

© CC BY Коллектив авторов, 2020
УДК 616.25-002.3-06-002.155:543.51
DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-3-40-47

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО И ХРОМАТО-МАСС- СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛЕВРАЛЬНОГО ЭКССУДАТА ПРИ ЭМПИЕМЕ ПЛЕВРЫ

Б. Н. Котив¹, И. И. Дзидзава¹, Т. Н. Суборова¹, Г. В. Валиев^{1*}, О. В. Баринов¹,
И. В. Дейнега², Т. М. Ворошилова³, В. В. Лищенко¹, А. Г. Платонова⁴,
В. В. Шведюк¹

¹ Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Общество с ограниченной ответственностью «Медбазис», Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 19.01.20 г.; принята к печати 27.05.20 г.

ЦЕЛЬ. Определение возможности применения хромато-масс-спектрометрического исследования для выбора этиотропной терапии пациентам с эмпиемой плевры.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ. Проведен анализ результатов обследования и лечения 207 пациентов с эмпиемой плевры за период с 2017 по 2018 г. Всем пациентам выполнено бактериологическое исследование плеврального экссудата, из них 20 пациентам дополнительно проведено хромато-масс-спектрометрическое исследование. Пациенты переведены в специализированный торакальный стационар из других лечебных учреждений, где получали курс эмпирической антибактериальной терапии и было выполнено дренирование плевральной полости.

РЕЗУЛЬТАТЫ. При бактериологическом исследовании содержимого плевральной полости рост микрофлоры обнаружен у 112 (54,1 %) пациентов. Ведущими возбудителями были грамотрицательные бактерии, выделенные из содержимого плевральной полости у 45 % больных при закрытой и у 63,5 % – при открытой эмпиеме плевры. Преобладали полиантибиотикорезистентные штаммы *P. aeruginosa* (30,4 %), *K. Pneumoniae* (19,6 %) и *A. baumannii* (12,5 %), сохранявшие чувствительность к Полимиксину, а в ряде случаев – к Амикацину. У 25 (22,3 %) пациентов были обнаружены микромицеты рода *Candida*. Роста анаэробной микрофлоры не выявлено. При хромато-масс-спектрометрическом исследовании плеврального экссудата выявлены маркеры 30 таксонов бактерий, вирусов и грибов, превышавших норму более чем в 2 раза. Маркеры грамотрицательных бактерий не были обнаружены. Доля анаэробных микроорганизмов составила 76,6 %, при этом наибольшая концентрация выявлена для бактерий рода *Clostridium* и *Eubacterium*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Выбор этиотропной терапии пациентам с эмпиемой плевры затруднен в связи с отсутствием роста микрофлоры при посевах содержимого плевральной полости у 45,9 % пациентов, а также несовпадением результатов бактериологического и хромато-масс-спектрометрического исследования. Диагностические методы выявления возбудителей эмпиемы плевры требуют дальнейшего совершенствования.

Ключевые слова: эмпиема плевры, этиотропная терапия, плевральный экссудат, бактериологическое исследование, возбудитель, газовая хромато-масс-спектрометрия, микробный маркер

Для цитирования: Котив Б. Н., Дзидзава И. И., Суборова Т. Н., Валиев Г. В., Баринов О. В., Дейнега И. В., Ворошилова Т. М., Лищенко В. В., Платонова А. Г., Шведюк В. В. Сравнительный анализ результатов бактериологического и хромато-масс-спектрометрического исследования плеврального экссудата при эмпиеме плевры. *Вестник хирургии имени И. И. Грекова*. 2020;179(3):40–47. DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-3-40-47.

* **Автор для связи:** Георгий Валерьевич Валиев, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, 194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6. E-mail: georvaliev_777@mail.ru.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE RESULTS OF BACTERIOLOGICAL AND CHROMATO-MASS-SPECTROMETRIC STUDIES OF PLEURAL EXUDATE IN PATIENTS WITH PLEURAL EMPYEMA

Bogdan N. Kotiv¹, Il'ya I. Dzidzava¹, Tat'yana N. Suborova¹, Georgij V. Valiev^{1*}, Oleg V. Barinov¹, Igor' V. Deinega², Tat'yana M. Voroshilova³, Viktor V. Lishenko¹, Anna G. Platonova⁴, Viktor V. Shvedyuc¹

¹ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

² Pokrovskaya Municipal Hospital, Saint Petersburg, Russia

³ Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg, Russia

⁴ Medbазis, Saint Petersburg, Russia

Received 19.01.20; accepted 27.05.20

The OBJECTIVE was to determine the possibility of using chromatography-mass spectrometry to select causal treatment for patients with pleural empyema.

METHODS AND MATERIALS. The analysis of the results of examination and treatment of 207 patients with pleural empyema for the period from 2017 to 2018 was done. All patients underwent bacteriological examination, twenty patients from them underwent chromato-mass-spectrometric examination of pleural exudate.

RESULTS. Patients were transferred to a specialized thoracic hospital from other medical institutions, where they received a course of empirical antibacterial therapy and drainage of the pleural cavity was performed. Bacteriological examination of the contents of the pleural cavity was positive in 112 (54.1 %) patients. The leading pathogens were gram-negative bacteria isolated from the contents of the pleural cavity in 45 % of patients with closed and 63.5 % – open pleural empyema. Polyantibiotic-resistant stocks of *P. aeruginosa* (30.4 %), *K. pneumoniae* (19.6 %) and *A. baumannii* (12.5 %) prevailed, which remained sensitive to polymyxin and, in some cases, to amikacin. In 25 (22.3 %) patients, micromycetes of the genus *Candida* were found. No growth of anaerobic microflora was detected. Chromato-mass-spectrometric examination of pleural exudate revealed markers of 30 taxa of bacteria, viruses and fungi that exceeded the norm by more than two times. Markers of gram-negative bacteria were not detected. The proportion of anaerobic microorganisms was 76.6 %, with the highest concentration found for bacteria of the genus *Clostridium* and *Eubacterium*.

CONCLUSION. The choice of causal treatment for patients with pleural empyema is difficult due to the negative culturing from the contents of the pleural cavity in 45.9 % of patients, as well as the discordance between the results of bacteriological and chromato-mass-spectrometric studies. Diagnostic methods for detecting pathogens of pleural empyema require further improvement.

Keywords: pleural empyema, causal treatment, pleural exudate, bacteriological examination, pathogen, gas chromatography-mass-spectrometry, microbial marker

For citation: Kotiv B. N., Dzidzava I. I., Suborova T. N., Valiev G. V., Barinov O. V., Deinega I. V., Voroshilova T. M., Lishenko V. V., Platonova A. G., Shvedyuc V. V. Comparative analysis of the results of bacteriological and chromatography-mass-spectrometric studies of pleural exudate in patients with pleural empyema. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2020; 179(3):40–47. (In Russ.). DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-3-40-47.

* **Corresponding author:** Georgij V. Valiev, Military Medical Academy, 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia. E-mail: georvaliev_777@mail.ru.

Введение. Клиника госпитальной хирургии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова в течение многих десятилетий изучает проблему лечения пациентов с эмпиемой плевры (ЭП) и гнойно-деструктивными заболеваниями легких (ГДЗЛ) [1]. Исследованы этиологические факторы гнойного процесса, разработаны способы верификации микроорганизмов для назначения этиотропной антибиотикотерапии. Однако проблема лечения ЭП не теряет своей актуальности и в настоящее время [2]. Острые нагноительные заболевания плевры в последние годы имеют тенденцию к росту [3]. По данным литературы [1, 4], ЭП развивается как осложнение у 10–30 % больных абсцессами и гангренами легких. Операции на органах грудной клетки осложняются развитием ЭП в 2–5 % случаях [5]. Ранения и травмы груди приводят к развитию ЭП в 1,4 % случаев, основной причиной при этом яв-

ляется посттравматический плеврит [6]. У 4–20 % больных ЭП переходит в хроническую форму [7].

Всем пациентам с ЭП при поступлении в специализированный стационар назначается эмпирическая антибактериальная терапия, которая в случае необходимости корректируется на основании результатов бактериологического исследования [7, 8]. Для проведения исследования требуется посев образца клинического материала на специальные питательные среды с последующей идентификацией выделенных чистых культур на основании комплекса морфологических и биохимических свойств микроорганизмов и определение чувствительности возбудителей к антибактериальным препаратам. На проведение данного исследования требуется от 48 до 72 ч, что препятствует быстрому назначению этиотропной терапии инфекционным больным. Недостатком бактериологического исследования

является также невозможность оценить роль некультивируемых микроорганизмов.

Существуют различные молекулярно-биологические методы исследования, позволяющие выявлять возбудителя инфекции, обладающие высокой специфичностью и чувствительностью, скоростью и универсальностью. Так, с целью сокращения времени идентификации возбудителей применяются методы молекулярной диагностики, основанные на принципе полимеразной цепной реакции (ПЦР) [9]. К недостаткам технологий на основе ПЦР следует отнести ограниченный перечень идентифицируемых патогенов и невозможность количественной оценки, риск контаминации образцов во время подготовки проб, необходимость наличия сложного и дорогостоящего оборудования.

В настоящее время в практику внедряются физико-химические методы идентификации микроорганизмов, обладающие высокими временными характеристиками и специфичностью. Так, метод матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) позволяет сокращать время идентификации до нескольких минут [10], но для его использования необходимо предварительное выделение чистой культуры возбудителя. Поиск надежных методов лабораторного исследования продолжается. Одним из предложенных подходов является метод газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХМС) – метод масс-спектрометрии молекулярных признаков микроорганизмов, позволяющий одновременно измерять более сотни микробных маркеров в анализируемом материале без предварительного посева на питательные среды [11]. Он основан на качественном и количественном определении жирных кислот и альдегидов, а также их производных, входящих в состав клеточных стенок бактерий. ГХМС – комбинация двух аналитических инструментов: газовой хроматографии, обеспечивающей высокоэффективное разделение компонентов сложных смесей в газовой фазе, и масс-спектрометрии, позволяющей идентифицировать как известные, так и неизвестные компоненты смеси [12, 13]. В 2010 г. Росздравнадзором разрешено применение данного метода в качестве новой медицинской технологии «Оценка микробиологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» на территории Российской Федерации (Разрешение ФС 2010/038 от 24.12.2010 г.). Показанием к применению данной медицинской технологии является выявление и уточнение этиологии инфекционно-воспалительного процесса при любых нозологических формах заболеваний в клинической практике [10, 14].

Цель исследования – определить возможность применения хромато-масс-спектрометрического исследования для выбора этиотропной терапии пациентам с эмпиемой плевры.

Методы и материалы. За 2017–2018 гг. в клинике госпитальной хирургии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова проходили лечение 207 пациентов с ЭП. Среди них было 148 (71,5 %) мужчин и 59 (28,5 %) женщин. Медиана возраста составила 45 [18; 70] лет. Критериями исключения были возраст младше 18 и старше 70 лет, туберкулез, рак легкого, прогрессирующие неизлеченные заболевания в терминальной стадии, ВИЧ и выраженный вторичный иммунодефицит (например, после высокодозной полихимиотерапии). Забор клинического материала проводили во время торакоцентеза и дренирования плевральной полости в день поступления пациента до назначения антибактериальной терапии.

Всем пациентам проведено бактериологическое исследование плеврального экссудата. 20 пациентам выполнены хромато-масс-спектрометрический анализ плеврального экссудата и одновременное бактериологическое исследование.

Для бактериологического исследования плеврального экссудата использовали аэробные и анаэробные флаконы для анализатора Bact/Alert3D, готовые питательные среды: колумбийский агар с 5 %-й бараньей крови, шоколадный агар, агар Сабуро, агар Шедлера. Идентификацию выделенных микроорганизмов, а также определение их чувствительности к антибиотикам проводили на бактериологическом анализаторе Vitek-2.

Для хромато-масс-спектрометрического исследования плевральной жидкости собранный материал подвергался метанолизу в 400 мкл 1 М HCl в метаноле в течение 50 мин при 80 °С. В результате реакции метанолиза сложных липидов жирные кислоты освобождались в виде метиловых эфиров. Исследование проводили в соответствии с разработанным протоколом. Площади пиков маркеров интегрировали автоматически по заданной программе с использованием внутреннего стандарта. Для количественного расчета использовали данные калибровки по дейтерированной тридекановой кислоте.

В соответствии с представленным в литературе выработанным ранее статистическим критерием подсчета результатов метода ГХМС [15], считали, что отклонение от нормы приобретает клиническую значимость в том случае, когда численность микроорганизмов изменяется вдвое. За показатель нормы принимали содержание микробных маркеров в цельной крови. Выявленные микроорганизмы делили на группы резидентных бактерий, которые выделяются в норме более чем в 50 % случаев, транзитных – менее чем в 50 % случаев, а также микроскопических грибов, вирусов и микроорганизмов, которые в норме не встречаются.

Статистическую оценку значимости различий частоты случаев в группах пациентов проводили при помощи построения таблиц сопряженности и определения критерия χ^2 -квadrat и двухстороннего точного критерия Фишера.

Результаты. Из обследованных 207 пациентов у 157 (75,8 %) человек ЭП развилась как осложнение парапневмонического плеврита. ГДЗЛ привели к развитию ЭП у 26 (12,4 %) пациентов. У 13 (6,2 %) больных ЭП развилась как осложнение травмы грудной клетки. Операции на органах грудной клетки привели к развитию ЭП у 8 (4,1 %) человек, в 3 (1,4 %) наблюдениях ЭП развилась в результате попадания инородных тел в трахеобронхиальное дерево. Открытая ЭП (1-я группа) с бронхоплевральным сообщением – у 88 (42,5 %). Закрытая ЭП (2-я группа) выявлена у 119 (57,5 %) пациентов. У всех больных диагностирована внутрибольничная инфекция.

Таблица 1

Спектр микроорганизмов, выделенных из плеврального экссудата пациентов с эмпиемой плевры (n=112)

Table 1

Spectrum of microorganisms isolated from pleural exudate of patients with pleural empyema (n=112)

Микроорганизмы	Число случаев выделения клинического изолята	
	абс. (n)	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	6,3
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6	5,4
<i>Streptococcus viridans</i>	1	0,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	2,7
Всего ГПБ	21	18,8
<i>Citrobacterfreundii</i>	1	0,9
<i>Enterobactercloacae</i>	4	3,6
<i>Escherichiacoli</i>	7	6,3
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	22	19,6
Всего ЭБ	34	30,4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	14	12,5
<i>Alcaligenesfaecalis</i>	2	1,8
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	34	30,4
Всего НГОБ	50	44,6
Всего ГОБ	78	69,6
<i>Candida spp.</i>	25	22,3
Всего пациентов с наличием роста возбудителей	112	100,0

При микробиологическом исследовании плеврального экссудата у 207 пациентов с ЭП рост микрофлоры обнаружен только в 112 (54,1 %) случаях. Всего от 112 пациентов выделен 131 клинический изолят, в том числе 22 штамма грамположительных бактерий (ГПБ), 84 – грамотрицательных бактерий (ГОБ) и 25 – микромицетов. У 94 (84 %) обследованных были выделены монокультуры, а у 17 (15,1 %) – ассоциации из 2, а в 1 (0,9 %) случае – 3 возбудителей. ГПБ выделены из образца клинического материала 21 (18,8 %) пациента (*S. epidermidis* – 6,3 %, *S. haemolyticus* – 5,4 %, *S. aureus* – 4,5 %, *E. faecalis* – 2,7 %, *S. viridans* – 0,9 %). ГОБ получены от 78 (69,6 %) пациентов с ЭП, при этом энтеробактерии (ЭБ) выделены от 34 (30,4 %) больных (*K. pneumoniae* – 19,6 %, *E. coli* – 6,3 %, *E. cloacae* – 3,6 %, *C. freundii* – 0,9 %); неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) – от 50 (44,6 %) пациентов (*P. aeruginosa* – 30,4 %, *A. baumannii* – 12,5 %, *A. faecalis* – 1,8 %). Грибы рода *Candida* были обнаружены в 25 (22,3 %) наблюдениях (табл. 1).

При сопоставлении спектра микроорганизмов, выделенных из плеврального экссудата пациентов с открытой (1-я группа) и закрытой (2-я группа) ЭП, было обнаружено, что рост микрофлоры достоверно чаще выявлялся у пациентов 1-й группы (в 60 случаях из 88; 68,2 %), чем у пациентов 2-й (в 52 из 119 наблюдений; 43,7 %) ($p=0,0005$). Обнаружено, что ГПБ чаще принимали участие в развитии

инфекционно-воспалительного процесса при закрытой ЭП (в 14 (26,9 %) случаях), чем при открытой ЭП (у 7 (11,7 %) пациентов) ($p=0,0391$) (табл. 2).

ГОБ преобладали в спектре возбудителей как открытой, так и закрытой ЭП. Они обнаружены в плевральном экссудате у 45 (75 %) больных с открытой ЭП и у 33 (63,5 %) пациентов с закрытой, причем различие не было статистически значимым ($p=0,5741$). С равной частотой выделялись ЭБ, которые обнаружены у 18 (34,6 %) больных с закрытой ЭП и 16 (26,7 %) пациентов с открытой ЭП с бронхоплевральным сообщением. Среди них отмечено значимое выделение *Enterobactercloacae* – 4 (7,7 %) пациента с закрытой ЭП, тогда как при открытой ЭП с бронхоплевральным сообщением данный возбудитель не определялся ($p=0,0351$).

Вместе с тем установлено значимое различие частоты случаев выделения НГОБ (33 случая (55 %) при открытой и 17 случаев (32,7 %) при закрытой ЭП) ($p=0,0179$). При этом статистически значимым оказалось различие частоты выделения *P. aeruginosa*, которая при открытой ЭП встречалась почти в 3 раза чаще, чем при закрытой ($p=0,0052$). Грибы рода *Candida* несколько чаще выделялись у пациентов с закрытой ЭП (14 больных, 26,9 %), чем с открытой (11 больных, 18,3 %), но эти различия не были статистически значимыми ($p=0,3006$).

Среди общего числа пациентов роста микрофлоры не обнаружено в 95 (45,9 %) случаях, что

Таблица 2

Спектр микроорганизмов, выделенных из плеврального экссудата пациентов с открытой (n=60) и закрытой эмпиемой плевры (n=52)

Table 2

Spectrum of microorganisms isolated from pleural exudate of patients with open (n=60) and closed pleural empyema (n=52)

Микроорганизмы	Открытая эмпиема плевры		Закрытая эмпиема плевры		χ^2	p
	абс. (n)	%	абс. (n)	%		
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,7	4	7,7	2,16	0,1415
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	3,3	5	9,6	1,65	0,1990
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,7	5	9,6	3,11	0,0780
<i>Streptococcus viridans</i>	0	0	1	1,9	1,14	0,2852
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	5,0	0	0	2,54	0,1108
Всего ГПБ	7	11,7	14	26,9	2,90	0,0391
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	1	1,9	1,14	0,2852
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	4	7,7	4,44	0,0351
<i>Escherichia coli</i>	3	5,0	4	7,7	0,30	0,5817
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	21,7	9	17,3	0,23	0,6346
Всего ЭБ	16	26,7	18	34,6	0,44	0,5056
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	10,0	8	15,4	0,57	0,4492
<i>Alcaligenes faecalis</i>	2	3,3	0	0	1,71	0,1913
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	41,7	9	17,3	7,82	0,0052
Всего НГОБ	33	55,0	17	32,7	5,61	0,0179
Всего ГОБ	45	75,0	33	63,5	0,32	0,5741
<i>Candida spp.</i>	11	18,3	14	26,9	1,07	0,3006
Всего пациентов с наличием роста возбудителей	60	100,0	52	100,0		

указывает на необходимость применения дополнительных методов диагностики возбудителей ЭП. С этой целью использовали метод ГХМС, который, по литературным данным [16], позволяет качественно и количественно выявить в исследуемом образце содержание микробных маркеров более чем 50 видов и родов бактерий, микромицетов и вирусов, а результаты измерения концентраций микробных маркеров в крови с последующей реконструкцией микробного сообщества позволяют определить изменение общего микробиологического статуса больного, а также состав микст-инфекции в очаге поражения. Результаты измерения микробных маркеров путем ГХМС-анализа плеврального экссудата у 20 пациентов с ЭП позволили определить изменения микробиологического статуса больных. У 6 обследованных пациентов с ЭП не было обнаружено изменений показателей содержания микробных маркеров в плевральном экссудате, а у 14 выявлены превышения этих значений в разных сочетаниях. Более чем у половины пациентов отмечалось двукратное превышение маркеров таких возбудителей, как *Actinomyces viscosus*, бактерий рода *Clostridium* (*C. perfringens*, *C. propionicum*, *C. ramosum*, *C. tetani*), *Eubacterium spp.*, *Fusobacterium*, *Streptococcus mutans*). У 4–10 пациентов определялось двукратное превышение уровня маркеров *Lactobacillus spp.*,

Propionibacterium freudenreichii, *Rhodococcus spp.*, *Staphylococcus*, *Streptococcus spp.* В единичных случаях было выявлено повышение уровня маркеров *Alcaligenes spp.*, *Eggerthella lenta*, *Lactococcus spp.*, *Nocardia asteroides*, *Prevotella spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptomyces spp.* В плевральном экссудате 5 пациентов выявлено повышение уровня маркеров микроскопических грибов. Отмечалось более чем двукратное превышение уровня маркеров вируса Эпштейна – Барр и *Herpes simplex* у 7 пациентов.

При бактериологическом исследовании тех же образцов плеврального экссудата у 10 из 20 исследованных проб роста микрофлоры не обнаружено. В пробах остальных 10 пациентов были выявлены грибы рода *Candida* (5 случаев), *P. aeruginosa* (4 случая), *S. aureus* (3 случая). Выделялись также единичные штаммы *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter*, *S. haemolyticus*, *Burkholderia cepacia*, *S. pneumoniae* в различных сочетаниях.

При сравнительном анализе результатов представленных методов определения возбудителей ЭП выявлено, что у 5 пациентов при отсутствии роста микрофлоры, по результатам традиционного микробиологического исследования, также не определяется повышенное содержание микробных маркеров при хромато-масс-спектрометрическом

анализе, а в 5 наблюдениях при отсутствии роста микрофлоры выявлено увеличенное содержание различных микроорганизмов. Ни в одном из 5 случаев высева грибов рода *Candida* не выявлено нарушений содержания маркёров этих микроорганизмов при исследовании методом ГХМС. Маркёры ГОБ порядка *Enterobacteriales* и *P. aeruginosa* при хромато-масс-спектрометрическом исследовании не выявлены, тогда как при микробиологическом исследовании эти бактерии были обнаружены в пробах 6 пациентов. Следует отметить, что у 9 из 10 пациентов с выявленными при бактериологическом исследовании возбудителями отмечались разнонаправленные нарушения содержания микробных маркёров в исследованных образцах клинического материала.

Перед получением результатов бактериологического и хромато-масс-спектрометрического исследований всем пациентам при поступлении в стационар назначалась эмпирическая антибактериальная терапия. При этом если пациентам проводилась антибиотикопрофилактика (АБТ) перед переводом в наш стационар, то схему назначенной АБТ не изменяли. Коррекцию схемы АБТ проводили по результатам полученных данных по чувствительности к антибактериальным препаратам.

По результатам проведенной терапии, среди всех пациентов летальность составила 8 (3,9 %) случаев, с улучшением выписаны 79 (38,2 %) пациентов и выздоровели 120 (57,9 %) человек.

Обсуждение. У обследованных нами пациентов с ЭП чаще всего из содержимого плевральной полости выделяются ГОБ, которые являются главными возбудителями внутрибольничной инфекции и устойчивы ко многим антибактериальным препаратам. Преобладали полиантибиотикорезистентные штаммы *P. aeruginosa* (30,4 %), *K. Pneumoniae* (19,6 %) и *A. Baumannii* (12,5 %), сохранявшие чувствительность к Полимиксину, а в ряде случаев – к Амикацину. У 25 (22,3 %) пациентов были обнаружены микромицеты рода *Candida*. Высокая частота их присутствия в плевральном экссудате больных ЭП может быть связана с длительным течением заболевания и предшествующими курсами антибактериальной терапии при предыдущих госпитализациях.

Можно отметить, что спектр возбудителей ЭП изменился по сравнению с предыдущими годами. На современном этапе выявлена ключевая роль ГОБ в развитии как закрытой, так и открытой ЭП с бронхоплевральным сообщением, тогда как в публикациях за период с 1990 по 2010 г. [4] отмечено, что ГОБ преимущественно выделялись из содержимого плевральной полости у пациентов с открытой ЭП, а при закрытой ЭП ведущими возбудителями были представители грамположительной микрофлоры.

Всего при хромато-масс-спектрометрическом исследовании содержимого плевральной полости у пациентов с ЭП выявлено 30 таксонов микро-

организмов, маркёры которых превышают норму более чем в 2 раза, а также маркёры вирусов и микромицетов. Наиболее часто выявлялись маркёры анаэробных микроорганизмов, доля которых составила 76,6 %, при этом наибольшая концентрация выявлена для бактерий рода *Clostridium* и *Eubacterium*. Данные микроорганизмы являются родственными и составляют нормальную кишечную микробиоту организма человека. Ведущим представителем рода *Clostridium* была *C. perfringens*, которую нельзя недооценивать при любых концентрациях: она образует, как минимум, 12 идентифицированных токсинов и энтеротоксин, мишенями которых являются биологические мембраны в различных тканях. Вместе с тем следует учитывать, что липидные компоненты – микробные маркёры – могут принадлежать погибшим микроорганизмам кишечной микрофлоры, распространяющимся по организму человека. В очаге поражения могут присутствовать специфические маркёры микроорганизмов, но не живые микробы, причем концентрация соответствующего маркёра пропорциональна содержанию микроба в организме человека [16].

Для адекватного лечения пациентов с эмпиемой плевры необходим комплексный подход с использованием как микробиологического исследования, так и хромато-масс-спектрометрического анализа, что в совокупности позволяет определить роль как аэробной, так и анаэробной микрофлоры, а также вирусов и грибов в развитии инфекционного процесса. Возможно, дренирование плевральной полости и эмпирическая антибактериальная терапия оказывают влияние на жизнеспособность анаэробных бактерий при эмпиеме плевры, что объясняет отсутствие «живых» анаэробных бактерий при бактериологическом посеве содержимого плевральной полости и наличие большого количества маркёров анаэробных бактерий при хромато-масс-спектрометрическом исследовании. В случае отсутствия роста культуры и выявления маркёров микроорганизмов методом хромато-масс-спектрометрии в настоящее время можно рекомендовать использование общепринятых схем этиотропной АБТ при ЭП. На наш взгляд, приведенные результаты можно трактовать как отклонения микробиологического статуса организма больных от гомеостаза, но клиническая значимость полученных данных для выявления этиологии ЭП не ясна и требует проведения дальнейших исследований.

Выводы. 1. Наиболее частой причиной ЭП у обследованных больных являлся парапневмонический плеврит (75,8 %). Ведущими возбудителями как закрытой, так и открытой эмпиемы плевры с бронхоплевральным сообщением были грамотрицательные микроорганизмы, выделенные у 45 и 63,5 % пациентов соответственно.

2. Среди возбудителей инфекционно-воспалительных процессов в плевральной полости

преобладали *P. aeruginosa*, выявленные у 34 (30,4%), *K. pneumoniae* – у 22 (19,6%), *A. baumannii* – у 14 (12,5%) и микромицеты рода *Candida* – у 25 (22,3%) пациентов. Выраженную полирезистентность и частое выделение штаммов *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *A. baumannii* из клинического материала необходимо учитывать при назначении антибактериальной терапии.

3. Несмотря на позиционируемые преимущества газовой хромато-масс-спектрометрии, ее результаты неоднозначны и не дают возможности применения метода для назначения этиотропной терапии, поэтому требуется комплексный подход с использованием классического бактериологического исследования, что в совокупности позволит уточнить роль аэробной и анаэробной микрофлоры, а также вирусов и грибов в развитии инфекционного процесса при ЭП.

4. Отсутствие роста микрофлоры при посевах содержимого плевральной полости у 45,9% пациентов, а также несовпадение результатов микробиологического исследования и хромато-масс-спектрометрического анализа свидетельствуют о том, что диагностические методы выявления возбудителей эмпиемы плевры требуют дальнейшего совершенствования.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

- Бисенков Л. Н., Чуприна А. П., Гладышев Д. В. Возможности торакоскопии при эмпиеме плевры // Материалы XIII Национального конгресса по болезням органов дыхания. 2003. С. 43.
- Ионов П. М., Елькин А. В., Дейнега И. В. и др. Этиология и клинические формы нагноительных заболеваний легких и плевры у ВИЧ-инфицированных больных // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. 2019. Т. 178, № 4. С. 10–14.
- Farjah F., Symons R. G., Krishnadasan B. et al. Management of pleural space infections: a population-based analysis // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2007. Vol. 133, № 2. P. 346–351.
- Амарантов Д. Г., Хоринко А. В., Косарева П. В. Этиология, патогенез, клиника, диагностика и лечение эмпиемы плевры. Современные представления (Обзор литературы) // Вестн. Урал. мед. акад. науки. 2016. Т. 3. С. 61–74.
- Петухов В. И., Русецкая М. О. Клинико-лабораторная диагностика и лечение гнойных заболеваний легких и плевры // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. 2009. Т. 8, № 4. С. 1–12.
- Даниелян Ш. Н., Абакумов М. М., Черненко Т. В. Гнойные осложнения закрытой травмы груди // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. 2011. Т. 3. С. 19–25.
- Кубраков К. М., Абодовский С. А., Подолinskiй Ю. С. и др. Антибиотикорезистентность возбудителей эмпиемы плевры // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. 2016. Т. 15, № 6. С. 54–61.
- Иванов Ф. В., Ивченко Е. В., Котив Б. Н. и др. Эффективность рациональной антибактериальной терапии у больных эмпиемой плевры в условиях лечебного учреждения // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. 2012. Т. 4. С. 8–11.
- Wallet F., Nseir S., Baumann L. et al. Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood // Clin. Microbiol. Infect. 2010. Vol. 16, № 6. P. 774–779.
- Schmidt V., Jarosch A., März P. et al. Rapid identification of bacteria in positive blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2012. Vol. 31, № 3. P. 311–317.
- Осипов Г. А., Федосова Н. Ф., Лядов К. В. Количественный *in situ* микробиологический анализ по липидным маркерам в биологических жидкостях с использованием метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии // Здоровоохранение и мед. технологии. 2007. Т. 5. С. 20–23.
- Жевелик О. Д., Шмиголь М. В. Применение метода масс-спектрометрии микробных маркеров при септическом состоянии // Здоровоохранение Югры: опыт и инновации. 2019. Т. 2. С. 35–36.
- Колмык В. А., Насыров Р. А., Кутушева Г. Ф. Сравнительный анализ иммуногистохимического и хромато-масс-спектрометрического исследований в диагностике этиологического фактора хронического эндометрита // Медицина: теория и практика. 2019. Т. 4. С. 267–268.
- Струкова Е. Г., Ефремов А. А., Гонтова А. А. и др. Определение микробиологического статуса и диагностика инфекций организма человека с использованием метода хромато-масс-спектрометрии // Журн. Сиб. федер. ун-та: Химия. 2009. Т. 4. С. 351–357.
- Beloborodova N. V., Osipov G. A. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship // Microbial ecology in Health and Disease. 2000. Vol. 12, № 1. P. 12–21.
- Киселев В. В., Андрейцева О. И., Бойко Н. Б. и др. Микробиологический статус кандидатов на пересадку печени // Трансплантология. 2010. Т. 1. С. 37–45.

REFERENCES

- Bisenkov L. N., Chuprina A. P., Gladyshev D. V. Vozmozhnosti torakoskopii pri empieme plevry. Materialy XIII Natsional'nogo kongressa po boleznyam organov dykhaniya. 2003:43. (In Russ.).
- Ionov P. M., Elikin A. V., Deinega I. V., Yakovlev G. A., Shevtsova M. A. Etiology and clinical forms of lungs and pleura suppurative diseases of HIV-infected patients. Grekov's Bulletin of Surgery. 2019;178(4):10–14. (In Russ.).
- Farjah F., Symons R. G., Krishnadasan B., Wood D. E., Flum D. R. Management of pleural space infections: a population-based analysis. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2007;133(2):346–351.
- Amarantov A. G., Khorinko A. V., Kosareva P. V. Etiology, clinical picture, diagnosis and treatment of pleural empyema. Current notion (review of literature). Journal of ural medical academic science. 2016;3:61–74. (In Russ.).
- Petukhov V. I., Rusetskaya M. O. Kliniko-laboratornaya diagnostika i lechenie gnoinykh zabolevanii legkikh i plevry. Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2009;8(4):1–12. (In Russ.).
- Danielyan Sh. N., Abakumov M. M., Chernenkaya T. V. Septic complications of the closed thoracic trauma. Khirurgiia. Zhurnal imeni N. I. Pirogova. 2011;3:19–25. (In Russ.).
- Kubrakov K. M., Abodovsky S. A., Podolinsky Y. S., Ermashkevich S. N., Chulkov A. A. The antibiotic resistance of pleural empyema pathogens. Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2016;15(6):54–61. (In Russ.).
- Ivanov F. V., Ivchenko E. V., Kotiv B. N., Barinov O. V., Suborova T. N. Effectiveness of rational antibacterial therapy in patients with pleural empyema under conditions of medical institutions. Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii. 2012;4:8–11. (In Russ.).
- Wallet F., Nseir S., Baumann L., Herwegh S., Sendid B., Boulo M., Roussel-Delvallez M., Durocher A. V., Courcol R. J. Preliminary clinical study using

- a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010;16(6):774–779.
10. Schmidt V., Jarosch A., März P., Sander C., Vacata V., Kalka-Moll W. Rapid identification of bacteria in positive blood culture by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2012;31(3):311–317.
 11. Osipov G. A., Fedosova N. F., Lyadov K. V. Kolichestvennyi in situ mikrobiologicheskii analiz po lipidnym markeram v biologicheskikh zhidkostyakh s ispol'zovaniem metoda gazovoi khromatografii-mass-spektrometrii. *Zdravookhranenie i meditsinskie tekhnologii.* 2007;5:20–23. (In Russ.).
 12. Zhevelik O. D., Shmigol' M. V. Primenenie metoda mass-spektrometrii mikrobnyykh markerov pri septicheskom sostoyanii. *Zdravookhranenie Yugry: opyt i innovatsii.* 2019;2:35–36. (In Russ.).
 13. Kolmyk V. A., Nasyrov R. A., Kutusheva G. F. Sravnitel'nyi analiz immunogistokhimicheskogo i khromatomasspektrometricheskogo issledovaniya v diagnostike etiologicheskogo faktora khronicheskogo endometrita. *Medicine: theory and practice.* 2019;4:267–268. (In Russ.).
 14. Strukova E. G., Efremov A. A., Gontova A. A., Osipov G. A., Sarmatova N. I. Definition of the Microecological Status and Diagnosis of the Human's Infections, using the Method of Chromato-Mass-Spectrometry. *Journal of Siberian Federal University: Chemistry.* 2009;4:351–357. (In Russ.).
 15. Beloborodova N. V., Osipov G. A. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. *Microbial ecology in Health and Disease.* 2000;12(1):12–21.
 16. Kiselev V. V., Andreyeva O. I., Boiko N. B., Osipov G. A., Fedosova N. F., Lyadov K. V. The microecological status of candidates for liver transplantation. *Transplantologiya.* 2010;1:37–45. (In Russ.).

Информация об авторах:

Котив Богдан Николаевич, доктор медицинских наук, генерал-майор медицинской службы, заместитель начальника по учебной и научной работе, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-5609-0517; **Дзидзава Илья Игоревич**, доктор медицинских наук, начальник кафедры и клиники госпитальной хирургии, полковник медицинской службы, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-9758-8848; **Баринов Олег Владимирович**, доктор медицинских наук, заместитель начальника кафедры и клиники госпитальной хирургии, полковник медицинской службы, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-0084-8338; **Дейнега Игорь Владимирович**, кандидат медицинских наук, зав. отделением гнойной торакальной хирургии, Городская Покровская больница (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-0776-3006; **Ворошилова Татьяна Михайловна**, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией бактериологических исследований, Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 000-0003-1630-7202; **Лищенко Виктор Владимирович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры и клиники госпитальной хирургии, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0001-6050-4735; **Платонова Анна Геннадьевна**, ведущий специалист, Лаборатория микробной хроматографии 000 «Медбазис» (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3344-8026; **Шведюк Виктор Владимирович**, кандидат медицинских наук, начальник отделения гнойной хирургии клиники госпитальной хирургии, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-1294-6488.

Information about authors:

Kotiv Bogdan N., Dr. of Sci. (Med.), Major General of Medical Service, Deputy Head for Academic and Scientific Work, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-5609-0517; **Dzidzava Il'ya I.**, Dr. of Sci. (Med.), Head of the Department and Clinic of Hospital Surgery, Colonel of Medical Service, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-5860-3053; **Suborova Tatyana N.**, Dr. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow of the Research Center, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6783-1920; **Valiev Georgij V.**, Senior Lieutenant of Medical Service, Associate Professor of the Department and Clinic of Hospital Surgery, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-9758-8848; **Barinov Oleg V.**, Dr. of Sci. (Med.), Deputy Head of the Department and Clinic of Hospital Surgery, Colonel of Medical Service, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-0084-8338; **Deinega Igor' V.**, Cand. of Sci. (Med), Head of the Department of Purulent Thoracic Surgery, Pokrovskaya Municipal Hospital (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-0776-3006; **Voroshilova Tat'yana M.**, Cand. of Sci. (Med), Head of the Laboratory of Bacteriological Research, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 000-0003-1630-7202; **Lishenko Viktor V.**, Cand. of Sci. (Med), Associate Professor of the Department and Clinic of Hospital Surgery, Military Medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0001-6050-4735; **Platonova Anna G.**, Leading Specialist, Laboratory of Microbial Chromatography «Medbasis» (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3344-8026; **Shvedyuc Viktor V.**, Cand. of Sci. (Med), Head of the Department of Purulent Surgery of the Clinic of Hospital Surgery, Military medical Academy (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-1294-6488.