

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Каргальцева Н.М.¹, Борисова О.Ю.¹, Кочеровец В.И.², Миронов А.Ю.^{1,5}, Карпова Е.И.³, Данищук О.И.³, Сапронова Е.В.⁴, Петрачкова Е.А.⁴, Пименова А.С.¹, Гадуа Н.Т.¹, Чагина И.А.¹

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВНЕГОСПИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА ПРИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Минздрава РФ», 119991, Москва, Россия;

³ООО «Клиника Данищука», 107045, Москва, Россия;

⁴СПБ ГБУЗ «Городская поликлиника № 75», специализированная централизованная бактериологическая лаборатория, 196135, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА», 115682, Москва, Россия

Внегоспитальные инфекции кровотока (ВГИК) возникают во внебольничной обстановке (44%) и увеличивают число случаев общей летальности при инфекции кровотока (ИК) на 7,2% в год. Развитие ВГИК зависит как от коморбидных и полиморбидных заболеваний, так и от возраста пациентов. Источниками ВГИК являются респираторный, гепатобилиарный, желудочно-кишечный, урогенитальный тракты, стоматологические вмешательства в полости рта. Этиология ВГИК характеризуется выделением коагулазонегативных стафилококков (КНС) (32%), E. coli (27%). Цель исследования: изучить ВГИК у терапевтических пациентов. В исследование включены внегоспитальные пациенты (n=382). Внутривенно отбирали 4,5 мл крови в закрытую вакуумную систему для получения лейкоцитарного слоя крови, из которого готовили мазки для микроскопии и сеяли на чашки Петри с кровяным агаром для культивирования в аэробных и анаэробных условиях. Клинические изоляты идентифицировали методом масс-спектрометрии. Для экспресс-диагностики ИК использована микроскопия мазка крови. ИК диагностирована у 183 (48,0%) из 382 внегоспитальных пациентов. Этиология ВГИК изучена на 297 клинических изолятах микроорганизмов. ВГИК чаще осложняла основное заболевание у женщин и лиц молодого возраста. Спектр возбудителей ВГИК включал аэробные и анаэробные бактерии и грибы. Среди бактерий чаще выделяли грамположительные кокки с преобладанием S. epidermidis (25,7%). В анаэробных условиях дали рост 70% всех выделенных возбудителей. ВГИК характеризовалась ассоциацией (33,5%) от двух до четырёх видов микроорганизмов в одной гемокультуре. При микроскопии мазков крови микроорганизмы обнаружены в 97,1% случаев, включая ассоциации бактерий и грибов (66,9%). ВГИК развивалась после контурной пластики, при заболеваниях органов дыхания, мочеполовой системы, полости рта, кожи и подкожной клетчатки. Микробиологическое исследование лейкоцитарного слоя крови является альтернативным методом клинической лабораторной диагностики ВГИК, включающим микроскопию мазка крови и посев крови, обладающим высокой диагностической эффективностью (97,1% и 48%, соответственно), который может служить вариантом замещения импортных гемокультуральных автоматизированных систем.

Ключевые слова: инфекция кровотока; внегоспитальные терапевтические больные; лейкоцитарный слой; гемокультура; мазок крови.

Для цитирования: Каргальцева Н. М., Борисова О. Ю., Кочеровец В. И., Миронов А. Ю., Карпова Е.И., Данищук О.И., Сапронова Е.В., Петрачкова Е.А., Пименова А.С., Гадуа Н.Т., Чагина И.А. Лабораторная диагностика внегоспитальной инфекции кровотока при терапевтической патологии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (10): 581-587. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-10-581-587>

Для корреспонденции: Каргальцева Наталья Михайловна, канд. мед. наук, науч. сотр.; e-mail: kargaltseva@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 17.05.2022

Принята к печати 26.05.2022

Опубликовано 14.10.2022

Kargaltseva N.M.¹, Borisova O.Yu.¹, Kocherovets V.I.², Mironov A.Yu.^{1,5}, Karpova E.I.³, Danishuk O.I.³, Sapronova E.V.⁴, Petrachkova E.A.⁴, Pimenova A.S.¹, Gadua N.T.¹, Chagina I.A.¹

LABORATORY DIAGNOSIS OF COMMUNITY-ACQUIRED BLOODSTREAM INFECTION IN THERAPEUTIC PATHOLOGY

¹G. N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russian Federation;

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

³LLC «Danishuk's clinic», 107045, Moscow, Russia;

⁴SPB GBUZ «City Polyclinic № 75», specialized centralized bacteriological laboratory, 196135, St. Petersburg, Russia;

⁵Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, 125212, Moscow, Russian Federation

Community-acquired bloodstream infections (CBSIs) occur in the out-of-hospital setting (44%) and increase the overall mortality from bloodstream infections (BSIs) by 7.2% per year. The development of CBSIs depends on both comorbid and polymorbid diseases and the patients' age. The causes of CBSIs are: respiratory, hepatobiliary gastrointestinal and urogenital tracts and dental interventions. The etiology of CBSIs is characterized by the isolation of coagulase-negative staphylococci (CNS) (32%), E. coli (27%). To investigate community-acquired bloodstream infection in therapeutic patients. The study included out-of-hospital patients (n=382). 4.5 ml of blood were taken intravenously into a closed vacuum system in order to obtain a buffy coat of blood, which was put on glasses for microscopy and Petri dishes with blood agar for cultivating under aerobic and anaerobic conditions. Microorganisms were identified by mass spectrometry. Microscopy of blood smears was used for rapid diagnosis of infection in the bloodstream. BSI was diagnosed in 183 (48.0%) out of 382 out-of-hospital patients. The etiology of CBSIs was studied on 297 isolated strains of microorganisms. CBSIs rather often complicated the underlying disease in women and young people. The spectrum of CBSI pathogens included aerobic and anaerobic bacteria and fungi. Gram-positive cocci with the leadership of S. epidermidis (25.7%) were more often isolated among bacteria. 70% of all isolated pathogens grew under anaerobic conditions. CBSIs were characterized by polymicrobiality (33.5%) of two to four different microorganisms in one blood culture; the species of associates of polymicrobial blood cultures are shown. Microscopic examination of blood smears revealed microorganisms in 97.1% of cases, including associations of bacteria with fungi (66.9%). CBSIs occurred after contour plastic, in diseases of the respiratory system, genitourinary system, oral cavity, skin and subcutaneous tissue. Microbiological examination of the buffy coat is an alternative microbiological method of CBSIs diagnosis, which includes microscopy and blood cultivating and has a high diagnostic efficiency (97.1% and 48% respectively). It can become an option for replacing imported blood culture automated systems.

Key words: bloodstream infection; out-of-hospital therapeutic patients; buffy coat; blood culture; blood smear.

For citation: Kargaltseva N.M., Borisova O.Yu., Kocherovets V.I., Mironov A.Yu., Karpova E.I., Danishuk O.I., Sapronova E.V., Petrachkova E.A., Pimenova A.S., Gadua N.T., Chagina I.A. Laboratory diagnosis of community-acquired bloodstream infection in therapeutic pathology. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (10): 581-587 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-10-581-587>

For correspondence: Kargaltseva N. M., Ph.D. (Medicine), researcher; e-mail: kargaltseva@mail.ru

Information about authors:

Kargaltseva N.M., <https://orcid.org/0000-0002-3245-5486>;
Borisova O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>;
Kocherovets V.I., <https://orcid.org/0000-0001-7720-670X>;
Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Karpova E.I., <https://orcid.org/0000-0003-0510-1022>;
Danishuk O.I., <https://orcid.org/0000-0002-0022-4923>;
Pimenova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>;
Gadua N.T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;
Chagina I.A., <https://orcid.org/0000-0003-2867-9548>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 17.05.2022
Accepted 26.05.2022
Published 14.10.2022

Введение. Внегоспитальные инфекции кровотока (ВГИК) развиваются во внебольничной обстановке за 48 час до поступления пациента в стационар [1]. За счёт ВГИК увеличивается число случаев общей летальности при инфекции кровотока (ИК) на 7,2% в год [2]. Наблюдается рост количества эпизодов ВГИК (44%) и уровень летальности: при диализе (16%), инвазивных микозах у онкогематологических больных (20%), иммунодефицитных состояниях (57%), пневмонии (63,2%), целлюлите (37%) [2–8].

В развитии ВГИК играют роль коморбидные и полиморбидные заболевания при: ревматизме, остеомиелите, инфекции кожи и мягких тканей, пневмонии, сердечно-сосудистых заболеваниях, диабете [9, 10]. Возраст является фактором риска развития ВГИК: с 19 до 64 лет (43%) и с 65 до 79 лет (28%), и связан с показателями инвалидности и смертности, больше страдают мужчины, чем женщины, из-за курения и употребления алкоголя [1, 2, 11, 12]. У больных до 60 лет отмечено преобладание грамположительной бактериемии (Б) (54,3%) над грамтрицательной (47,6%) с летальностью до 35,3% случаев, у больных старше 60 лет – грамтрицательной бактериемии (52,4%) над

грамположительной (45,7%) с более высокой летальностью (44,9%). В случае *Staphylococcus aureus* бактериемии летальность больных до 60 лет составляла 41,9%, старше 60 лет – 60,6% случаев. По данным ВОЗ внебольничная пневмония представляет серьёзную проблему из-за стёртого характера клинических симптомов, инвалидности и летальности [13]. К прогностическим факторам ВГИК относят сопутствующую патологию (30%), опухоли, онкогематологические заболевания (24,2%), иммунокомпрометированных пациентов (31%) [1, 12].

Источником Б при ВГИК являются: респираторный (20%), гепатобилиарный (8%), желудочно-кишечный (13%), мочеполовой тракты (58%), кишечник (30,5%), полость рта [14, 15]. Одонтогенная Б развивается вслед за чисткой зубов обычной зубной щёткой спустя 5 мин (61%), через 15-30 мин или спустя 5-8 час после любой манипуляции в полости рта: удаление зуба (60%), зубных камней (88%) [15].

Классификация ИК включает: 1) истинную ВГИК (36%); 2) инфекцию у пациента, недавно выписанного из стационара (11%); 3) инфекцию, ассоциированную с инвазивными процедурами, выполненными до или во

время госпитализации (4%); 4) инфекцию у больных, поступивших из дома престарелых (7%); 5) госпитальную инфекцию кровотока (ГИК) (41%). ВГИК разделяют на 4 группы (А, В, С, D) и дополнительно группу «С», включающую 5 подгрупп (С1, С2, С3, С4, С5) [2].

Ведущими возбудителями ВГИК являются коагулазонегативные стафилококки (КНС) (32%), *Escherichia coli* (27%), *Staphylococcus aureus* (21,3%), *Klebsiella pneumoniae* (8,2%) *Pseudomonas aeruginosa* (5,3%), *Enterococcus faecalis* (5,2%), грибы [2, 16 -18]. В развивающихся странах Юга и Юго-Восточной Азии в этиологии ВГИК преобладают (70,7%) грамотрицательные палочки: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* [1, 2, 19 – 21]. В развитых странах возбудителем ВГИК является *Streptococcus pneumoniae* на фоне хронических заболеваний лёгких (31%) и сердечной недостаточности (15,6%) [2, 22]. *K. pneumoniae* – частый возбудитель ВГИК, ассоциированный с коморбидными состояниями и инвазивными процедурами (90%) [2, 22]. *Rhodococcus equi* и *Sarcina ventriculi*, постоянно циркулирующие в крови у населения Финляндии, отнесены к редкому рецессивному наследственному заболеванию в Финляндии [23].

В России микробиологическое исследование крови до 2020 г. проводили согласно Приказу Минздрава СССР № 535 от 1985 г.¹. Отечественные техники получения гемокультуры не показали оптимального решения проблемы, что требовало кардинально изменить методологию диагностики ИК. С этой целью использованы принципы оптимизации гемокультуривания при диагностике ВГИК [24-26]. Для экспресс-диагностики ИК используют микроскопию мазка крови, которая начала применяться более века назад [27-29]. Разработана техника приготовления мазка крови из лейкоцитарного слоя пробы цельной крови, поскольку лейкоцитарный слой – концентрат микроорганизмов, находящихся в данной пробе крови. В мазках крови обнаруживают бактерии, дрожжевые клетки и псевдогифы грибов рода *Candida*, наблюдают явление фагоцитоза. По результатам микроскопии мазка крови диагностируют заболевания и назначают эмпирическую антимикробную терапию до получения результатов посева крови при бабезиозе, *Mycobacterium avium complex* диссеминированной инфекции, СПИДе, токсоплазмозе, системном кандидозе, пневмококковой бактериемии, гистоплазмозе, лейшманиозе, малярии, лепре [30, 31]. Гемокультура подтверждает результаты микроскопического исследования крови. Разработанная техника микроскопии диагностирует бактериозы, микозы, паразитозы [27].

Цель исследования – оптимизация лабораторной диагностики инфекции кровотока у внегоспитальных пациентов терапевтического профиля.

Материал и методы. В исследование включены внегоспитальные пациенты ($n=382$), проходившие микробиологическое исследование крови в СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 75» специализированной

централизованной бактериологической лаборатории и клинико-диагностическом центре ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора в период 2000-2019 гг. с заболеваниями различных систем организма: органов дыхания, кожи и подкожной клетчатки, органов пищеварения, мочеполовой, полости рта, осложнениями после пластической хирургии, лихорадкой неясного происхождения по направлениям клиницистов из лечебно-профилактических организаций по подозрению ИК. Для сбора информации использована разработанная карта, включающая: анамнез, клинические и клинико-лабораторные данные.

Посев и микроскопию лейкоцитарного слоя периферической крови проводили согласно МР². Внутривенно отбирали 4,5 мл крови в закрытую вакуумную систему для крови с цитратом натрия. После центрифугирования лейкоцитарный слой наносили на предметные стекла для окраски по Граму с последующей микроскопией и сеяли на чашки Петри с кровяным агаром для культивирования в аэробных и анаэробных условиях [26]. Посевы инкубировали при 37° С. Колонии микроорганизмов, выросшие на плотной питательной среде, изучали с использованием стереоскопических микроскопов МСП-1 (ЛОМО, Россия), SteREO Discovery V12 (Carl Zeiss, Германия), объектив PlanApo S 1,0×FWD 60 мм и окуляр PI 10×23 Br foc. Культуральные свойства выросших микроорганизмов изучали по характеру выросших колоний, наличию гемолиза. Морфологические и тинкториальные свойства изучали микроскопией мазков, окрашенных по Граму. Биохимические свойства определяли по выявлению ферментативной активности с помощью коммерческих биохимических тест-систем и на бактериологическом анализаторе AutoSCAN-4 (Siemens Healthcare Diagnostics MicroScan, Германия). Клинические изоляты идентифицировали методом MALDI-ToF масс-спектрометрии при помощи VITEK[®] MS (bioMérieux, Франция) и анализатора микробиологического «VactoSCREEN» («Литех», Россия), включающий MALDI масс-спектрометр и программное обеспечение для управления анализом и идентификации микроорганизмов «VactoSCREEN-ID». Для микроскопии использовали микроскоп МИКРОМЕД-1, иммерсионный объектив МИ 90-1,25 и окуляр К 7* (ЛОМО, Россия), Axio Scope A1 (объектив EC Plan-NEOFLUAR 100 x 1,3; окуляр PI 10 x 23 Br foc, Carl Zeiss, Германия).

Для статистической обработки данных использован пакет программ статистического анализа Statistica 10. При сравнении использован критерий χ^2 (хи-квадрат) или критерий Фишера.

Результаты. ИК анализировали у внегоспитальных терапевтических пациентов по результатам микроскопического и культурального исследования проб крови 382 пациентов. ИК верифицирована выделением гемокультуры у 183 (48,0%) больных и обнаружением микроорганизмов в 329 (97,1%) мазках из

¹Приказ Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

²Методические рекомендации «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга; 2010 г.

MICROBIOLOGY

339 мазков крови внегоспитальных пациентов. Этиология ВГИК изучена на 297 клинических изолятах и 329 мазках крови с положительными результатами.

Из клинических симптомов у внегоспитальных больных отмечали повышенную температуру тела (61,7%) и озноб (81,4%). Гендерные и возрастные особенности внегоспитальных больных с подтвержденной ВГИК представлены в табл. 1.

ВГИК чаще осложняла основное заболевание у женщин (65,6%), чем у мужчин (34,4) ($p < 0,001$), и у лиц молодого возраста (74,9%). Микроорганизмы, выделенные из крови больных при ВГИК, представлены в табл. 2.

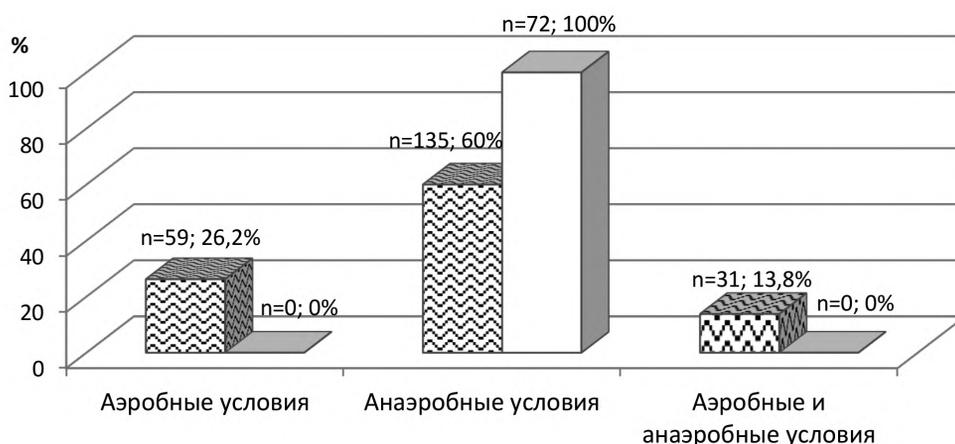
Спектр возбудителей ВГИК включал аэробные и анаэробные бактерии (73,4% и 24,2%, соответственно) и грибы (2,4%). Чаще выделялись грамположительные кокки (51,4%) с преобладанием *S.epidermidis* (25,7%), реже – *S. aureus* (4,4%). Зарегистрирован рост грамотри-

цательных палочек (9,6%), включая *E. coli* (0,3%). Грибы рода *Candida* высевались чаще плесневых грибов.

Эффективность применения анаэробных условий при бактериологическом исследовании крови представлена на рисунке.

Из 297 клинических изолятов 225 штаммов факультативно-анаэробных микроорганизмов дали рост в аэробных (26,2%), анаэробных (60,0%) и в аэробно-анаэробных (13,8%) условиях культивирования. Дополнительно получено 72 штамма облигатных анаэробов. Анаэробная атмосфера дополнительно обеспечила рост 207 штаммам (70%) факультативных и строгих анаэробов, как потенциальных возбудителей ИК.

ВГИК характеризовалась смешанными гемокультурами (33,5%). Число ассоциантов в одной пробе крови составляло от двух до четырёх видов. Видовой спектр смешанных гемокультур представлен в табл. 3.



Выделение микроорганизмов при разных газовых условиях культивирования

Таблица 1

Внегоспитальные больные с ВГИК

Показатели	Внегоспитальные больные с ИК (n=183)				
	Пол		Возраст, годы		
	мужчины	женщины	(10-44 лет)	(45-60 лет)	(61-75 лет)
Абс.	63	120	137	36	10
%	34,4	65,6	74,9	19,7	5,5
95% ДИ	27,9-41,6	58,4-72,1	68,1-80,6	14,6-26,0	3,0-9,8

Таблица 2

Микроорганизмы, выделенные из крови внегоспитальных больных

Показатели	Характеристика штаммов микроорганизмов (n=297)								
	Аэробные			Анаэробные			Грибы		
	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
Всего (n=297)	218	73,4	68,1-78,1	72	24,2	19,7-29,4	7	2,4	1,1-4,8
Индекс встречаемости С, % (n=206)	105,8			35,0			3,4		
	Бактерии (n=290)						Грибы (n=7)		
Показатели	Грамм ⁺ кокки	Грамм ⁺ палочки	Грамм ⁻ короткие палочки	Грамм ⁻ палочки	Дрожжи	Плесени			
Количество	149	107	6	28	4	3			
%	51,4	36,9	2,1	9,6	4/7	3/7			
95% ДИ	45,6-57,1	31,5-42,6	1,0-4,4	6,8-13,6	-	-			

Видовой спектр смешанных гемокультур у больных с ВГИК

Вид микроорганизмов	Количество штаммов (n=159)		Индекс встречаемости С, % (n=69)
	абс.	%	
Аэробные микроорганизмы	116	73,0	168,1
Грамположительные кокки	69	43,4	100,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	4,4	10,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	36	22,6	52,2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3	1,9	4,3
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	1,3	2,9
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	1,9	4,3
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	0,6	1,4
<i>Micrococcus luteus</i>	1	0,6	1,4
<i>Streptococcus mitis</i>	8	5,0	11,6
<i>Streptococcus mutans</i>	1	0,6	1,4
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	1,3	2,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	1,9	4,3
<i>Enterococcus faecium</i>	2	1,3	2,9
Грамположительные палочки, в том числе:	20	12,6	29,0
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1	0,6	1,4
<i>Corynebacterium bovis</i>	4	2,5	5,8
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	2	1,3	2,9
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	1	0,6	1,4
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1	0,6	1,4
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1	0,6	1,4
<i>Corynebacterium</i> spp.	6	3,8	8,7
<i>Tsukamurella paurometabola</i> ****	1	0,6	1,4
Грамположительные аэробы, в том числе:	1	0,6	1,4
<i>Nocardia</i> spp.	1	0,6	1,4
<i>Actinomyces</i> spp.	1	0,6	1,4
Грамположительные споровые палочки:	2	1,3	2,9
<i>Bacillus cereus</i>	1	0,6	1,4
<i>Bacillus subtilis</i>	1	0,6	1,4
Грамотрицательные кокки и кокко-бактерии:	5	3,1	7,2
<i>Neisseria flavescens</i>	1	0,6	1,4
<i>Branhamella catarrhalis</i> **	1	0,6	1,4
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	3	1,9	4,3
Грамотрицательные палочки, в том числе:	20	12,6	29,0
<i>Escherichia coli</i>	1	0,6	1,4
<i>Serratia marcescens</i>	1	0,6	1,4
<i>Serratia liquefaciens</i>	4	2,5	5,8
<i>Serratia marinorubra</i> *	2	1,3	2,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1,3	2,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2,5	5,8
<i>Pseudomonas putida</i>	1	0,6	1,4
<i>Burkholderia cepacia</i> ***	4	2,5	5,8
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	0,6	1,4
Анаэробные микроорганизмы	38	23,9	55,1
Грамположительные кокки	4	2,5	5,8
<i>Peptococcus</i> spp.	4	2,5	5,8
Грамположительные палочки	33	20,8	47,8
<i>Bifidobacterium</i> spp.	2	1,3	2,9
<i>Cutibacterium acnes</i> *****	31	19,5	44,9
Грамотрицательные палочки	1	0,6	1,4
<i>Fusobacterium</i> spp.	1	0,6	1,4
Грибы	5	3,1	7,2
<i>Candida albicans</i>	1	0,6	1,4
<i>Rhodotorula</i> spp.	1	0,6	1,4
<i>Aspergillus niger</i>	3	1,9	4,3

Примечание. * – *Serratia marinorubra* (до 1980 г. *S.rubidaea*); ** – *Branhamella catarrhalis* (до 1980 г. *Moraxella catarrhalis*); *** – *Burkholderia cepacia* (до 1993 г. *Pseudomonas cepacia*); **** – *Tsukamurella paurometabola* (до 1988 г. *Corynebacterium paurometabolum*); ***** – *Cutibacterium acnes* (до 2016 г. *Propionibacterium acnes*).

Среди ассоциантов смешанных гемокультур преобладали аэробные грамположительные кокки (43,4%). Индекс встречаемости (ИВ), используемый в медицине, подтвердил их лидерство (100,0%). Ведущими ассоциантами по ИВ являлись *S. epidermidis* (52,2%) и *S. aureus* (10,1%). Ассоциантами смешанных гемокультур также являлись анаэробные бактерии (23,9%) и грибы (3,1%).

Для оценки диагностической эффективности микроскопического метода проанализированы результаты микроскопии 339 мазков лейкоцитарного слоя крови внегоспитальных пациентов. Микроорганизмы обнаружены в 329 мазках крови (97,1%) в разных соотношениях: бактерии (31,0%), грибы (2,1%), ассоциации бактерий с грибами (66,9%). Ассоциация бактерий с грибами приобретает важное патогенетическое значение [32]. Микроскопическая техника исследования крови позволила обнаружить элементы диморфных грибов рода *Candida* в виде дрожжевых клеток и гиф (69,0%), не дающих рост в гемокультурах.

Обсуждение. В России гемокультивирование при диагностике ИК проводилось до 2020 г. согласно Приказу Минздрава СССР № 585, на ручных и автоматизированных импортных гемокультуральных системах и показывало низкую диагностическую эффективность, что послужило толчком к разработке альтернативного метода диагностики ИК. В крови циркулирует малое количество микроорганизмов, поэтому необходимо использовать концентрат микроорганизмов, которым является лейкоцитарный слой пробы крови. Анаэробная техника при гемокультивировании показана, как основополагающий приём, для выделения факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных микроорганизмов [33, 34].

ВГИК диагностирована у 48% пациентов, чаще у женщин и у лиц молодого возраста. Этиология ВГИК характеризуется выделением аэробных и анаэробных бактерий и грибов. Среди аэробов преобладает *S. epidermidis*. Полимикробность гемокультур (33,5%) при ВГИК внегоспитальных терапевтических пациентов определяется числом ассоциантов от двух до четырёх в одной пробе крови. Анаэробные условия гемокультивирования способствуют выделению 70% потенциальных возбудителей ВГИК и повышению эффективности выделения возбудителей из крови на 40%. Экспрессный результат микроскопического метода при диагностике ВГИК имеет важное клиническое значение в обнаружении бактерий, дрожжевых клеток, нитей псевдомонелии грибов, ассоциаций бактерий с грибами на фоне отсутствия выделения их из крови.

Заключение. Сочетание микроскопического и культурального методов для диагностики ВГИК у терапевтических пациентов можно отнести к альтернативным методам клинической лабораторной диагностики ИК. Применение лейкоцитарного слоя крови имеет ряд преимуществ: минимальный объём взятия крови (4,5 мл), удобная доставка материала (пробирка), временной резерв от момента взятия крови до исследования (4 часа), одномоментное использование

микроскопического и культурального методов микробиологической диагностики, сокращение времени получения результата, повышение диагностического потенциала ИК. Сочетание микроскопического и культурального методов диагностики ИК является вариантом замещения импортных гемокультуральных автоматизированных систем закрытого типа и флаконов к ним при микробиологическом исследовании крови [35].

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 7, 11-14, 16-17, 19-25, 27-30 см. REFERENCES)

3. Дворецкий Л.И., Яковлев С.В. Инфекционная патология в клинике внутренних болезней. *Терапевтический архив*. 2018; 11: 112-9.
4. Лычёв В.Г., Клестер Е.Б. Пневмония, связанная с оказанием медицинской помощи, и внебольничная пневмония: сравнительная характеристика, оптимизация лечения. *Фундаментальные исследования*. 2012; 7: 111-5.
5. Полибин Р.В., Миндлина А.Я., Герасимов А.А., Брико Н.И. Сравнительный анализ смертности от инфекционных болезней в Российской Федерации и некоторых странах Европы. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 94(3): 4-10.
6. Полухина О.В., Суборова Т.Н., Кузин А.А., Петров А.Н., Осовских В.В., Гранов Д.А. и др. Спектр возбудителей бактериемии у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного происхождения. *Инфекция и иммунитет*. 2014; 4(1): 43-8.
8. Миронов А. Ю., Савицкая К.И., Воробьёв А.А. Микрофлора гнойно-септических заболеваний у больных в Московской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2000; 5: 11-5.
9. Белялов Ф.И. Проблема коморбидности при заболеваниях внутренних органов. *Вестник современной клинической медицины*. 2010; 3(2): 44-7.
10. Тарловская Е.И. Проблема полиморбидности – вызов современной медицине. *Терапия*. 2017; 2: 4-14.
15. Недосеко В.Б., Гончаров А.П. Профилактика последствий транзиторной бактериемии. *Клиническая стоматология*. 2002; 3: 27-8.
18. Леонов В.В., Миронов А.Ю., Леонова Л.В., Никитина Л.Ю. Этиологическая структура и биологические свойства возбудителей инфекций кровотока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(11): 790-3. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-11-790-793.
26. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Миронов А.Ю., Борисова О.Ю. Метод получения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(3): 185-90. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190.
31. Федоренко А.С., Лукьянова П.М., Бурбелло А.Т., Каргальцева Н.М., Добрынина Н.В. Подбор антибактериальной терапии по данным экспресс-микроскопии и посева лейкоцитарного слоя крови. *Ремедиум. Журнал о рынке лекарств и медицинской техники*. 2011; 4: 141-2.
32. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Иванов А.М. Полимикробность гемокультур – современная тенденция в этиологии инфекции кровотока. *Практическая медицина*. 2012; 56(1): 56-61.
33. Воробьёв А.А., Миронов А.Ю., Пашков Е.П. Современные методы лабораторной диагностики инфекций, вызываемых неспорообразующими анаэробными бактериями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1996; 1: 14-6.
34. Миронов А. Ю. Современные подходы к лабораторной диагностике анаэробной неклостридиальной инфекции (лекция). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 8: 25-35.
35. Дятлов И.А., Миронов А.Ю., Шепелин А.П., Алёшкин В.А. Состояние и тенденции развития клинической и санитарной микробиологии в Российской Федерации и проблема импортозамещения. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60(8): 61-5.

REFERENCES

1. Son J.S., Song J-H., Ko K.S., Yeom J.S., Ki H.K., Kim S-W. et al. Bloodstream infections and clinical significance of healthcare-associated bacteremia: a multicenter surveillance study in Korean hospitals. *J. Korean. Med. Sci.* 2010; 25(7): 992-8.
2. Laupland K.B., Church D.L. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 27(4): 647-64.
3. Dvoretzkiy L.I., Yakovlev S.V. Infectious pathology in the clinic of internal diseases. *Terapevticheskiy arhiv.* 2018; 11: 112-9. (in Russian)
4. Lychev V.G., Klester E.B. Health care-associated pneumonia and community-acquired pneumonia: comparative characteristics, optimization of treatment. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2012; 7: 111-5. (in Russian)
5. Polibin R.V., Mindlina A.Ya., Gerasimov A.A., Briko N.I. Comparative analysis of mortality from infectious diseases in the Russian Federation and some European countries. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2017; 94(3): 4-10. (in Russian)
6. Poluhina O.V., Suborova T.N., Kuzin A.A., Petrov A.N., Osovskih V.V., Granov D.A. i dr. Spectrum of causative agents of bacteremia in patients with immunodeficiency states of various origins. *Infektsiya i immunitet.* 2014; 4(1): 43-8. (in Russian)
7. Dalgaard L.S., Norgaard M., Jespersen B., Jensen-Fangel S., Ostergaard L.J., Schonheyder H.C. et al. Risk and prognosis of bloodstream infections among patients on chronic hemodialysis: a population-based cohort study. *Plos One.* 2015; 10(4): 1-14.
8. Mironov A.Yu., Savitskaya K.I., Vorob'ev A.A. Microflora of purulent-septic diseases in patients in the Moscow region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2000; 5: 11-5. (in Russian)
9. Belyalov F.I. The problem of comorbidity in diseases of the internal organs. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny.* 2010; 3(2): 44-7. (in Russian)
10. Tarlovskaya E.I. The problem of polymorbidity is a challenge to modern medicine. *Terapiya.* 2017; 2: 4-14. (in Russian)
11. Holmbom M., Giske C.G., Fredrikson M., Balkhed A.O., Claesson C., Nilsson L.E. et al. 14-year survey in a Swedish country reveals a pronounced increase in bloodstream infections (BSI). Comorbidity – an independent risk factor for both BSI and mortality. *PLoS One.* 2016; 11(11): e0166527.
12. Jensen U.S., Knudsen J.D., Wehberg S., Gregson D.B., Laupland K.B. Risk factors for recurrence and death after bacteraemia: a population-based study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17(8): 1148-54.
13. Reddy B.C., Preeti K.N., Reddy C.M. A study of prognosis and outcome of community acquired pneumonia in a tertiary care centre. *Int. J. Current. Microbiology and Applied Sciences.* 2015; 4(8): 763-9.
14. Huson M.A.M., Stolp S.M., van der Poll T., Grobusch M.P. Community –acquired bacterial bloodstream infections in HIV – infected patients: a systematic review. *Clin. Inf. Dis.* 2014; 58(1): 79-92.
15. Nedoseko V.B., Goncharov A.P. Prevention of the consequences of transient bacteremia. *Klinicheskaya stomatologiya.* 2002; 3: 27-8. (in Russian)
16. Diekema D.J., Hsueh P.R., Mendes R.E., Pfaller M.A., Rolston K.V., Sader H.S. et al. The microbiology of bloodstream infections: 20-year trends from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrobial. Agents and Chemotherapy.* 2019; 63(7): 1-10.
17. Takeshita N., Kawamura J., Kurai H., Araoka H., Yoneyama A., Fujita T. et al. Unique characteristics of community-onset healthcare-associated bloodstream infections: a multi-centre prospective surveillance study of bloodstream infections in Japan. *J. Hosp. Infect.* 2017; 96(1): 29-34.
18. Leonov V.V., Mironov A.Yu., Leonova L.V., Nikitina L.Yu. Etiological structure and biological properties of causative agents of bloodstream infections. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2016; 61(11): 790-3. DOI 10.18821/0869-2084-2016-11-790-793. (in Russian)
19. Courjon J., Demonchy E., Degand N., Risso K., Ruimy R., Roger P-M. Patients with community-acquired bacteremia of unknown origin: clinical characteristics and usefulness of microbiological results for therapeutic issues: a single-center cohort study. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16: 40-7.
20. Dat V.Q., Long N.T., Hieu V.N., Phuc N.D.H., Kinh N.V., Trung N.V. et al. Clinical characteristics, organ failure, inflammatory markers and prediction of mortality in patients with community acquired bloodstream infection. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18: 535-43.
21. Kanoksil M., Jatapai A., Peacock S.J. Epidemiology, microbiology and mortality associated with community-acquired bacteremia in northeast Thailand: A multicenter surveillance study. *Plos One.* 2013; 8(1): e54714.
22. Laupland K.B., Kibsey P.C., Gregson D.B., Galbraith J.C. Population-based laboratory assessment of the burden of community-onset bloodstream infection in Victoria, Canada. *Epidemiol. Infect.* 2013; 141(1): 174-80.
23. Tuuminen T., Suomala P., Vuorinen S. *Sarcina ventriculi* in blood: the first documented report since 1872. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 169-72.
24. Dilnessa T., Demeke G., Mengistu G., Bitew A. Emerging blood culture technologies for isolation of blood pathogens at clinical microbiology laboratories. *J. Med. Microb. Diagn.* 2016; 5(2): 1-7.
25. Lagier J-C., Edouard S., Pagnier I., Mediannikov O., Drancourt M., Raoult D. Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28(1): 208-36.
26. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Mironov A.Yu., Borisova O.Yu. Method for obtaining blood culture in the diagnosis of bloodstream infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2020; 65(3): 185-90. DOI 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190. (in Russian)
27. Hirai Y., Asahata S., Ainoda Y., Fujita T., Miura H., Hizuka N. et al. Candidemia diagnosed from peripheral blood smears: case report and review of literature 1954-2013. *Mycopathologia.* 2015; 180(1-2): 111-16.
28. Leitao T.M.J.S., Fiho A.M.P.O., Filho J.E.P.S., Tavares B.M., Mesquita J.R.L., Farias L.A.B.G. et al. Accuracy of buffy coat in the diagnosis of disseminated histoplasmosis in AIDS-patients in an endemic area of Brazil. *J. Fungi.* 2019; 5(2): 47-55.
29. Takihi I.Y., Sandes A.F. Killers on the road: *Klebsiella* and *Pseudomonas* bacteremia detected on peripheral blood smear. *Blood.* 2013; 122(11): 1851.
30. Year H., Poulain D., Lefebvre A., Camus D., Sendid B. Polymicrobial candidaemia revealed by peripheral blood smear and chromogenic medium. *J. Clin. Pathol.* 2004; 57: 196-8.
31. Fedorenko A.S., Lukyanova P.M., Burbello A.T., Kargaltseva N.M., Dobrinina N.B. Selection of antibacterial therapy according to express microscopy and culture of the blood leucolayer. *Remedium. Zhurnal o rynke lekarstv i meditsinskoy tekhniki.* 2011; 4: 141-2. (in Russian)
32. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Ivanov A.M. Polymicrobiality of blood cultures is a modern trend in the etiology of bloodstream infection. *Prakticheskaya meditsina.* 2012; 56(1): 56-61. (in Russian)
33. Vorob'ev A.A., Mironov A.Yu., Pashkov E.P. Modern methods of laboratory diagnostics of infections caused by non-spore-forming anaerobic bacteria. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 1996; 1: 14-6. (in Russian)
34. Mironov A.Yu. Modern approaches to laboratory diagnostics of anaerobic non-clostridial infection (lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2011; 8: 25-35. (in Russian)
35. Dyatlov I.A., Mironov A.Yu., Shepelin A.P., Aleshkin V.A. Status and trends in the development of clinical and sanitary microbiology in the Russian Federation and the problem of import substitution. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2015; 60(8): 61-5. (in Russian)