



Оригинальная статья

Streptococcus agalactiae в неонатологии: стратегии обнаружения

П.Г. Аминева^{1,2}, Е.С. Ворошилина¹, В.Ю. Старков³, Д.С. Додров³

¹Кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

²ООО «Кволити Мед». Екатеринбург, Россия

³ГБУЗ СО «Екатеринбургский клинический перинатальный центр», Екатеринбург, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Стрептококк группы В (*Streptococcus agalactiae*, СГВ) остается основной причиной неонатального сепсиса и менингита, несмотря на выраженное снижение из-за применения интранатальной антибиотикопрофилактики. Вместе с тем, задержки в выявлении и лечении неонатальных инфекций могут вызвать серьезные последствия и в некоторых случаях смерть новорожденного, с другой стороны, ненужное применение антибиотиков также имеет пагубные последствия (изменение нормальной микрофлоры новорожденного, развитие устойчивости к противомикробным препаратам и др). При этом перед лабораториями постоянно встает задача совершенствовать диагностические подходы для быстрой и правильной идентификации новорожденных с инфекцией.

Цель исследования. Проанализировать эффективность, результативность и время выдачи результатов бактериологического исследования при неонатальном сепсисе и менингите, вызванного *Streptococcus agalactiae*, для определения лучшей диагностической стратегии.

Материал и методы. В период с января по ноябрь 2024 г. проанализированы истории болезни 10 новорожденных с положительной гемокультурой на *Streptococcus agalactiae*. Образцы крови были взяты в асептических условиях в педиатрические флаконы для гемокультивирования по стандартному протоколу. Идентификацию микроорганизмов производили 2 методами: 1 — путем стандартного субкультивирования на чашках с питательной средой и 2 — напрямую из положительных флаконов с применением технологии MALDI-TOF MS на анализаторе Vitek MS (BioMerieux, Франция) с использованием in-house метода.

Результаты. Среднее время от момента взятия пробы до постановки в прибор для гемокультивирования (А) составило 13,1±7,4 ч, среднее время роста микроорганизма, т.е. до положительного сигнала (В) — 6,7±3,0, среднее время идентификации возбудителя из флакона крови (С) — 20,2±13,1, среднее время оборота пробы в лаборатории (от забора материала до выдачи результата идентификации клиническому врачу — D) составило 42,0±12,0 ч. При использовании метода ускоренной идентификации напрямую из положительного флакона среднее время С составило 12,5 часов, D — 36,3 часа.

Выводы. Применение ускоренной методики культурального выявления СГВ в гемокультурах новорожденных детей позволило сократить время идентификации возбудителя в положительной культуре крови на 17,5 часов с 30 часов до 12,5 (более чем в 2 раза), а общее время от получения биоматериала до принятия решения лечащим — сократить на 14 часов (с 50 часов до 36), т. е. почти в 1,5 раза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Streptococcus agalactiae*, к противомикробным препаратам, посев, тестирование на чувствительность крови, инфекции кровотока новорожденных,

идентификация, MALDI-TOF масс-спектрометрия, микробиологическая диагностика

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Аминев П.Г., Ворошилина Е.С., Старков В.Ю., Додров Д.С. *Streptococcus agalactiae* в неонатологии: стратегии обнаружения. *Вестник охраны материнства и младенчества*. 2024; 1(3): 80–90. <https://doi.org/10.69964/BMCC-2024-1-3-80-90>

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ: авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

КОРРЕСПОНДИРУЮЩИЙ АВТОР: Аминев Полина Геннадьевна — Ассистент, аспирант кафедры медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; ул. Репина, д. 3., г. Екатеринбург, 620028, Россия. E-mail: pga@qualitymed.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Получена: 16.12.2024. Принята к публикации: 22.12.2024
© Аминев П.Г., Ворошилина Е.С., Старков В.Ю., Додров Д.С. 2024

Original article

Streptococcus agalactiae in neonatology: detection strategies

Polina G. Amineva^{1,2}, Ekaterina S. Voroshilina¹, Vadim Yu. Starkov³, Dmitry S. Dodrov³

¹The Department of Medical Microbiology and Laboratory Diagnostics of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

²LLC "Quality Med" Ekaterinburg, Russia

³Clinical Perinatal Center Ekaterinburg, Russia

ABSTRACT

Background. Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*, SGV) remains the main cause of neonatal sepsis and meningitis, despite a marked decrease due to the use of intranatal antibiotic prophylaxis. At the same time, delays in the detection and treatment of neonatal infections can cause serious consequences and, in some cases, the death of a newborn, on the other hand, unnecessary use of antibiotics also has harmful consequences (changes in the normal microbiota of a newborn, the development of antimicrobial resistance, etc.). At the same time, laboratories are constantly faced with the task of improving diagnostic approaches for the rapid and correct identification of newborns with infection.

The purpose of the study. To analyze the effectiveness, efficiency and timing of the results of bacteriological examination in neonatal sepsis and meningitis caused by *Streptococcus agalactiae* to determine the best diagnostic strategy.

Material and methods. In the period from January to November 2024, the case histories of 10 newborns with positive hemoculture for *Streptococcus agalactiae* were analyzed. Blood samples were taken under aseptic conditions according to the standard protocol. The identification of microorganisms was carried out by 2 methods: 1 — by standard subcultivation on nutrient cups and 2 — directly from positive vials using MALDI-TOF MS technology on a Vitek MS analyzer (BioMerieux, France) using the in-house method.

Results. The average time from the moment of sampling to placement in the hemocultivation device (A) was 13.1±7.4 hours, the average growth time of the microorganism, i.e., to a positive signal (B) was 6.7± 3.0, the average time for identification of the pathogen from a blood vial (C) was 20.2±13.1, the average sample turnover time in the laboratory (from the collection of the material to the issuance of the identification result to the clinician — D) was 42.0 ± 12.0 hours. When using the accelerated identification method directly from a positive vial, the average time C was 12.5 hours, D — 36.3 hours.

Conclusions. The use of an accelerated technique for the cultural detection of OHS in hemocultures of newborn children allowed to reduce the time of identification of the pathogen in

a positive blood culture by 175 hours from 30 hours to 12.5 (more than 2 times), and the total time from obtaining the biomaterial to making a decision by the attending physician was reduced by 14 hours (from 50 hours to 36), i.e. almost 1.5 times.

KEYWORDS: *Streptococcus agalactiae*, antimicrobial susceptibility testing, blood culture, bloodstream infection of neonates, identification, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, microbiological diagnostics.

FOR CITATION: Amineva P.G., Voroshilina E.S., Starkov V.Yu., Dodrov D.S. *Streptococcus agalactiae* in neonatology: detection strategies. *Bulletin of Maternity and Child Care*. 2024; 1(3): 80–90. <https://doi.org/10.69964/BMCC-2024-1-3-80-90> (In Russ).

FUNDING: The authors declare that no funding was received for this study.

CONFLICT OF INTEREST: The authors are not aware of any other potential conflict of interest relating to this manuscript.

CORRESPONDING AUTHOR: Polina G. Amineva — Assistant, post-graduate student of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. E-mail: pga@qualitymed.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Received: 16.12.2024. Accepted: zz.zz.2024

Введение

Streptococcus agalactiae — единственный стрептококк группы В (СГВ) согласно классификации по группоспецифическому полисахариду клеточной стенки Ребекки Лэнсфилд [1], является комменсалом в желудочно-кишечном и мочеполовом трактах человека. В то же время СГВ способен вызывать оппортунистические инфекции, иногда с тяжелым течением, особенно у новорожденных, для которых является основной причиной заболеваемости и смертности [2]. Инфекции кровотока, вызванные штаммами *S. agalactiae*, встречаются относительно редко, составляя всего 1–2%. В зависимости от времени дебюта инфекцию, вызванную СГВ у новорожденных, принято классифицировать на вариант с ранним началом — возникает на первой неделе жизни, и с поздним началом — развивается после первой недели и вплоть до 3 месяцев жизни.

Отмечено, что вагинальная колонизация СГВ была определена как фактор риска развития неонатальных инфекций [2] и преждевременных родов [3]. Примерно 10–30% женщин колонизированы СГВ во время беременности. Колонизация является необходимым условием для развития раннего сепсиса, причем сепсис более вероятен у женщин с высокой степенью колонизации [3]. Бактерии перемещаются из влагалища через шейку матки в полость матки и проникают в ткани, окружающие плод. После того, как СГВ проник в амниотическую полость или вступил в контакт с плацентой, существует вероятность хориоамнионита, что часто приводит к преждевременным родами и мертворождению.

Перинатальный скрининг, нацеленный на выявление СГВ у беременных, значительно

снизил СГВ-ассоциированные неонатальные инфекции. Профилактика инфекции СГВ включает активное выявление колонизированных беременных женщин с помощью посева или ПЦР вагинально-ректального мазка между 35-й и 37-й неделями беременности и проведение интранальной антибиотикотерапии матерям с высоким риском передачи СГВ. Клинические испытания, проведенные с 1980-х годов, показали, что данный подход может эффективно предотвратить ранние неонатальные инфекции. Так частота таких инфекций в США достигала 5 случаев на 1000 живорождений до широкого распространения интранатальной профилактики и значительно снизилась после ее введения, причем эта тенденция сохраняется и в последующие годы (0,37/1000 живорождений в 2006 г. и 0,23/1000 живорождений в 2015 г.) [4]. Однако данный подход не позволил полностью устранить СГВ-ассоциированные неонатальные инфекции, что вероятно обусловлено рядом факторов, повышающих риск данной патологии, включая: патогенность штамма, факторы организма хозяина, влияние вагинального микробиома и микробиома кишечника, повышение устойчивости СГВ к антибиотикам, формирование биопленок, а также ложноотрицательные результаты скрининга. Колонизация СГВ и инфицирование целевых тканей требует способности этих бактерий прилипать и сохраняться на слизистых эпителиальных поверхностях. В этих условиях формирование бактериальных биопленок может способствовать выживанию и размножению микробов за счет повышения устойчивости к защитным реакциям организма хозяина. СГВ кодирует ряд факторов вирулентности,

которые позволяют ему сохраняться в суровой вагинальной среде и избегать факторов иммунологической защиты (Таблица 1).

Предположение о развитии инвазивной неонатальной инфекции основывается главным образом на клинических признаках, однако эти проявления могут быть малозаметными и неспецифическими, а также встречаться при неинфекционных заболеваниях. Лабораторные параметры также обладают низкой специфичностью и могут быть изменены при других состояниях, таких как дистресс плода или гипоксия-ишемия. «Золотым стандартом» диагностики неонатального сепсиса является культуральное исследование крови (гемокультура), но данный тест может иметь пониженную чувствительность у новорожденных из-за множества факторов, например, наличие бактериемии с низкой бактериальной нагрузкой. Показано, что бактериемия <10 КОЕ/мл обнаруживается у 68% всех новорожденных с бактериемией, бактериемия <1 КОЕ/мл — у 23% новорожденных [6]. Также на результат посева крови влияет использование антибиотикопрофилактики во время родов или трудности со взятием необходимого объема крови, так

как «безопасный» объем крови для посева составляет от 4 до 4,5% от общего объема крови пациента.

Задержки в выявлении и лечении неонатальных инфекций могут вызвать серьезные последствия и в некоторых случаях смерть новорожденного, с другой стороны, ненужное применение антибиотиков также имеет пагубные последствия, такие как изменение нормальной микробиоты новорожденного, развитие устойчивости к противомикробным препаратам, повышенный риск других инфекций, токсическое повреждение органов (ото-, кардио-, гепатотоксичность и др.). Длительная госпитализация новорожденных увеличивает затраты на здравоохранение, приводит к выполнению более инвазивных процедур и в некоторых случаях требует отделения новорожденного от матери, что может помешать началу грудного вскармливания с последующим риском для ребенка. Таким образом, важно постоянно совершенствовать диагностические подходы для быстрой и правильной идентификации новорожденных с инфекцией.

Цель исследования — проанализировать эффективность, результативность и время выдачи результатов бактериологического

Таблица 1. Факторы вирулентности СГВ, участвующие в колонизации влагалища, восходящей инфекции и преждевременных родах [адаптировано из 5]
Table 1. GBS virulence factors involved in vaginal colonization, ascending infection and preterm birth [adapted from 5]

Фактор вирулентности	Мишень хозяина	Функция
HylB	Гиалуроновая кислота	Блокирует сигнализацию TLR2/4
BsaB/FbsC	Фибриноген и ламинин	Адгезия к вагинальным эпителиальным клеткам
Гемолизин	Амниотические эпителиальные клетки Нейтрофилы Тучные клетки Макрофаги	Цитолиз Устойчивость к нейтрофилам Дегрануляция тучных клеток Пироптоз
Srr1/Srr2	Фибриноген	Адгезия к эпителиальным клеткам влагалища, эпителиальным клеткам шейки матки Srr2 связывается с интегринами $\alpha 5\beta 1$ и $\alpha v\beta 3$, тем самым способствуя адгезии и инвазии эндотелиальных клеток мозга
Пили	Коллаген I	Адгезия к вагинальным эпителиальным клеткам
Капсула	Лектины иммуноглобулинового типа, связывающие сиаловую кислоту	Прилипание к эпителиальным клеткам шейки матки и их инвазия подавляют сигнализацию лектина в эпителиальных клетках амниона и нейтрофилах
Альфа-С-протеин	Гликозаминогликан поверхности клетки-хозяина	Вторжение в клетки эпителия шейки матки

исследования при неонатальном сепсисе и менингите, вызванного *Streptococcus agalactiae*, для определения лучшей диагностической стратегии.

Материалы и методы

Проанализированы данные историй болезни 10 новорожденных, у которых *Streptococcus agalactiae* выделяли из крови. Пациенты находились в ОРИТ и ОПН с января по ноябрь 2024 года в ГБУЗ СО «Екатеринбургский клинический перинатальный центр» г. Екатеринбурга. Микробиологические (бактериологические и ПЦР исследования) проводились на базе лаборатории ООО «Кволити Мед».

Взятие биоматериала (крови, ликвора и др.) у новорожденных для исследования проводилось согласно стандартным операционным процедурам. Показанием к исследованию крови на стерильность и ликвора согласно протоколу ГБУЗ СО «ЕКПЦ» было наличие факторов риска, клинических симптомов, лабораторных данных и/или «сигнальных факторов» (например, симптомов шока, судороги и др.).

Кровь для посева забирали в педиатрические флаконы (BacT/ALERT PF Plus, BioMérieux, Франция). Флаконы с кровью после доставки в лабораторию инкубировали в анализаторах гемокультур BacT/ALERT 3D120 (BioMérieux, Франция). После сигнала прибора о росте микроорганизмов из флаконов отбиралось по 5 мл аликвоты в стерильные пробирки для ускоренной идентификации. Затем по 10 мкл аликвоты высевали на 5% кровяной агар (с бараньей кровью, обогащенный сывороткой и дрожжевым экстрактом), шоколадный агар. Посев ликвора также осуществляли на кровяной и шоколадный агары, а также обогащали 500 мкл пробы в сывороточном бульоне. Засеянные чашки инкубировали в атмосфере, содержащей 5% CO₂ при 37°C в течение 16–24 ч. Идентификацию выросших колоний производили методом белкового профилирования MALDI-TOF MS (время пролетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционная ионизационная масс-спектрометрия) на анализаторе Vitek MS (BioMérieux, Франция).

В основе ускоренной методики лежит модифицированный метод интактных клеток с использованием раствора сапонины в качестве лизирующего компонента [7]. На 1-м этапе происходит осаждение крупнодисперсных частиц и лизис форменных элементов, отмывка. После этого осадок бактериальных клеток готов для нанесения на слайд. На 2-м этапе — нанесение бактериальной массы на 23 точки слайда, покрытие 1 мкл матрицы (α-циано-3-гидроксикоричная кислота), высушивание,

считывание прибором масс-спектров и сравнение с базой данных. Данный метод имеет некоторые преимущества перед методом экстракции: сокращается количество манипуляций и экономится время, осадок бактерий является «жизнеспособным», т.е. он пригоден для дальнейших этапов исследования (определения чувствительности к антибиотикам, ПЦР-диагностики для обнаружения генов антибиотикорезистентности, латекс-агглютинации) [8,9]. Включение в протокол этапа добавления раствора сапонины для гемолиза эритроцитов повышает чувствительность методики. Было отмечено, что некоторые бактерии, чаще всего грамположительные кокки, имеют «привязанность» к эритроцитам и могут быть удалены вместе с ними в некоторых протоколах исследования (центрифугирование в пробирках с гелем и др.) [10].

Оценка антибиотикочувствительности проводилась стандартным диско-диффузионным методом, описанным в Рекомендациях МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2021)» и документе «EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing — Version 7.0 (January 2019)». Пограничные значения диаметров зон подавления роста калиброваны по отношению к гармонизированным европейским пограничным значениям, которые опубликованы EUCAST и расположены в свободном доступе на сайте <http://www.eucast.org>.

Результаты

При оценке ретроспективных данных определяли процент выявления *S. agalactiae* в крови и других биоматериалах от новорожденных с января 2021 года по ноябрь 2024 года. Данный показатель при исследовании гемокультуры составил 0,9% (СГВ был выявлен в 26 пробах из 2931, из них 290 проб крови дали положительный результат по росту микроорганизмов). *S. agalactiae* из отделяемого нижних дыхательных путей (трахеобронхиальный аспират) выделили в 0,8% случаев (в 4 из 507 проб), из ликвора — в 0,7% (в 4 пробах из 596).

Характеристика 10 пациентов с положительной гемокультурой СГВ представлена в табл. 2.

Для оценки чувствительности *S. agalactiae* к антибиотикам проанализировали паттерны резистентности 180 штаммов, выделенных из цервикального канала родильниц и из биоматериалов новорожденных. Результаты представлены в таблице 3.

Результаты показали, что штаммы *S. agalactiae* обладают хорошей чувствительностью

Таблица 2. Характеристика пациентов, у которых из крови был выделен СГВ (n=10).
Table 2. GBS virulence factors involved in vaginal colonization, ascending infection and preterm birth adapted from 5 pts.

Паци- ент №	Пол	Срок гестации, недели	Наличие кли- нического диа- гноза сепсис/ менингит	Другой инфекционный диагноз	Результат посева крови/ликвора (вы- явление <i>Streptococcus agalactiae</i>)	Выявление <i>Streptococcus agalactiae</i> из других б/м
Пац 1	М	40	+/+		+/н.и.	
Пац 2	М	38	+/-	Врожденная пневмония	+/ -	
Пац 3	М	39	+/-		+/ -	
Пац 4	М	40	+/-		+/ -	
Пац 5	М	41	+ (поздний)/+		+/н.и.	Отделяемое пу- почного кольца
Пац 6	Ж	40	+/-		+/ -	Меконий
Пац 7	М	31	+/-	Врожденная пневмония	+/н.и.	
Пац 8	Ж	37	-/-		+/ -	
Пац 9	М	26	+/-	Конъюнктивит, дакриоцистит	+/ -	
Пац 10	М	33	+/-		+/ -	

Примечание. н.и. — не исследовалось, б/м — биоматериал

Таблица 3. Паттерны антибиотикорезистентности СГВ, выделенных из цервикального канала родильниц и из биоматериалов новорожденных (n=180)

Table 3. Patterns of antibiotic resistance of GBS isolated from the cervical canal of mothers in labor and from biomaterials of newborns (n=180)

Антибиотик	Категория чувствительности (n = 180)			
	R		S	
	Абс.	%	Абс.	%
Бензилпенициллин (скрининг к бета-лактамам)	0	0	180	100
Клиндамицин	49	27,2	131	72,8
Эритромицин	51	28,3	129	71,7
Норфлоксацин (скрининг к фторхинолонам)	10	5,6	170	94,4
Тетрациклин	143	79,4	37	20,6

Примечание. R — устойчивый, S — чувствительный при стандартном дозировании.

к бета-лактамам антибиотикам, в частности к аминопенициллинам. Резистентность к макролидным антибиотикам составляет 28,3%, к линкозамидам — 27,2%. Высокий уровень резистентности отмечается для тетрациклина — почти 80% штаммов к нему устойчивы.

Штаммы *S. agalactiae*, выделенные из крови (таблица 3), характеризуются такими же

паттернами резистентности: высокой чувствительностью к бета-лактамам, а также чувствительностью к ванкомицину, линезолиду. Резистентность к макролидным антибиотикам составляет 30%, к линкозамидам — 30%. Высокий уровень резистентности отмечается для тетрациклина — 70% штаммов к нему устойчивы.

Таблица 4. Паттерны антибиотикорезистентности штаммов СГВ, выделенных из крови новорожденных (n=10)
Table 4. Patterns of antibiotic resistance of GBS strains isolated from the blood of newborns (n=10)

Антибиотик	Категория чувствительности (n = 10)			
	R		S	
	Абс.	%	Абс.	%
Бензилпенициллин (скрининг к бета-лактамам)	0	0	10	100
Клиндамицин	3	30	7	70
Эритромицин	3 (1 штамм с положительным D-тестом)*		7	70
Норфлоксацин (скрининг к фторхинолонам)	0	0	10	100
Тетрациклин	7	70	3	30
Ванкомицин	0	0	10	100
Линезолид	0	0	10	100

Примечание. R — устойчивый, S — чувствительный при стандартном дозировании. *D-тест — тест для выявления индуцибельной устойчивости к клиндамицину у стрептококков. Положительный тест — штамм обладает iMLSB-фенотипом резистентности (метилование рибосом, обусловленное наличием erm-генов, кодирующих продукцию белка-метилазы Erm), у таких штаммов стрептококков отмечается перекрестная резистентность ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограмину В.

Для анализа времени выдачи результатов бактериологического исследования крови временная шкала обработки пробы в лаборатории была разбита на интервалы (см. рисунок 1).
В таблице 5 даны временные интервалы и общее время оборота пробы в лаборатории при работе с гемокультурой. Среднее время А составило 13,1±7,4 ч, среднее В — 6,7±3,0, среднее С — 20,2±13,1, среднее D — 42,0±12,0 ч. При использовании метода ускоренной идентификации напрямую из положительного

флакона среднее время С составило 12,5 часов, D — 36,3 часа. Если по каким-то причинам ускоренная идентификация не проводилась или была неудачной: среднее время С составило почти 30 часов, среднее время D — 50,6 ч. Время роста микроорганизмов во флаконе (время В) зависит от многих факторов, на некоторые из которых повлиять невозможно, например, вид возбудителя и микробная нагрузка. Также имеет значение количество микробных клеток во флаконе — чем больше возбудителя в крови, тем быстрее флакон

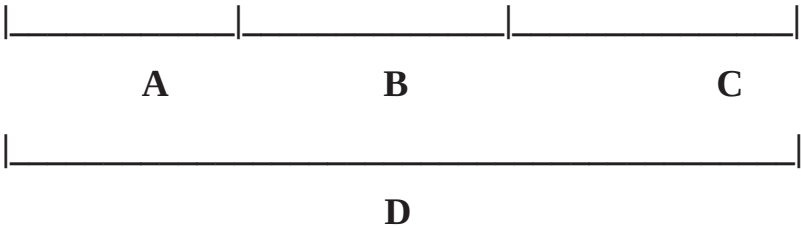


Рисунок 1. Временные интервалы для оценки обработки гемокультур, в часах. А — время от момента взятия пробы до постановки пробы в прибор для гемокультивирования в лаборатории; В — время от постановки пробы в прибор до положительного сигнала о росте культуры в автоматическом анализаторе гемокультур; С — время от момента о положительном сигнале до сообщения результата идентификации культуры микроорганизма лечащему врачу; D — общее время оборота пробы (от момента взятия до сообщения результата о микроорганизме врачу для принятия клинических решений)
Figure 1. Time intervals for evaluating blood culture processing, in hours. A is the time from sample collection to sample loading into the blood culture machine in the laboratory; B is the time from sample loading into the machine to a positive culture growth signal in the automated blood culture analyzer; C is the time from a positive signal to the notification of the microorganism culture identification result to the attending physician; D is the total sample turnover time (from sample collection to notification of the microorganism result to the physician for clinical decision making)

Таблица 5. Временные интервалы и общее время оборота пробы в лаборатории при работе с гемокультурой
Table 5. Time intervals and total sample turnover time in the laboratory when working with blood culture

Пациент №	Возраст на момент взятия крови, сутки	Временные интервалы для оценки обработки образцов, часы	D Общее время оборота пробы (TAT), часы
Пац 1	1	A = 14,1 B = 9,0 C = 12,0 (прямая ID)	35,1
Пац 2	1	A = 21,1 B = 5,2 C = 17,9 (прямая ID)	44,2
Пац 3	1	A = 20,7 B = 10,2 C = 31,8	62,7
Пац 4	1	A = 15,8 B = 8,5 C = 10,8 (прямая ID)	35,1
Пац 5	7	A = 18,2 B = н/и* C = н/и*	57,4
Пац 6	1	A = 5,1 B = 6,8 C = 17,9 (прямая ID)	29,8
Пац 7	58	A = 4,1 B = 10,7 C = 15,0 (прямая ID)	29,7
Пац 8	0	A = 21,0 B = 4,1 C = 19,1 (прямая ID)	44,2
Пац 9	2	A = 6,4 B = 8,5 C = 36,4	51,3
Пац 10	1	A = 4,3 B = 3,3 C = 23,2	30,8

Примечание. A — время от момента взятия пробы до постановки пробы в прибор для гемокультивирования в лаборатории; B — время от постановки пробы в прибор до положительного сигнала о росте культуры в автоматическом анализаторе гемокультур; C — время от момента о положительном сигнале до сообщения результата идентификации культуры микроорганизма лечащему врачу; D — общее время оборота пробы (от момента взятия до сообщения результата о микроорганизме врачу для принятия клинических решений); прямая ID — ускоренная идентификация микроорганизма напрямую из положительного флакона крови без субкультивирования.

* н/и — проба доставлена во флаконе не для автоматического анализатора.

станет "положительным". При этом время роста контаминантов, как правило дольше, так как бактериям с кожи нужно время на адаптацию в непривычной для них среде.

Обсуждение

Изучению качества этиологической диагностики инфекций крови было посвящено крупное исследование [13], проведенное исследовательской группой ESCMID (European

Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) и ESGBIES (The ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis) и включившее 209 лабораторий из 25 стран Европы. Полученные результаты позволили выявить основные параметры, напрямую влияющие на эффективность этиологической диагностики инфекций крови. Например, было показано, что в выходные и праздничные дни 9,3% лабораторий не принимали образцы

крови, а 15,2% не обрабатывали флаконы с положительным ростом, в то же время в более 40% образцов фиксировали положительный рост именно в нерабочее время.

Только микробиологическими методами идентификации (посев на плотные питательные среды с последующей идентификацией возбудителя) ограничивались 32,5% лабораторий, а 67,5% применяли различные быстрые методы диагностики, представленные MALDI-TOF MS (59,8% лабораторий), полимеразной цепной реакцией — ПЦР (21% лабораторий). Но при этом треть всех лабораторий, даже имеющих MALDI-TOF MS, по-прежнему используют классический диагностический подход, т.е. субкультивирование на плотной среде и работу со зрелыми колониями на следующий день.

Все подходы для ускорения диагностики бактериемии условно можно разделить на три категории. Первая группа объединяет технологические подходы: ускорить диагностику бактериемии возможно путем гемокультивирования с применением автоматизированных систем в сочетании с идентификацией выросшего микроорганизма методом MALDI-TOF MS. В настоящее время она принята как новый стандарт идентификации микроорганизмов в некоторых биологических средах и теперь применяется в микробиологических лабораториях во многих странах мира [11].

Вторая группа включает методологические подходы, начало данной стратегии было положено Stevenson и соавт., которые в 2009 г. опубликовали первое сообщение об успешной идентификации микроорганизмов напрямую из положительных флаконов крови [12]. MALDI-TOF MS до этого не использовалась для идентификации непосредственно из положительных флаконов крови в силу того, что для получения приемлемого спектра необходима высокая плотность микроорганизмов, а также потому, что гемоглобин и протеины сыворотки искажают интерпретацию белкового спектра бактерий. С целью повышения надежности диагностики авторы использовали пробирки с гелем, с помощью которого добивались разделения клеточных элементов крови, белков и сыворотки. При этом

для исследования собирали осадок бактериальных клеток, находящийся на поверхности геля. Затем выполняли экстракцию протеинов путем добавления муравьиной кислоты и ацетонитрила. Использование этой методики в работе с положительными гемокультурами позволило добиться успешной идентификации микроорганизмов в 75,8% случаев.

Ранее опубликованное исследование с применением собственного протокола пробоподготовки показало, что процент успешной ускоренной идентификации по всем группам бактерий составил 86,0%, при этом для грамотрицательных палочек он достигал 100%, для грамположительных кокков — 83,5% [7].

В данном исследовании метод ускоренной идентификации позволил сократить общее время от момента забора материала до момента выдачи результата врачу в среднем до 36,6 ч.

Также методологическим подходом, ускоряющим диагностику бактериемии, является идентификация микроорганизма в положительном флаконе с помощью метода ПЦР в режиме реального времени (например, с использованием тест-системы «БакСкринУПМ», «ДНК-технология», Россия).

К третьей группе методов относятся управленческие или организационные решения. К таким подходам можно отнести, например, изменение графика работы лаборатории, создание четких алгоритмов передачи информации клиническим врачам, установка автоматических геманализаторов для культивирования и непрерывного мониторинга роста микроорганизмов «point-of-care» и другие.

Выводы

Проведенный анализ показал, что применение ускоренной методики культурального выявления СГВ в гемокультурах новорожденных детей позволило сократить время идентификации возбудителя в положительной культуре крови на 17,5 часов с 30 часов до 12,5 (более чем в 2 раза), а общее время от получения биоматериала до принятия решения лечением — сократить на 14 часов (с 50 часов до 36), т.е. почти в 1,5 раза.

ДЕКЛАРАЦИЯ О НАЛИЧИИ ДАННЫХ: данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у контактного автора по обоснованному запросу. Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request. The data and statistical methods presented in the study have been statistically reviewed by the journal editor, a certified biostatistician.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki), одобрено Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (ул. Репина, д. 3., Екатеринбург, 620028, Россия), протокол № 8 от 17 ноября 2023 г.

ВКЛАД АВТОРОВ:

Аmineva П.Г. — разработка концепции и дизайна исследования; сбор данных, анализ и интерпретация результатов, обзор литературы, статистическая обработка, составление черновика рукописи; Starkov В.Ю. — сбор данных, анализ и интерпретация результатов, статистическая обработка; Voroshilina E.C., Dodrov D.C. — критический пересмотр черновика рукописи и формирование его окончательного варианта. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающее надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS: The conducted research complies with the standards of the Helsinki Declaration, approved by the Ethics Committee of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia, Protocol No. 8 dated November 17, 2023.

AUTHOR CONTRIBUTIONS:

Polina G. Amineva — development of the concept and design of the study; data collection, analysis and interpretation of the results, literature review, statistical processing, drafting of the manuscript; Vadim Yu. Starkov — data collection, analysis and interpretation of the results, statistical processing; Ekaterina S. Voroshilina, Dmitry S. Dodrov — critical revision of the draft manuscript and the formation of its final version. All authors approved the final version of the article before publication, and agreed to be responsible for all aspects of the work, implying proper study and resolution of issues related to the accuracy and integrity of any part of the work.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J Exp Med. 1933 Mar 31;57(4):571-95. <https://doi.org/10.1084/jem.57.4.571>
2. Dhudasia MB, Flannery DD, Pfeifer MR, Puopolo KM. Updated Guidance: Prevention and Management of Perinatal Group B Streptococcus Infection. Neoreviews. 2021 Mar;22(3):e177-e188. <https://doi.org/10.1542/neo.22-3-e177>
3. Di Renzo GC, Melin P, Berardi A, Blennow M, Carbonell-Estrany X, Donzelli GP, Hakansson S, Hod M, Hughes R, Kurtzer M, Poyart C, Shinwell E, Stray-Pedersen B, Wielgos M, El Helali N. Intrapartum GBS screening and antibiotic prophylaxis: a European consensus conference. J Matern Fetal Neonatal Med. 2015 May;28(7):766-82 <https://doi.org/10.3109/14767058.2014.934804>
4. Berardi A. et al. Understanding Factors in Group B Streptococcus Late-Onset Disease. Infection and Drug Resistance, 14, 3207–3218. <https://doi.org/10.2147/IDR.S291511>
5. Vornhagen J, Adams Waldorf KM, Rajagopal L. Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. Trends Microbiol. 2017 Nov;25(11):919-931. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.013>
6. Mai V, Torrazza RM, Ukhanova M, et al. Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. PLoS One. 2013; 8(1):e52876.
7. Amineva P.G., Rudnov V.A., Karmatskikh O.G., Nevskaya N.N., Belsky D.V., Ivanova N.A. Results of identification of bacteria from positive hemocultures of patients in a multidisciplinary hospital using MALDI-TOF mass spectrometry/ Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2018; 20(4):381-386. <https://doi.org/10.36488/cmhc.2018.4.381-386>
8. Sung J.J., Park K.G., Han K., Park D.J., Park Y.J. Direct Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria From Positive Blood Culture Bottles by MatrixAssisted Laser Desorption/Ionization TimeofFlight Mass Spectrometry and the Vitek 2 System. Ann Lab Med. 2016;36:117123. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.2.117>
9. Angeletti S., Dicuonzo G., D'Agostino A., et al. Turnaround time of positive blood cultures after the introduction of matrixassisted laser desorption/ionization timeofflight mass spectrometry. New Microbiol. 2015;38:379386.
10. RuizAragón J., Ballesterotéllez M., GutiérrezGutiérrez B., et al. Direct bacterial identification from positive blood cultures using matrixassisted laser desorption/ionization timeofflight (MALDI-TOF) mass spectrometry: A systematic review and metaanalysis. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2018;36(8):484492. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.08.012>
11. Seng P., Drancourt M., Gouriet F., et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrixassisted laser desorption ionization timeofflight mass spectrometry. Clin Infect Dis. 2009;49:543551. <https://doi.org/10.1086/600885>
12. Stevenson L.G., Drake S.K., Murray P.R. Rapid Identification of Bacteria in Positive Blood Culture Broths by MatrixAssisted Laser Desorption IonizationTime of Flight Mass Spectrometry. J Clin Microbiol. 2010;48(2):444447. <https://doi.org/10.1128/jcm.01541-09>
13. Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M, Scudeller L, Amit S, Balode A, Bilozor A, Drevinek P, Kocak Tufan Z, Koraqi A, Lamy B, Mareković I, Miculeviciene J, Müller Premru M, Pascual A, Pournaras S, Saegeman V, Schönheyder HC, Schrenzel J, Strateva T, Tilley R, Wiersinga WJ, Zabicka D, Carmeli Y, Becker K; ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis

and Sepsis (ESGBIES). Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe-an ESGBIES survey. Clin Microbiol Infect. 2019 Nov;25(11):1399-1407. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.024>

14. Dornelles LV, Procianoy RS, Roesch LFW, Corso AL,

Dobbler PT, Mai V, Silveira RC. Meconium microbiota predicts clinical early-onset neonatal sepsis in pre-term neonates. J Matern Fetal Neonatal Med. 2022 May;35(10):1935-1943 <https://doi.org/10.1080/14767058.2020.1774870>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Аминова Полина Геннадьевна — Ассистент, аспирант кафедры медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России

E-mail: pga@qulitymed.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Ворошила Екатерина Сергеевна — Заведующий кафедрой медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России, доктор медицинских наук, доцент

E-mail: voroshilina@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1630-1628>

Старков Вадим Юрьевич — Анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных, ГБУЗ СО «Екатеринбургский клинический перинатальный центр»; младший научный сотрудник молодёжной научной лаборатории ЦНИЛ ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России

E-mail: v.u.starkov@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0113-0766>

Додров Дмитрий Сергеевич — Заместитель главного врача по педиатрической помощи ГБУЗ СО ЕКПЦ

E-mail: dodrov78@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8268-4172>

Polina G. Amineva — Assistant, post-graduate student of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics

E-mail: pga@qulitymed.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Ekaterina S. Voroshilina — Head of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Doctor of Medical Sciences, Professor

E-mail: voroshilina@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1630-1628>

Vadim Yu. Starkov — Anesthesiologist-Resuscitator of the Neonatal Intensive Care Unit, Clinical Perinatal Center Ekaterinburg, Russia; Junior Researcher at the Youth Scientific Laboratory of the Central Research Institute of the Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

E-mail: v.u.starkov@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0113-0766>

Dmitry S. Dodrov — Deputy Chief Physician for Pediatric Care of Clinical Perinatal Center Ekaterinburg, Russia

E-mail: dodrov78@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8268-4172>