /л), CD4+ - 37,82 % ( $0,75 \times 10^9$ /л), CD8+ - 28,02 % ( $0,50 \times 10^9$ /л), CD16+/CD56+ - 8,70 % ( $0,23 \times 10^9$ /л), CD19+ - 11,86 % ( $0,18 \times 10^9$ /л), CD4+/CD8+ - 1,47. Цитокиновый профиль выглядит следующим образом: IL-1 $\beta$  – 45,34 пг/мл, IL-6 – 72,25 пг/мл, IL-10 – 7,02 пг/мл, TNF- $\alpha$  – 4,31 пг/мл, MCP-1 – 267,54 пг/мл.

На вторые сутки после госпитализации при микробиологическом исследовании выявлен *S. pneumoniae* в количестве  $10^6$  КОЕ/мл.

Заключительный клинический диагноз: Внебольничная пневмококковая двусторонняя нижнедолевая (в S9 справа и в S8, S9 слева) пневмония, тяжелое течение. Осложнения: ДН I.

После проведенного лечения пациенту на 14-е сутки выполнена контрольная рентгенография органов грудной клетки. На рентгенограмме очаговых и инфильтративных теней не выявлено. Пациент выписан с выздоровлением в удовлетворительном состоянии, даны рекомендации по вакцинации от пневмококка через один месяц после выписки.

Больной К., 35 лет, история болезни №14275/423 поступил в отделение пульмонологии и аллергологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России 4 сентября 2012 г. Жалобы при поступлении на кашель с желтой мокротой, повышение температуры тела до 38°C, общую слабость. Из анамнеза: заболел около одной недели назад. Вначале беспокоили катаральные явления, затем повысилась температура тела и появился кашель, начало заболевания постепенное. Аллергологический анамнез не отягощен, не курит. При осмотре в приемном отделении: температура тела 37,8°C; при аускультации выслушиваются влажные мелкопузырчатые хрипы в нижних отделах справа; при перкуссии определяется притупление легочного звука также в нижних отделах справа. Частота дыхательных движений 19 в минуту; артериальное давление 120 и 80 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 78 ударов в минуту, SpO<sub>2</sub> – 98%. Проведено рентгенологическое исследование органов грудной клетки – выявлен очаг инфильтрации в S9 и S10 справ. Предварительный диагноз: Внебольничная правосторонняя нижнедолевая пневмония.

После поступления в отделение пульмонологии и аллергологии выполнено исследование мочи на содержание антигена пневмококка (BinaxNOW ® *S. Pneumoniae*). Полученный в течение 15 минут результат оказался положительным. До назначения антимикробной химиотерапии пациент сдал мокроту для микробиологического исследования. Введение первой дозы системного антибиотика (цефалоспорина III поколения) было произведено в течение первых четырех часов с момента поступления в стационар.

В течение первых суток у больного была взята кровь из периферической вены для исследования общих и биохимических показателей, а также для изучения факторов гуморального и клеточного иммунитета. В общем анализе крови выявлено: лейкоциты –  $9,4 \times 10^9/\text{л}$ , эозинофилы – 1 %, базофилы – 2 %, палочко-ядерные нейтрофилы – 4 %, сегменто-ядерные – 59 %, лимфоциты – 21 %, моноциты – 13 %, гемоглобин - 137 г/л, эритроциты -  $4,51 \times 10^{12}/\text{л}$ , гематокрит - 39,7. В биохимическом анализе крови следующие показатели: общий белок - 74 г/л, альбумины - 45 г/л, билирубин – 9,6 мкмоль/л, креатинин – 76,8 мкмоль/л, фибриноген – 4,2 г/л, ПТИ – 89 %, С-реактивный белок - 47 мг/л.

Для определения дальнейшего течения заболевания мы воспользовались математической моделью прогнозирования течения заболевания. В формулы подставляем значения признаков:

$$S_1 = -46,2 + 6,7 \times 2 + 3,4 \times 1 + 19,3 \times 2 + 1,6 \times 2 + 1,5 \times 1 + 3,8 \times 1 + 7,4 \times 1 + 2,1 \times 1 + 1,8 \times 1 + 1,8 \times 2 = 32,6$$

$$S_2 = -46,6 + 5,8 \times 2 + 2,1 \times 1 + 18,1 \times 2 + 3,7 \times 2 + 1,7 \times 1 + 4,0 \times 1 + 6,4 \times 1 + 2,3 \times 1 + 2,0 \times 1 + 2,2 \times 2 = 31,5$$

Получаем результат по первой формуле 32,6 и по второй формуле 31,5 – соответственно, можно прогнозировать нетяжелое течение внебольничной пневмонии.

При исследовании гуморальных и клеточных звеньев иммунитета были получены следующие показатели: IgA – 3,05 г/л, IgM – 0,98 г/л, IgG – 11,54 г/л, CD2+ - 85,02 % ( $1,57 \times 10^9/\text{л}$ ), CD3+ - 73,90 % ( $1,28 \times 10^9/\text{л}$ ), CD4+ - 43,98 % ( $0,78 \times 10^9/\text{л}$ ), CD8+ - 29,64 % ( $0,51 \times 10^9/\text{л}$ ), CD16+/CD56+ - 9,54 % ( $0,25 \times 10^9/\text{л}$ ), CD19+ - 13,57 % ( $0,27 \times 10^9/\text{л}$ ), CD4+/CD8+ - 1,68. Цитокиновый профиль выглядит следующим образом: IL-1 $\beta$  – 63,47 пг/мл, IL-6 – 9,43 пг/мл, IL-10 – 22,36 пг/мл, TNF- $\alpha$  – 63,41 пг/мл, MCP-1 – 136,76 пг/мл.

На вторые сутки после госпитализации при микробиологическом исследовании выявлен *S. pneumoniae* в количестве  $10^6$  КОЕ/мл.

Заключительный клинический диагноз: Внебольничная пневмококковая правосторонняя нижнедолевая пневмония, нетяжелое течение.

После проведенного лечения пациенту на 14-е сутки выполнена контрольная рентгенография органов грудной клетки. На рентгенограмме очаговых и инфильтративных теней не выявлено. Пациент выписан с выздоровлением в удовлетворительном состоянии, даны рекомендации по вакцинации от пневмококка через один месяц после выписки.

## ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важность исследования внебольничной пневмонии остается актуальной в течение несколько десятков лет, что обуславливается наличием многих причинных факторов. При этом значимыми являются следующие: сохранение высоких показателей заболеваемости без тенденции к снижению, длительные сроки временной утраты трудоспособности, увеличение случаев тяжелого течения заболевания с возможным развитием различных осложнений, высокими показателями смертности, особенно в старших возрастных категориях.

Одной из главной составляющей заболеваемости, а также тяжелого и осложненного течения пневмонии является нарушенная иммунная реактогенность различного генеза в популяции (Козлов Р.С. и др., 2010).

Последние вспышки заболеваний, в том числе пандемичных, (пневмония, вызванная «атипичными» возбудителями, свиной грипп и др.) приводящие к тяжелым осложнениям ставят перед наукой и здравоохранением сложные задачи изучения патогенетических процессов, создания новых методов диагностики, лечения и профилактики пневмоний, вызванных не только бактериальными агентами, но и вирусными частицами.

За предшествующие годы были достигнуты успехи в решении таких основных позиций, как вопросы этиологии, патогенеза, диагностики, клинической картины и лечения пневмонии. Но, не смотря на проводимые исследования, посвященные проблеме пневмонии и в частности ее внебольничного варианта, многие вопросы патогенеза заболевания остаются неясными, особенно аспекты иммунопатогенеза. Все еще мало изучена иммунная реактивность у больных с тяжелым течением заболевания.

Цель исследования заключалась в улучшении результатов диагностики и оптимизации ведения пациентов с внебольничной пневмонией на основе комплексного анализа клинических, иммунологических и микробиологических особенностей, а также профилактики заболевания.

Перед началом исследования нами был проведен ретроспективный анализ 200 историй болезни пациентов с установленным диагнозом внебольничной пневмонии для оценки качества оказания медицинской помощи. Оценка проводилась на основании соответствия индикаторам качества, рекомендуемым РРО (2010).

При изучении историй болезни были выявлены следующие несоответствия: очень низкий достигнутый уровень бактериологического исследования крови (8 %) и использования ступенчатой антибактериальной терапии (5 %); стартовый режим антибактериальной терапии соответствовал национальным рекомендациям всего на 60 %; бактериологическое исследование мокроты проводилось в 40 % случаев; лишь в половине наблюдений были даны рекомендации по вакцинации пациентов из групп риска.

В результате оценки историй болезни в данной выборке обнаружено расхождение с целевым уровнем оказания медицинской помощи при ВП госпитализированным больным на 44,7 %.

В соответствии с поставленными задачами было обследовано 98 пациентов с установленным диагнозом внебольничной пневмонии. Из них - 54 (55,1 %) мужчин и 44 (44,9 %) - женщины в возрасте от 18 до 83 лет. Средний возраст мужчин составил 47,4 лет, женщин – 58,3 года. Наибольшее число случаев заболевания ВП, как у мужчин, так и у женщин, отмечено в возрасте от 18 до 30 лет и у пациентов в возрасте старше 51 года.

У обследованных больных обнаружена различная сопутствующая патология: ХОБЛ - у 18, бронхиальная астма – у 4, фиброз легких – у 1, бронхоэктазы – у 2, сахарный диабет II типа – у 2, цереброваскулярные заболевания – у 5, болезни желудочно-кишечного тракта – у 9, хронические

болезни сердца – у 47 человек. В процессе опроса выявлено, что 55 пациентов относят себя к некурящим и 43 – курят (среднее значение ИКЧ – 193,5).

Обследованные пациенты условно были разделены на две группы в соответствии с тяжестью течения ВП, а именно: в группу с нетяжелым течением заболевания вошли 50 человек (51 %), а с тяжелым – 48 (49 %). При распределении обследованных пациентов по степени тяжести мы руководствовались практическими рекомендациями РРО по диагностике, лечению и профилактике внебольничных пневмоний у взрослых (2010).

Симптомы заболевания складывались из явлений интоксикации (общая слабость, головная боль, одышка), общей воспалительной реакции (озноб, потливость, повышение температуры тела) и синдромов воспалительных изменений в легких (кашель с мокротой или без нее, плевральные боли, укорочение перкуторного звука, усиление голосового дрожания, усиление бронхофонии, ослабление дыхания, мелко- и крупнопузырчатые, крепитирующие хрипы).

Анализ характера и частоты клинических признаков показал, что жалобы в обеих группах носят схожий характер, однако достоверно отличаются по степени выраженности.

Результаты анализа клинической картины внебольничной пневмонии у госпитализированных взрослых пациентов в целом отражают общие закономерности течения заболевания.

Используя методы статистической обработки данных, были определены средние величины лабораторных и инструментальных исследований и значения их погрешностей. Лабораторные и инструментальные данные, состоящие из абсолютных чисел, были преобразованы нами в производные величины: средние арифметические ( $M$ ), средние квадратические отклонения ( $\delta$ ) и средние ошибки средней арифметической ( $m$ ). Достоверность различия между признаками и оценку разброса данных оценивалась по  $t$ -критерию Стьюдента. Различия считали

достоверными при величине  $t = 2,0$  и более, что соответствует их вероятности не ниже 95 %.

Анализ локализации патологического процесса при рентгенологическом обследовании показал, что в группе нетяжелой пневмонии отсутствует двустороннее поражение легочной ткани, т.к. наличие его классифицирует пневмонию как тяжелую. В первой группе преобладали правосторонние пневмонии (56 %), больше диагностировалось нижнедолевых поражений (справа – 44 %, слева – 36 %). При тяжелой пневмонии частота двустороннего поражения составила 50 %, с поражением правого легкого – 29,2 % и левого легкого – 20,8 %.

При анализе показателей инструментального обследования, следует сказать, что рентгенография органов грудной клетки остается «золотым стандартом» диагностики пневмоний.

В результате проведенного статистического исследования было определено, что тяжелая степень внебольничной пневмонии отличается от нетяжелого течения по характеру начала заболевания, длительности госпитализации, вовлечением в воспалительный процесс обоих легких с преимущественным поражением трех и более сегментов, наличием в клинической картине озноба, лихорадки, одышки, болезненности в грудной клетке, головокружения, особенностей аускультативной и перкуторной картины легких. Также отличия заключались в частом понижении систолического АД, тахикардии при поступлении; высоким уровнем СОЭ, лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, СРБ; низким уровнем лимфоцитов крови, гемоглобина, гематокрита, эритроцитов, общего белка, альбумина, протромбинового индекса. В динамике отличия сводились к более поздней нормализации общего самочувствия и температуры тела, аускультативной картины, лабораторных показателей, рентгенологической картины.

Напротив, нетяжелая степень ВП отличалась от тяжелой по меньшему количеству достоверных признаков - наличию догоспитального

симптоматического лечения, с частым поражением одного легкого с вовлечением в воспалительный процесс одного и/или двух сегментов; отсутствием в клинике озноба, лихорадки, одышки, болезненности в грудной клетке, головокружения; отсутствием при поступлении тахикардии, понижения систолического АД, редким развитием осложнений.

По результатам клинического обследования течение внебольничной пневмонии у всех больных в сущности отражает общие принципы течения заболевания и совпадают с данными научной литературы (Синопальников А.И., 2001, Авдеев С.Н., 2003, Чучалин А.Г. и др., 2014).

Вместе с тем, нами установлено наличие высокого процента тяжелых форм пневмонии у лиц среднего и старшего (<51 года) возрастов с различными сопутствующими заболеваниями, но без явных признаков вторичного иммунодефицита к моменту инфицирования, что обуславливает необходимость исследований иммунологической реактивности пациентов.

При исследовании клеточного и гуморального звеньев иммунитета, а также основных провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в динамике выявились основные закономерности иммунологических нарушений, которые приводят к возникновению тяжелых форм заболевания.

Схожим признаком среди неспецифических факторов защиты у пациентов с внебольничной пневмонией различной степени тяжести стало снижение относительного числа лимфоцитов в двух группах в начале заболевания и при повторном исследовании, более выраженная при тяжелой степени ВП. Данное явление было рассмотрено нами как факт недостаточной реакции клеток лимфоцитарного звена. Это прослеживается при последующем анализе популяций и субпопуляций лимфоцитов у пациентов с различной степенью тяжести пневмонии.

В процессе исследования показателей клеточного и гуморального звеньев иммунной защиты и отдельных цитокинов в обеих группах выявлены следующие особенности:

1. Уровни гуморальных факторов защиты в начале заболевания имели более низкие значения, чем у здоровых доноров ( $p > 0,05$ ); обнаружено статистически значимое снижение уровня IgG у всех пациентов вне зависимости от степени тяжести течения пневмонии по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ). Отдельного упоминания требует содержание IgA, который был повышен у пациентов с двусторонней пневмонией ( $p < 0,05$ ). При мониторинге на десятые сутки исследования содержание иммуноглобулинов в обеих группах стремилось к нормальным значениям.

2. У пациентов с нетяжелым течением заболевания обнаружено увеличение числа зрелых Т-клеток (CD3+) ( $p < 0,05$ ), Т-клеток с супрессорной активностью (CD8+) ( $p < 0,05$ ) и натуральных киллеров (CD16+/56+) ( $p < 0,05$ ) при нормальных уровнях В-клеток (CD19+). Таким образом, мы видим равномерную активацию клеточных механизмов защиты.

В этой группе больных также было отмечено невыраженное увеличение уровня провоспалительных цитокинов в периферической крови (IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1) в начале заболевания по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ), нормализация таких показателей, как IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1, в процессе лечения в отличие от группы с тяжелым течением ВП, а также сохранение высоких значений IL-1 $\beta$  и достоверное увеличение противовоспалительного цитокина IL-10 в периферической крови.

3. При пневмонии тяжелой степени, наоборот, определялось снижение уровня зрелых Т-клеток (CD3+), ( $p < 0,001$ ), Т-клеток с хелперной активностью (CD4+), ( $p < 0,01$ ), коэффициента CD4+/CD8+. Вместе с тем, выявлено значимое снижение числа В-клеток (CD19+), ( $p < 0,01$ ), содержания натуральных киллеров (CD16+/56+), ( $p < 0,01$ ).

Одновременно замечено, что при тяжелой пневмонии и двустороннем процессе в легких происходит дисбаланс определенных цитокинов в виде увеличения содержания IL-6 в 8 раз, MCP-1 – в 3 раза, TNF- $\alpha$  – в 2 раза в периферической крови.

Одновременно замечено, что при тяжелом течении пневмонии и двустороннем процессе в легких происходит дисбаланс определенных цитокинов в виде увеличения содержания IL-6 в 8 раз, MCP-1 – в три раза, TNF- $\alpha$  – в два раза в периферической крови.

Основными биопептидами, которые ведут к более тяжелым формам заболевания, явились IL-1 $\beta$ , MCP-1, IL-6 и TNF- $\alpha$ . При их исследовании была отмечена неоднозначная динамика: IL-1 $\beta$  через десять дней лечения продолжал повышаться ( $p < 0,05$ ), показатели IL-6 и MCP-1 оставались значительно выше нормы ( $p < 0,001$ ), IL-10 в динамике имел еще большую тенденцию к снижению ( $p < 0,01$ ), а уровень TNF- $\alpha$  на десятые сутки снижался, при этом все же сохраняя повышенные значения по сравнению с группой контроля.

Таким образом, были отмечены главные отличия иммунологической реактивности при тяжелых формах течения ВП: дефицит зрелых Т-клеток (CD3+), Т-клеток с хелперной активностью (CD4+), с, тем не менее, адекватным гуморальным иммунным ответом на фоне дисбаланса провоспалительных цитокинов. Развитие у пациентов из группы с тяжелым течением пневмонии подобных изменений, которые относятся к не характерным для системной воспалительной реакции, может свидетельствовать о неадекватности специфического иммунного ответа.

Выявленный нами дисбаланс основных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , MCP-1) у больных с тяжелым течением ВП в совокупности с обнаруженными изменениями клеточного иммунитета позволяет сделать вывод о нарушении иммунорегуляции.

Основываясь на полученных результатах исследования факторов иммунной защиты у пациентов с внебольничной пневмонией тяжелого течения, можно предположить явление гиперактивации провоспалительных факторов, которые, возможно, пытаются компенсировать нехватку естественной резистентности организма и его специфических механизмов защиты. К ним и относятся цитокины вместе с антигенами

микроорганизмов. В частности, значительное повышение у пациентов с тяжелым течением ВП уровней таких цитокинов, как IL-6, TNF- $\alpha$  и MCP-1. Они обуславливают системность воспалительного процесса.

Проведенное исследование показало неадекватность, клеточных механизмов защиты на фоне выраженного дисбаланса отдельных цитокинов у пациентов с тяжелой пневмонией. Одним из ведущих факторов, обуславливающих степень тяжести внебольничной пневмонии, является нарушение реактивности Т-клеточного звена, вследствие которого происходит дисбаланс цитокинового статуса

Для установления этиологии внебольничной пневмонии в нашей работе всем пациентам было проведено исследование мокроты при помощи микроскопии с окраской по Граму и бактериологического метода.

Диагностическая ценность бактериоскопии при окраске по Граму и посева мокроты сохраняется в известных пределах, описанных в научной литературе, и составляет 58,2 % положительных результатов.

К этиологическим особенностям заболевания, выявленным в результате проведенного микробиологического исследования больных ВП в рамках диссертационной работы, относятся следующие:

- 1) частота *S.pneumoniae* среди возбудителей ВП – 32,9 %;
- 2) увеличение роли таких грамотрицательных бактерий, как *M. catarrhalis* (15,8 % наблюдений) и *K. pneumoniae* (13,4 %); малая роль *H. influenzae* – всего 3,7 % случаев;
- 3) высокая частота (23 из 27 пациентов) обнаруженных *S. pneumoniae* в возрастной группе старше 51 года.

Таким образом, проведенное нами микробиологическое исследование показало, что при тяжелых формах течения внебольничной пневмонии значительное место в этиологической структуре наряду с грамположительными микроорганизмами занимают грамотрицательные бактерии.

Среди больных ВП, обследованных с помощью теста BinaxNOW® *S. pneumoniae*, подтвержденная пневмококковая пневмония была диагностирована в 29,3 % случаев.

Частота положительных результатов теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* в моче при нетяжелом течении внебольничной пневмонии составила 20,0 % и увеличивалась в зависимости от степени тяжести заболевания (29,2 % при тяжелом течении). У больных ВП с плевритом частота пневмококковой этиологии пневмонии достигала 66,6 % случаев, что в три раза больше, чем при ВП без плеврита (21,7 %).

При выделении пневмококка у больных ВП из мокроты в 80,0 % случаев тест BinaxNOW® *S. pneumoniae* на антиген пневмококка в моче был положительным, что подтверждает значимость этого исследования для уточнения этиологии ВП.

Чувствительность мочевого теста BinaxNOW® *S. pneumoniae* в отношении пневмококка у больных ВП, обследованных с выделением культуры возбудителей заболевания из мокроты, составила 80,0 %, а специфичность – 96,2 %.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне значимости *S. pneumoniae* как этиологического фактора развития пневмонии у пациентов, не привитых против пневмококка. Заболевание требовало госпитализации в связи с тяжестью их состояния. Профилактические мероприятия и широкое применение вакцины против пневмококковой инфекции у людей в возрасте старше 51 года, а также у лиц, имеющих сопутствующие хронические заболевания, могли бы существенно изменить структуру заболеваемости взрослого населения пневмококковой ВП.

Математическое моделирование в сфере деятельности пульмонолога важно тем, что обеспечивает объективный подход к оценке тяжести состояния пациента, позволяя правильно поставить диагноз, определить прогноз, назначить адекватную терапию (Самойлов Р.Г., 2007). Именно поэтому на следующем этапе исследования мы разработали математическую

модель тяжести течения пневмонии для проведения ранней диагностики в первые сутки поступления больных в стационар.

При разработке модели мы учитывали наиболее важные признаки заболевания. Для осуществления данной задачи был использован дискриминантный анализ.

Для каждого признака определялся критерий Фишера. На основании полученного цифрового значения оценивался количественный вклад каждого признака заболевания. Симптомы, для которых уровень значимости по F-критерию соответствовал  $p < 0,05$ , были включены в математическую модель.

Также учитывались и разнонаправленные параметры гемограммы - как повышенные, так и пониженные для наиболее полного охвата лабораторных данных. Основу математической модели тяжести ВП составили информационные признаки, константа и коэффициенты уравнений, определяемые методом наименьших квадратов. Знак коэффициента соответствовал знаку корреляции между кодом заболевания и соответствующим информационным показателем.

В математическую модель тяжести течения ВП, с учетом уровня значимости по критерию Фишера, были включены десять признаков. При их выборе были учтены возможности для раннего реагирования на патологические изменения тяжести течения заболевания. Самым весомым признаком стало наличие легочной инфильтрации с учетом данных рентгенографического исследования органов грудной клетки (критерий Фишера 335). Затем в порядке уменьшения роли влияния шли следующие информационные признаки: степень дыхательной недостаточности; снижение протромбинового индекса; снижение систолического артериального давления при поступлении; вариант начала заболевания; содержание в периферической крови альбумина, общего белка, С-реактивного белка, содержание лейкоцитов и лимфоцитов.

Математическая модель является статистически значимой ( $p < 0,00001$ ) и обладает вполне хорошей прогностической способностью (88,3 %), невзирая

на использование всего десяти признаков, определяемых в первые сутки поступления пациента в стационар. Разработанная математическая модель давала совпадение прогнозируемого исхода заболевания с реальным результатом в 79,2 % случаев в группе больных тяжелой пневмонией. В группе пациентов с нетяжелой степенью ВП совпадение прогнозируемого исхода с полученными результатами составило 94 %. Такой вывод мы сделали с учетом построенной нами классификационной матрицы.

После обследования больного в приемном отделении или при поступлении в специализированное пульмонологическое отделение в разработанные формулы подставляли значения перечисленных признаков. Затем производили расчет, в результате которого по полученному значению устанавливалась нетяжелая или тяжелая пневмония.

Одним из этапов исследования явилась интерполяция разработанных алгоритмов в стационарных условиях с целью оценки их практической значимости.

Реализация этой задачи осуществлялась на базе отделения пульмонологии и аллергологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России на проверочной выборке 52 больных в возрасте старше 18 лет, находящихся на лечении по поводу внебольничной пневмонии. В нее вошли 22 человека с нетяжелым течением ВП и 20 – с тяжелым. Методика исследования заключалась во включении в разработанные формулы признаков, полученных в процессе обследования пациента. Это позволяло в течение первых суток заболевания спрогнозировать степень тяжести внебольничной пневмонии.

В результате анализа полученных данных выявился 91 % совпадений заключительного клинического диагноза в группе пациентов с нетяжелым течением ВП (20 - по расчетам из 22 пролеченных). В группе больных тяжелой степенью ВП число совпадений заключительного клинического диагноза составило 80 % (16 по расчетам из 20 пролеченных).

Таким образом, результаты проверки математической модели тяжести течения ВП на практике в первые сутки пребывания пациента в стационаре показали целесообразность ее клинического применения.

При проведении дискриминантного анализа клинических, лабораторных и инструментальных данных для создания математических моделей руководствовались реальными этапами диагностики в процессе оказания медицинской помощи пациентам с пневмонией. Именно поэтому мы пытались определить комплекс наиболее простых клинических, лабораторных и инструментальных данных, которые могут быть получены уже на начальном этапе обследования больного.

Таким образом, примененный нами комплекс клинических, функциональных, микробиологических и иммунологических методов исследования позволяет улучшить результаты проводимой диагностики и оптимизировать ведение пациентов с внебольничной пневмонией в стационарах, улучшить индивидуальный прогноз течения заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. Результаты анализа клинической картины внебольничной пневмонии у госпитализированных больных отражают общие закономерности течения заболевания. Оценка клинического профиля выявила следующие тенденции: увеличение числа пациентов в возрасте старше 51 года, частоты сопутствующих хронических заболеваний, в том числе заболеваний органов дыхания, вредных привычек (употребление алкоголя и курение табака), отягощающих течение и ухудшающих прогноз заболевания. Проведенная оценка индикаторов качества медицинской помощи у госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией выявила несоответствие целевому уровню на 44,7 %.

2. Изучение иммунологических параметров позволило сформулировать основные алгоритмы нарушений иммунной реактивности у больных с тяжелым течением ВП: дефицит зрелых CD3+ Т-клеток, CD4+ Т-лимфоцитов с хелперной активностью, сохранившуюся реактивность гуморального звена, наличие повышенной активации воспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , MCP-1, TNF- $\alpha$ ).

3. Диагностическая ценность микроскопического и бактериологического методов исследования мокроты сохраняет свою значимость при условии соблюдения высоких стандартов качества на аналитическом этапе диагностики. Проведенное нами микробиологическое исследование показало, что у пациентов с внебольничной пневмонией значительное место в этиологической структуре, наряду с грамположительными микроорганизмами, занимают грамотрицательные бактерии (*M. catarrhalis* и *K. pneumoniae*).

4. Полученные результаты подтверждают высокую значимость пневмококка в этиологии пневмонии у больных, не привитых от данного патогена. Профилактические мероприятия и широкое применение вакцины против пневмококковой инфекции у лиц в возрасте старше 51 года, а также

имеющих сопутствующие хронические заболевания позволят существенно изменить структуру заболеваемости ВП.

5. Создание математической модели внебольничной пневмонии у пациентов на основании комплексного анализа результатов клинического, лабораторного и инструментального исследований позволяет оценить тяжесть течения заболевания на ранних этапах диагностики.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо добиваться максимального соответствия целевым уровням индикаторов качества оказания медицинской помощи при внебольничной пневмонии у госпитализированных пациентов.
2. Диагностика пневмококковой пневмонии может быть дополнена применением в клинической практике нового иммунохроматографического метода VinaxNOW ® *S. pneumoniae*.
3. Рекомендуется использовать разработанную математическую модель для оценки тяжести внебольничной пневмонии на ранних этапах заболевания и уточнения индивидуального прогноза пациента.
4. Оптимизация ведения пациентов с ВП в Самарской области, а также профилактика заболевания возможна с помощью проведения своевременного микробиологического исследования мокроты, применения диагностического теста VinaxNOW ® *S. pneumoniae*, вакцинации против пневмококка.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Авдеев, С.Н. Внебольничная пневмония [Электронный ресурс] / С.Н. Авдеев.// Consilium Medicum. – 2003. – Т. 5. – № 2. – Режим доступа: [http://www.consilium-medicum.com/media/consilium/03\\_02c/1\\_1.shtml](http://www.consilium-medicum.com/media/consilium/03_02c/1_1.shtml)
2. Авдеев, С.Н. Лечение внебольничной пневмонии [Текст] / С.Н. Авдеев // Русский медицинский журнал. – 2004. – Т. 12. – № 2. – С. 24-28.
3. Авдеев, С.Н. Внебольничная пневмония [Текст] / С.Н. Авдеев // Consilium Medicum. – 2005. – № 2. – С. 23-27.
4. Антибактериальная терапия пневмоний у взрослых [Текст] / С.М. Навашин, А.Г. Чучалин, Ю.Б. Белоусов [и др.] // Клин. фармакол. терапия. – 1999. – № 8(1). – С. 41-50.
5. Антибиотики в пульмонологии [Текст] / В.Е. Ноников, В.Е. Маликов, С.А. Евдокимова [и др.] // Кремлев. мед. – клин. вестн. – 2005. – № 1. – С. 20-23.
6. Антибиотикорезистентность штаммов *Haemophilus influenzae*, выделенных в Москве с 2002 по 2004 г. [Текст] / О.Ю. Филимонова, С.А. Грудинина, С.В. Сидоренко [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2004. – № 49. – С. 14-21.
7. Архипов, В.В. Антибактериальная терапия инфекций нижних дыхательных путей в амбулаторной практике с позиций доказательной медицины [Текст] / В.В. Архипов // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 1. – С. 40-42.
8. Байгозина, Е.А. Цитокиновый профиль у больных с вентилятор-ассоциированной пневмонией [Текст] / Е.А. Байгозина, В.И. Совалкин, Т.И. Долгих // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т.6, № 2. – С. 35-39.

9. Бартлетт, Д.Д. Инфекции дыхательных путей [Текст] / Д.Д. Бартлетт. - СПб. : Невский Диалект, 2000. – 192 с.
10. Белобородов, В.Б. Антибактериальная терапия инвазивной пневмококковой инфекции и проблема резистентности пневмококков [Текст] / В.Б. Белобородов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2000. – Т. 2. – № 6. – С. 168-172.
11. Блюменталь, И.Я. Внебольничная пневмония: актуальная проблема или рутинная патология? [Текст] / И.Я. Блюменталь // Вестник современной клинической медицины. – 2011. – Т. 4. – № 1. – С. 52-55.
12. Боровская, Т.Ф. Цитотоксические клетки и натуральные киллеры в системном и местном иммунном ответе у больных внебольничной пневмонией в остром периоде болезни [Текст] / Т.Ф. Боровская, Э.Х. Курпас // XVI Национальный конгресс по болезням органов дыхания: сборник трудов конгресса. – СПб., 2006. – С. 82.
13. Бородулин, Б.Е. Факторы риска смерти пациентов с внебольничной пневмонией в современных условиях [Текст] / Б.Е. Бородулин, Л.В. Поваляева // Казанский медицинский журнал. – 2012. – № 5. – С. 816-820.
14. Бухарин, О.В. Биология патогенных кокков [Текст] / О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, О.В. Карташова. – М. : Медицина, 2002. – 282 с.
15. Влияние факторов внешней среды на локализацию односторонней внебольничной пневмонии [Текст] / В.А. Добрых [и др.] // Пульмонология. – 2013. – № 1. – С.64-67.
16. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике [Текст] / А.Г. Чучалин [и др.] // КМАХ. – 2010. – Т. 12. – № 3. – С. 12-43.

17. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике [Текст] / Под ред. А.Г. Чучалина [и др.]. – М. : Атмосфера, 2014. – 45 с.
18. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Haemophilus influenzae* [Текст] / Т.М. Богданович, О.У.Стецюк, О.И. Кречикова [и др.] // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2000. – Т. 2. – № 2. – С. 93-109.
19. Влияние факторов воспаления на течение внебольничной пневмонии [Текст] / В.В. Агаджанян [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5. – № 3. – С. 16-20.
20. Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Streptococcus pneumoniae*: Методические рекомендации под ред. Л.С. Страчунского [Текст] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – № 1. – Т. – С. 88-98.
21. Гучев, И.А. Антибактериальная терапия нетяжелой внебольничной пневмонии, основанная на результатах теста *Vinax Now* [Текст] / И.А. Гучев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5. – № 3. – С. 37-44.
22. Гучев, И.А. *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* как возбудители внебольничной пневмонии у взрослых [Текст] / И.А.Гучев // *Consilium Medicum*. – 2003. – Т. 5. – № 10. – С. 576-581.
23. Дворецкий, Л.И. Внебольничная пневмония. Клинические рекомендации по антибактериальной терапии [Электронный ресурс] / Л.И. Дворецкий // Российский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11. – № 14. – Режим доступа: <http://www.rmj.ru/main.htm> / rmj/ tl 1/ п14/ 826.htm

24. Дворецкий, Л.И. Критический анализ консенсусных практических рекомендаций IDSA и ATS по лечению внебольничной пневмонии 2007 года [Текст] / Л.И. Дворецкий, М.А. Александрова // Consilium Medicum. – 2008. – Т. 10. – № 1. – С. 34-37.
25. Дубинина, В.В. Состояние общей и местной иммунологической защиты и оценка эффективности иммунокоррекции при пневмонии и ХОБЛ у мужчин [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Благовещенск, 2005. – 22 с.
26. Железникова, Г.Ф. Типы иммунного ответа при острых инфекционных заболеваниях [Текст] / Г.Ф. Железникова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2003. – № 5. – С. 117-120.
27. Земсков, В.М. Иммуномодуляторы в терапии легочной патологии [Текст] / В.М. Земсков, А.В. Караулов, А.М. Земсков. – Изд. Кубань, 1995. – 320 с.
28. Земсков, А.М. Иммунопатология и иммунокоррекция неспецифических воспалительных заболеваний легких [Текст] / А.М. Земсков, В.М. Земсков, А.В. Караулов. – М. : Воронеж, 2000. – 440 с.
29. Зислин, Б.Д. Мониторинг дыхания и гемодинамики при критических состояниях [Текст] / Б.Д. Зислин, А.В. Чистяков. – М. : Сократ, 2006. – 336 с.
30. Зубков, М.Н. Микробиологические аспекты диагностики пневмоний / М.Н. Зубков, Е.Н. Гугуцидзе // Пульмонология. – 1997. – № 1. – С. 41-45.
31. Зубков, М.Н. Этиология и патогенез внебольничных пневмоний у взрослых [Текст] / М.Н. Зубков // Пульмонология. – 2006. – № 4. – С. 53.
32. Иммунологические критерии степени тяжести внебольничной пневмонии [Текст] / Г.А. Мавзютова [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9. – № 1. – С. 28.

33. Иммунология и аллергология (цветной атлас) [Текст] / под. ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова. – М. : Практическая медицина, 2006. – 287 с.
34. Караулов, А.В. Иммунология внебольничных пневмоний [Текст] / А.В. Караулов // Пневмония / под. ред. А.Г. Чучалина, А.И. Синопальникова, Н.Е. Чернеховско. – М. : Экономика и информатика, 2002. – С. 67-93.
35. Караулов, А.В. Клиническая иммунология и аллергология (2-е изд.) [Текст]. – М. : МИА, 2002. – 651 с.
36. Караулов, А.В. Молекулярная медицина и клиническая иммунология [Текст] / А.В. Караулов // Успехи клинической иммунологии и аллергологии. – 2002. – Т. 3. – С. 3-15.
37. Караулов, А.В. Тяжесть внебольничной пневмонии: иммунные детерминанты и иммунные подходы к терапии [Текст] / А.В. Караулов, Д.В. Кокушков, З.В. Бицоева // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 3. – С. 401.
38. Катосова, Л.К. Проблемы микробиологии в педиатрии. Актовая речь на торжественном собрании, посвященном 79 годовщине со дня основания НИИ педиатрии РАМН 14.11.01. – М. – 2001. – 46 с.
39. Клинические и микробиологические особенности внебольничной пневмонии [Текст] / Г.А. Мавзютова [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 2. – С. 95-100.
40. Козлов, В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов [Текст] / В.А. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 5-8.
41. Козлов, Р.С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее [Текст] / Р.С. Козлов. – Смоленск. : Смоленская государственная медицинская академия, 2005. – 128 с.

42. Козлов, Р.С. Антибиотикорезистентность *Streptococcus pneumoniae* в России в 1999-2005 гг.: результаты многоцентровых перспективных исследований ПеГас-1 и ПеГас-2 [Текст] / Р.С. Козлов, О.В. Сивая, К.В. Шпынев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2006. – Т. 8. – № 1. – С. 33-47.
43. Козлов, Р.С. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999-2009 гг. [Текст] / Р.С. Козлов [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2010. – Т. 12. – № 4. – С. 25-36.
44. Комар, С.И. Биохимические факторы воспаления и прогноз осложненного течения пневмонии [Текст] / С.И. Комар // Актуальные проблемы медицинской науки и профессионального образования: труды научной сессии. – Челябинск, 2000. – С. 43-45.
45. Косарев, В.В. Актуальные проблемы диагностики и лечения внебольничных пневмоний: монография [Текст] / В.В. Косарев, И.И. Сиротко. – Самара, 2002. – 144 с.
46. Косарев, В.В. Справочник врача пульмонолога [Текст] / В.В. Косарев, С.А. Бабанов. – М. : Феникс, 2011. – 448 с.
47. Котельников, Г.П. Доказательная медицина. Научно-обоснованная медицинская практика [Текст] / Г.П. Котельников, А.С. Шпигель – М. : Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2012. – 242 с.
48. Кудряшева, И.А. Характер изменений цитокинового статуса при пневмонии у пациентов различных возрастных групп в динамике [Текст] / И.А. Кудряшева, Х.М. Галимзянов, О.С. Полунина // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 4. – С. 63-64.

49. Лебедева, М.Н. Новые подходы к прогнозированию течения внебольничных пневмоний у лиц молодого возраста [Текст] / М.Н. Лебедева, О.В. Гаврилов // Пульмонология. – 2005. – № 3. – С. 20-21.
50. Лещенко, И.В. Внебольничные пневмонии: диагностика и лечение [Текст] / И.В. Лещенко, З.Д. Бобылева // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 3. – С. 19-22.
51. Лещенко, И.В. Внебольничные пневмонии: диагностика и лечение [Текст] / И.В. Лещенко, З.Д. Бобылева // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2002. – № 4. – С. 6-9.
52. Линденбратен, Л.Д. Медицинская радиология. Основы лучевой диагностики и лучевой терапии [Текст] / Л.Д. Линденбратен, И.П. Королук. – М. : Медицина, 2013. – 480 с.
53. Логвиненко, А.С. Диагностические ошибки при внебольничных пневмониях [Текст] / А.С. Логвиненко, Н.И. Логвиненко // Актуальные вопросы современной медицины: тезисы докладов 14 научно-практической конференции врачей. Новосибирск. – 2004. – Гл. 6. – С. 125.
54. Мавзютова, Г.А. Этиопатогенетические механизмы иммунных нарушений при внебольничной пневмонии и их коррекция [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Уфа, 2010. – 48 с.
55. Маркелова, Е.В. Система цитокинов у больных с острыми повреждениями легких и клинико-иммунологическое обоснование терапии лейкинфероном [Текст] : автореф. дис. ... д-ра. мед. наук : / Е.В. Маркелова. – Владивосток., 2000. – 49 с.
56. Маянский, А.Н. Патогенетическая микробиология: руководство [Текст] / А.Н. Маянский. – Н. Новгород. : Нижегородская государственная академия, 2006. – 520 с.

57. Мельниченко, П.И. Эпидемиология и профилактика внебольничной пневмонии у военнослужащих на современном этапе. Пневмония у военнослужащих [Текст] / П.И. Мельниченко // Военно-медицинский журнал. – 2003. – № 324. – С. 7-14.
58. Механизмы выживания бактерий / О.В. Бухарин [и др.]. – М. : Медицина, 2005. – 367 с
59. Молчанова, Л.В. Молекулярные аспекты полиорганной недостаточности: молекулы адгезии (обзор литературы) [Текст] / Л.В. Молчанова, В.В. Мороз // Реанимат. и интенсивная терапия. – 1999. – № 2. – С. 10-17.
60. Назаров, П.Г. Новые функции цитокинов [Текст] / П.Г. Назаров // Иммунология. – 1998. – № 6. – С. 6-9.
61. Никонова, Е.В. Пневмонии: эпидемиология, классификация, клинико-диагностические аспекты / Е.В. Никонова, А.Г. Чучалин, А.Л. Черняев // РМЖ. – 1997. – Т. 5. – № 17. – С. 1095-1099.
62. Новиков, Ю.К. Современные подходы к лечению пневмоний [Электронный ресурс] / Ю.К. Новиков // Российский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10. – № 5. – Режим доступа: [http://www.rmj.ru/main.htm7 rmj/ tl 0/ п5/ 251 .htm](http://www.rmj.ru/main.htm7%20rmj/tl%200/p5/251.htm)
63. Новиков, Ю.К. Пневмонии: сложные и нерешенные вопросы диагностики и лечения [Текст] / Ю.К. Новиков // Русский медицинский журнал. – 2004. – № 21. – С. 1226-1232.
64. Новиков, Ю.К. Этиология, степень тяжести и лечение внебольничной пневмонии / Ю.К. Новиков // Рус.мед. журн. – 2011. – Т. 14. – № 7. – С. 537-543.
65. Ноников, В.Е. Диагностика и лечение атипичных пневмоний [Текст] / В.Е. Ноников // Consilium Medicum. – 2001. – Т. 3. – № 3. – С. 138-141.

66. Ноников, В.Е. Дифференциальная диагностика пневмоний и выбор антибактериальной терапии [Текст] / В.Е. Ноников // Клин. фармакол. и тер. – 2009. – №5. – С. 10-13.
67. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.2.1890-04) [Текст] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – № 4. – Т. 6. – С. 306-359.
68. Оськина, Е.А. Особенности клинического течения внебольничной и нозокомиальной пневмонии у пациентов пожилого и старческого возраста [Текст] / Е.А. Оськина, А.В. Жестков // Пульмонология. – 2010. – № 6. – С. 5-8.
69. Пальцев, М.А. Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях [Текст] / М.А. Пальцев // Иммунология. – 1996. – № 1. – С. 3-6.
70. Парсонз, П.Э. Секреты пульмонологии [Текст] / П.Э. Парсонз, Д.Э. Хеффнер ; пер. А.И. Синопальников [и др.] ; под общ. ред. О.Ф. Колодкиной. – М., 2004. – 648 с.
71. Перспективные данные применения пневмококковой 13-валентной конъюгированной вакцины у взрослых пациентов с хронической бронхолегочной патологией / М.П. Костинов [и др.] // Пульмонология. – 2014. – № 4. – С. 57-62.
72. Показатели интоксикации и иммунитета у больных пневмонией и сепсисом [Текст] / С.С. Тетянец, Л.А. Кузубова, Т.А. Жук [и др.] // Актуальные проблемы фтизиатрии и пульмонологии: сборник научных трудов. – Самара, 2005. – С. 126-129.

73. Поникаровская, Л.А. Особенности этиологии, клиники и связь генетических факторов с течением амбулаторных внебольничных пневмоний [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед.наук : / Л.А. Поникаровская. – Барнаул : Алт. гос. мед. ун-т., 2007. – 19 с.
74. Применение методов математического моделирования в клинической практике [Текст] / В.М. Ключев [и др.] // Воен.-мед. журн. – 1997. – № 5. – С. 41-47.
75. Рабсон, А. Основы медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. – М. : Практическая Медицина, 2006. – 320 с.
76. Рачина, С.А. Структура бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии в многопрофильных стационарах Смоленска [Текст] / С.А. Рачина, Р.С. Козлов, Е.П. Шаль // Пульмонология. – 2011. – № 1. – С. 5-18.
77. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О.Ю. Реброва. - М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
78. Розенштраух, Л.С. Рентгенодиагностика заболеваний органов дыхания / Л.С. Розенштраух, Н.И. Рыбакова, М.Г. Виннер. – М., 1987. – 572 с.
79. Руднов, В.А. Сравнительный анализ информационной значимости шкал для оценки тяжести состояния больных с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ [Текст] / В.А. Руднов, А.А. Фесенко, А.В. Дрозд // Клиническая Микробиология и Антибиотикотерапия. – 2007. – Т. 9. – № 4. – С. 330-336.
80. Сабитова, Р.Я. Внебольничная пневмония у пациентов с наркотической зависимостью и ВИЧ-инфекцией: особенности клинических и лабораторных проявлений [Текст] / Р.Я. Сабитова, А.В. Жестков, Т.А. Алпатова // Атмосфера. – 2012. – № 3. – С. 23-27.

81. Самойлов, Р.Г. Оценка тяжести и прогнозирование течения внебольничной пневмонии у лиц молодого возраста [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 2007 / Р.Г. Самойлов. – Самара, 2007. – 25 с.
82. Северин, С.Е. Молекулярные механизмы регуляции активности клеток [Текст] / С.Е. Северин, М.А. Пальцев, А.А. Иванов // Вестник Института молекулярной медицины. – 2001. – № 1. – 124 с.
83. Сенников, С.В. Аллельные варианты и изоформы цитокинов в диагностике и патогенезе иммунопатологических состояний [Текст] / С.В. Сенников, А.Н. Силков, В.А. Козлов // Иммунология. – 2002. – № 23 (4). – С. 243-250.
84. Сивакова, О.Д. Внебольничная пневмония: клинические особенности, фармакоэпидемиологические и фармакоэкономические аспекты в Самарской области [Текст] : дис. ... канд. мед. наук : / О.Д. Сивакова. – Самара, 2014. – 158 с.
85. Симбирцев, А.С. Цитокины новая система регуляции защитных реакций организма [Электронный ресурс] / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2000. – № 1. – Режим: доступа: <http://www.mmm.spb.ru/Cytokines/2002/1/Art3.php>
86. Симбирцев, А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных сил организма [Текст] / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 9-16.
87. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции [Текст] / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – № 2. – С. 16-22.

88. Синопальников, А.И. Новые рекомендации по ведению взрослых пациентов с внебольничной пневмонией [Текст] / А.И. Синопальников, Л.С. Страчунский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т.3. – № 1. – С. 54-68.
89. Синопальников, А.И. Атипичная пневмония [Текст] / А.И. Синопальников // Русский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10. – № 23. – С. 37-39.
90. Синопальников, А.И. Внебольничная пневмония: диагностика и дифференциальная диагностика [Текст] / А.И. Синопальников // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 3. – С. 7-10.
91. Синопальников, А.И. Внебольничная пневмония: диагностика и дифференциальная диагностика [Текст] / А.И. Синопальников // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 4. – С. 15-18.
92. Сиротко, И.И. Клинико-морфологические параллели в течении внебольничной пневмонии у лиц молодого возраста [Текст] / И.И. Сиротко, В.П. Детюченко, Т.Ю. Шмелева // 15 национальный конгресс по болезням органов дыхания: сборник тезисов. – М., 2005. – № 357. – С. 103.
93. Сиротко, И.И. Клинико-эпидемиологические особенности пневмоний в организованных коллективах как отражение изменения здоровья популяции [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : / И.И. Сиротко. – Москва : ГИУВ, 2005. – 40с.
94. Система репарации ДНК при неспецифических заболеваниях легких [Текст] / В.П. Сильвестров [и др.] // Терапевт. архив. – 1985. – № 7. – С. 114-116.

95. Скопинцев, М.А. Системный воспалительный ответ у больных внебольничной пневмонией в зависимости от степени тяжести [Текст] / М.А. Скопинцев, И.М. Устьянцева, О.В. Петухова // 15 национальный конгресс по болезням органов дыхания: сборник тезисов. – М., 2005. - № 318. – С. 94.
96. Страчунский, Л.С. Антибактериальная терапия внебольничной пневмонии в амбулаторных условиях [Текст] / Л.С. Страчунский // Consilium medicum. – 2002. – Т. 4. – №.4. – С. 180-185.
97. Тартаковский, И.С. Возбудители атипичных пневмоний: роль в этиологической структуре пневмоний и особенности лабораторной диагностики [Текст] / И.С.Тартаковский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5. – № 3. – С. 9-17.
98. Тартаковский, И.С. Современные подходы к диагностике атипичных пневмоний [Текст] / И.С. Тартаковский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т. 2. – № 1. – С. 60-68.
99. Фактор некроза опухоли, интерлейкин-6, эндотоксин и прокальцитонин у больных с опухолевыми заболеваниями системы крови [Текст] / Г.М. Галстян, А.Л. Берковский, В.А. Зуева [и др.] // Терапевтический архив. – 2002. – № 7. – С. 56-61.
100. Федченко, Г.Т. Рентгенологическая диагностика внебольничных пневмоний [Текст] / Г.Т. Федченко // Consilium medicum. - 2002. Экстра-вып.: Симпозиум: федеральная программа по диагностике и лечению внебольничной пневмонии у взрослых в России. – С. 9.
101. Фесенко, О.В. Тяжелая внебольничная пневмония и шкалы оценки прогноза [Текст] / О.В. Фесенко, А.И. Синопальников // Практическая пульмонология. – 2014. – № 2. – С. 56-59.

102. Флетчер, Р. Клиническая эпидемиология: Основы доказательной медицины [Текст] / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. - М. : Медиа Сфера, 1998. – 352 с.
103. Хаитов, Р.М. Иммунология [Текст] / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатъева, И.Г. Сидорович. – М., 2000. – 430 с.
104. Хамитов, Р.Ф. Клинические рекомендации по диагностике и лечению внебольничных пневмоний у взрослых: монография [Текст] / Р.Ф. Хамитов, А.А. Визель [и др.]. – Казань. – 2011. – 157 с.
105. Цинзерлинг, А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза. – СПб, 1993. – 363с.
106. Цитокиновый профиль и функциональная активность фагоцитов при внебольничной пневмонии [Текст] / Д.В. Заворуева [и др.] // 15 национальный конгресс по болезням органов дыхания: сборник тезисов. – М., 2005. – № 333. – С. 97.
107. Частота пневмококковой пневмонии у взрослых больных терапевтических стационаров на трех территориях Российской Федерации [Текст] / Т.Н. Биличенко [и др.] // Пульмонология. – 2013. – № 3. – С. 29-35.
108. Чередеев, А.Н. CD-маркеры в практике клинко-диагностических лабораторий [Текст] / А.Н. Чередеев, Н.А. Горлина, И.Г. Козлов // Клин. лабор. диагн. – 1999. – № 6. – С. 25-32.
109. Чучалин, А.Г. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2003 года) / А.Г. Чучалин., А.И.Синопальников, Н.Е.Чернеховская. – М. : Экономика, 2002. – 480 с.
110. Шурыгин, И.А. Мониторинг дыхания. Пульсоксиметрия, капнография, оксиметрия [Текст] / И.А. Шурыгин. – Бином. : Невский диалект, 2000. – 301 с.

111. Яковлев, В.Н. Дифференциальный диагноз в пульмонологии [Текст] / В.Н. Яковлев, В.Г. Алексеев. – М. : Высшая школа, 2002. – 288 с.
112. Airway epithelium express interleukin-18 [Text] / L.A. Cameron [et al.] // Europ. Respirat. J. – 1999. – Vol. 14. – N 3. – P. 553-559.
113. American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention [Text] / M.S. Neiderman [et al.] // Am J Respir Crit Care Med. – 2001. – Vol. 163. – P. 1730-1754.
114. Bartlett, J.G. Community-acquired pneumonia [Text] / J.G. Bartlett , L.M. Mundy // N Engl J Med. – 1995. – N 333. – P. 1618-1624.
115. Bradley, J.S. Management of community-acquired pediatric pneumonia in an era of increasing antibiotic resistance and conjugate vaccines [Text] / J.S. Bradley // The Pediatric Infectious Disease Journal. – 2002. – Vol. 21. – N 6. – P. 592-598.
116. Community-acquired pneumonia in adults-guidelines for management [Text] / J.G. Bartlett, R.F. Breiman, L.A.Mandell [et al.] // Clin Infect Dis. – 1998. – Vol. 26. – P. 811-838.
117. Communityacquired pneumonia: etiology, epidemiology, and outcome at a teaching hospital in Argentina [Text] / C.M. Luna, A. Famiglietti, R. Absi [et al.] // Chest. – 2000. – Vol. 118. – P. 1344-1354.
118. Daignosis and management of pneumonia and other respiratory infections [Text] / A. Fein [et al.]. – Professional Communications, Inc., 1999. – 288 p.
119. Davey, H. Flow cytometry for clinical microbiology [Text] / H. Davey // CLI. – 2004. – N 2/3. – P. 12-15.
120. Ewig, S. Severe community-acquired pneumonia [Text] / S. Ewig, A. Torres // Clin Chest Med. – 1999. – Vol. 20. – N 3. – P. 575-587.

121. Expression and regulation of chemokines in bacterial pneumonia. / T.J. Standiford [et al.] // *J Leuk Biol.* – 1996. – Vol. 59. – P. 24-28.
122. Flow cytometry principles for clinical laboratory practice [Text]. – NY. : M.A. Owens, M.R. Loken. – Wiley-Liss, Inc., 1995. – 224 p.
123. Griffiths, A. Pre-Hospital Anesthesia Handbook [Text] / A. Griffiths, T. Lowes, J. Henning. – Springer, 2010. – 142 p.
124. Guidelines for management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosos, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention [Text] / M.S. Niederman, L.A. Mandell, A. Anzueto [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2001. – Vol. 163. – P. 1730-1754.
125. High-resolution computed tomography for the diagnosis of community-acquired pneumonia [Text] / H. Syrjala [et al.] // *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America.* – 1998. – Vol. 27. – N 2. – P. 358-363.
126. Incidence of allergic reactions associated with antibacterial use in a large, managed care organization / L.A. Mandell, R.G. Wunderink, A. Anzueto [et al.] // *Drug Saf.* – 2007. – Vol. 30. – P. 705-713.
127. IDSA/ATS Guidelines for CAP in adults [Text] / L.A. Mandell [et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2007. – Vol. 44. – P. 27-72.
128. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults [Text] / L.A. Mandell, R.G. Wunderink, A. Anzueto [et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2007. – Vol. 44. – P. 27-72.
129. Interleukine-12 production by human alveolar macrophages is controlled by theautocrine production of interleukine-10 [Text] / P. Isles [et al.] // *Amer. J. of Respirat. Cell and Mol. Biol.* – 1999. – Vol. 20. – N 2. – P. 270-278.

130. Leucocyte response and anti-inflammatory cytokines in community-acquired pneumonia [Text] / U.K. Kolling [et al.] // *Thorax*. – 2001. – Vol. 56. – N 2. – P. 121-125.
131. Lieberman, D. Multiple pathogens in adult patients admitted with community-acquired pneumonia: a one year prospective study of 346 consecutive patients [Text] / D. Lieberman, F. Schlaeffer, I. Boldur [et al.] // *Thorax*. – 1996. – Vol. 51. – N 2. – P. 179-184.
132. Lim, W.S. British Thoracic Society guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults – update 2009 / W.S. Lim, S.V. Baudouin, R.C. George // *Thorax*. – 2009. - Vol. 64. – P. 1-55.
133. Lim, W.S. Defining prognostic factors in the elderly with community-acquired pneumonia: a case controlled study of patients aged  $\geq 75$  years / W.S. Lim, J.T. Macfarlane // *Eur Respir J*. – 2001. – Vol. 17. – P. 200-205.
134. Metlay, J.P. Does this patient have community-acquired pneumonia? Diagnosing pneumonia by history and physical examination [Text] / J.P. Matlay, W.N. Kapoor, M.J. Fine // *JAMA*. – 1997. – Vol. 278. – N 17. – P. 1440-1445.
135. Metlay, J.P. Influence of age on symptoms at presentation in patients with community-acquired pneumonia [Text] / J.P. Metlay, R. Schulz, Y.H. Li [et al.] // *Archives of Internal Medicine*. – 1997. – Vol. 157. – N 13. – P. 1453-1459.
136. Moore, T.A. Cytokine immunotherapy during bacterial pneumonia: from benchtop to bedside [Text] / T.A. Moore, T.J. Standiford // *Semin. Respir. Infect.* – 2001. – Vol. 16. – N 1. – P. 27-37.
137. Mycoplasma pneumonia and community-acquired pneumonia [Text] / A.B. Dey [et al.] // *Natl Med J India*. – 2000. – Vol. 13. – N 2. – P. 66-70.
138. Ortqvist, A. Streptococcus pneumoniae: epidemiology, risk factors, and clinical features / A. Ortqvist, J. Hedlund, M. Kalin // *Semin Respir Crit Care Med*. – 2005. – Vol. 26. – P. 563-574.

139. Paradisi, F. Streptococcus pneumoniae as an agent of nosocomial infection: treatment in the era of penicillin of penicillin-resistant strains [Text] / F. Paradisi, G. Corti, R. Cinelli // Clin Microbiol Infect. – 2001. – Vol. 7. – N 4. – P. 34-42.
140. Pinsky, M.R. Functional Hemodynamic Monitoring [Text] / M.R. Pinsky, D. Payen. – Springer, 2005. – 422 p.
141. Pneumonia [Text] / edited by A. Torres and M. Woodhead. – European Respiratory monograph, 1997. – 262 p.
142. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults [Text] / J.G. Bartlett, S.F. Dowell, L.A. Mandell [et al.] // Clin Infect Dis. – 2000. – N 31. – 347-382.
143. Prevalence of Moraxella catarrhalis infections of lower respiratory tract in elderly patients [Text] / M.D. Tamang, S. Dey, R.K. Makaju [et al.] // Kathmandu University Medical Journal. – 2005. – Vol. 3. – N 1. – P. 39-44.
144. Prospective comparison of severity scores for predicting clinically relevant outcomes for patients hospitalized with community-acquired pneumonia [Text] / P.P. Yandiola [et al.] // Chest. – 2009. – Vol. 135. – P. 1572-1579.
145. Prospective study of prognostic factors in community-acquired bacteremic pneumococcal disease in 5 countries / M. Kalin // J Infect Dis. – 2000. – Vol. 182. – N 3. – P. 840-847.
146. Radiographic resolution of community-acquired pneumonia [Text] / R.L. Mittl Jr., R.J. Schwab, J.S. Duchin, [et al.] // Am J Respir Crit Care Med. – 1994. – Vol. 149. – P. 630-635.
147. Respiratory fluoroquinolones for the treatment of community-acquired pneumonia: a meta-analysis of randomized controlled trials [Text] / K.Z. Vardakas [et al.] // CMAJ. – 2008. – Vol. 179. – N 12. – P. 1269-1277.

148. de Roux, A. Viral community-acquired pneumonia in nonimmunocompromised adults [Text] / A. de Roux, M.A. Marcos, E. Garcia [et al.] // Chest. – 2004. – Vol. 125. – N 4. – P. 1343-1351.
149. Savage, P.C. The normal human microflora composition in the regulatory and protective role of the normal microflora [Text] / P.C. Savage, R. Grubb [et al.] – New York. : W.- Stocton Press, 1989. – 357 p.
150. Single-cell analysis: a novel approach to tumour necrosis factor-alpha synthesis and secretion in sarcoidosis [Text] / P. Pantelidis, D.S. McGrath, A.M. Southcott [et al.] // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20. – P. 1179-1184.
151. Short- versus long-course antibacterial therapy for community-acquired pneumonia: a meta-analysis [Text] / G. Dimopoulos [et al.] // Drugs. – 2008. – Vol. 68. – N 13. – P. 1841-1854.
152. Systematic review and meta-analysis of a urine-based pneumococcal antigen test for diagnosis of community-acquired pneumonia caused by Streptococcus pneumoniae / A. Sinclair [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2013. – Vol. 51. – N 7. – P. 2303-2310.
153. Update of practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in immunocompetent adults [Text] / L.A. Mandell, J.G. Bartlett, S.F. Dowell [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2003. – Vol. 37. – P. 1405-1433.
154. Use of serology and urine antigen detection to estimate the proportion of adult community-acquired pneumonia attributable to Streptococcus pneumonia / J.P. Watt [et. al] // Epidemiol. and Infect. – 2010. – Vol. 138. – P. 1796-1803.
155. Zackon, H. Pulmonary differential diagnosis. - W.B. Saunders, 2000. – 234 p.