

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова

Магістерська робота

за спеціальністю 224 «Технології медичної діагностики та лікування»
на тему: «Спектр збудників пневмонії в осіб середнього віку»

Виконала: здобувач другого (магістерського)
рівня вищої освіти, курсу 2, групи 04-24-090
IV факультету, за спеціальністю 224
«Технології медичної діагностики та лікування»
Горенко Любов Олександрівна

Керівник: ст. викл. Попова Н.Г.

Рецензент: доц. Марченко І.А.

ЗМІСТ

ВСТУП	3
Список умовних скорочень	6
Розділ 1. Етіологічна структура негоспітальних та госпітальних пневмоній у пацієнтів середнього віку	8
1.1. Роль типових бактеріальних агентів (<i>S. pneumoniae</i>, <i>H. influenzae</i>) у генезі захворювання.....	8
1.2. Клініко-епідеміологічне значення атипичних збудників (<i>Mycoplasma</i>, <i>Chlamydophila</i>, <i>Legionella</i>) в осіб працездатного віку.....	12
1.3. Вірусно-бактеріальні асоціації та їх вплив на тяжкість перебігу пневмонії.....	15
1.4. Особливості спектра збудників при нозокоміальних (госпітальних) пневмоніях.....	18
Розділ 2. Фактори ризику та їх вплив на зміну мікробіологічного пейзажу	21
2.1. Вплив коморбідних станів (ХОЗЛ, цукровий діабет) на колонізацію дихальних шляхів умовно-патогенною флорою.....	21
2.2. Значення факторів способу життя (тютюнопаління, алкоголізм) у розвитку специфічних інфекцій (<i>K. pneumoniae</i>, анаероби).....	24
2.3. Поширення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів серед популяції середнього віку.....	28
2.4. Стратифікація пацієнтів за групами ризику для прогнозування етіології пневмонії.....	32
Розділ 3. Сучасні технології лабораторної ідентифікації збудників пневмонії.....	35
3.1. Алгоритм бактеріологічного дослідження: преаналітичний етап, мікроскопія та культуральні методи.....	35
3.2. Застосування молекулярно-генетичних методів (ПЛР) для верифікації важкокультивованих збудників.....	39
3.3. Експрес-діагностика пневмоній шляхом виявлення специфічних антигенів у біологічних рідинах.....	42
3.4. Технології визначення чутливості виділених штамів до антимікробних препаратів (стандарти EUCAST).....	45
Висновки	48
Список використаних джерел.....	51

ВСТУП

Актуальність теми. Пневмонія залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини, займаючи провідне місце у структурі захворюваності та смертності від інфекційних хвороб. Особливої уваги потребує вікова категорія пацієнтів середнього віку (45–60 років). Це найбільш соціально та економічно активна частина населення, яка, водночас, характеризується початком маніфестації хронічних коморбідних станів (цукровий діабет, ХОЗЛ, серцево-судинні захворювання).

Традиційні уявлення про етіологічну структуру пневмоній як моноінфекції, викликані типовими збудниками, сьогодні зазнають змін. Спостерігається тенденція до зростання частки вірусно-бактеріальних асоціацій, атипових збудників (*Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*) та грамнегативної флори. Значний вплив на мікробіологічний пейзаж мають фактори способу життя (тютюнопаління, алкоголізм) та безконтрольне вживання антибактеріальних препаратів, що призводить до селекції резистентних штамів (PRSP, MRSA, продуцентів ESBL).

В умовах глобального поширення антибіотикорезистентності роль фахівця з лабораторної діагностики стає вирішальною. Перехід вітчизняної системи охорони здоров'я на міжнародні стандарти EUCAST, впровадження молекулярно-генетичних методів та експрес-діагностики вимагають переосмислення діагностичних алгоритмів. Все це обумовлює необхідність детального вивчення спектра збудників саме у пацієнтів середнього віку для оптимізації лабораторного супроводу та підвищення ефективності етіотропної терапії.

Мета дослідження: Вивчити особливості етіологічного спектра збудників пневмонії у пацієнтів середнього віку з урахуванням факторів ризику та обґрунтувати оптимальний алгоритм лабораторної діагностики з

використанням сучасних мікробіологічних та молекулярно-генетичних технологій.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати сучасну етіологічну структуру негоспітальних та госпітальних пневмоній у осіб середнього віку, визначивши роль типових, атипових збудників та вірусно-бактеріальних асоціацій.
2. Оцінити вплив коморбідних станів (ХОЗЛ, цукровий діабет) та факторів способу життя на колонізацію дихальних шляхів умовно-патогенною та резистентною мікрофлорою.
3. Дослідити поширення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів (MRSA, продуцентів бета-лактамаз) серед пацієнтів даної вікової групи.
4. Систематизувати сучасні методи лабораторної ідентифікації збудників (культуральні, імунохроматографічні, ПЛР) та описати технології визначення чутливості до антибіотиків згідно зі стандартами EUCAST.

Об'єкт дослідження: Етіологічна структура пневмоній у пацієнтів вікової групи 45–60 років.

Предмет дослідження: Сучасні технології лабораторної ідентифікації та визначення антибіотикочутливості збудників інфекцій нижніх дихальних шляхів.

Методи дослідження: У роботі використано бібліосемантичний метод (аналіз наукової літератури та нормативної документації), метод системного аналізу (для систематизації факторів ризику) та описовий метод (для характеристики лабораторних технологій).

Наукова новизна одержаних результатів. Узагальнено дані про специфіку мікробіому дихальних шляхів у осіб середнього віку; проаналізовано зміну спектра збудників залежно від наявності супутньої

патології; деталізовано алгоритм лабораторного дослідження з урахуванням категорії ризику пацієнта.

Практичне значення одержаних результатів. Матеріали роботи можуть бути використані для вдосконалення діагностичних протоколів у клініко-діагностичних лабораторіях, що дозволить скоротити час верифікації збудника, забезпечити раннє виявлення резистентних штамів та сприятиме раціональному призначенню антимікробної терапії.

Структура роботи. Містить в собі 3 основні розділи, вступ, список умовних скорочень, висновки та список літератури. Загальний обсяг роботи становить 53 сторінки. Основний текст викладено на 48 сторінках. Список використаних джерел охоплює 18 найменувань.

Список умовних скорочень

- БАЛ — бронхоальвеолярний лаваж
- БЛРС — бета-лактамази розширеного спектра (ESBL)
- ВАП — вентилятор-асоційована пневмонія
- ВІТ — відділення інтенсивної терапії
- ГП — госпітальна пневмонія
- ДНК — дезоксирибонуклеїнова кислота
- ІФА — імуноферментний аналіз
- ІХА — імунохроматографічний аналіз
- КУО — колонієутворююча одиниця
- МІК — мінімальна інгібуюча концентрація
- НП — негоспітальна пневмонія
- ПЗБ — пеніцилінзв'язуючі білки
- ПЛР — полімеразна ланцюгова реакція
- РНК — рибонуклеїнова кислота
- ХОЗЛ — хронічне обструктивне захворювання легень
- ЦД — цукровий діабет
- AMR — Antimicrobial Resistance (антимікробна резистентність)
- BCYE — Buffered Charcoal Yeast Extract (селективний вугільно-дріжджовий агар для легіонел)
- CRP — C-Reactive Protein (С-реактивний білок)
- ESBL — Extended-Spectrum Beta-Lactamases (бета-лактамази розширеного спектра)
- ESKAPE — акронім для групи госпітальних патогенів (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*)
- EUCAST — European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних препаратів)
- MRSA — Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (метицилін-резистентний золотистий стафілокок)

NAD — нікотинамідаденіндинуклеотид (фактор V росту)

PCT — Procalcitonin (прокальцитонін) PPM — Potentially Pathogenic Microorganisms (потенційно патогенні мікроорганізми)

PRSP — Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* (пеніцилін-резистентний пневмокок)

PVL — Panton-Valentine Leukocidin (лейкоцидин Пантона-Валентайна)

SARS-CoV-2 — Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (коронавірус, збудник COVID-19)

Розділ 1. Етіологічна структура негоспітальних та госпітальних пневмоній у пацієнтів середнього віку

1.1. Роль типових бактеріальних агентів (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*) у генезі захворювання.

Незважаючи на стрімкий розвиток молекулярно-генетичних технологій та розширення діагностичних можливостей, що дозволяють виявляти нові, раніше невідомі патогени, класичні «типові» бактеріальні агенти залишаються провідною причиною розвитку негоспітальної пневмонії у пацієнтів середнього віку. Вікова когорта 45–60 років займає особливе місце в клінічній практиці, оскільки характеризується збереженням високої соціальної та професійної активності, що підвищує ризик контактів із джерелами інфекції. Водночас, саме в цей період часто розпочинається маніфестація хронічних коморбідних станів, таких як серцево-судинні захворювання, цукровий діабет або хронічні обструктивні захворювання легень. Таке поєднання факторів створює сприятливе преморбідне тло для інвазії типової мікрофлори, яка за звичайних умов може колонізувати верхні дихальні шляхи без розвитку патологічного процесу [1, 6].

Безумовним лідером в етіологічній структурі захворюваності залишається *Streptococcus pneumoniae*, який виступає причиною від 30% до 50% усіх верифікованих випадків бактеріальної негоспітальної пневмонії у дорослих. Для фахівця з лабораторної діагностики критично важливим є глибоке розуміння біологічних особливостей цього збудника, оскільки саме вони визначають його вірулентність та специфіку методів ідентифікації. *S. pneumoniae* являє собою грампозитивний ланцетоподібний диплокок, що належить до факультативних анаеробів. Ключовим фактором його патогенності, що детермінує здатність викликати інвазивні захворювання саме в осіб середнього віку, є наявність потужної полісахаридної капсули. Ця структура виконує критичну антифагоцитарну функцію, ефективно захищаючи бактеріальну клітину

від поглинання та перетравлення альвеолярними макрофагами і поліморфноядерними лейкоцитами, що дозволяє збуднику безперешкодно розмножуватися в легеневій паренхімі на початкових етапах інфекційного процесу [8].

У патогенезі пневмококової пневмонії провідну роль відіграє механізм мікроаспірації вмісту ротоглотки. Відомо, що пневмокок часто колонізує носоглотку здорових дорослих людей, причому рівень носійства може сягати 10–20%. Однак під впливом несприятливих факторів, таких як перевтома, хронічний стрес, перенесена вірусна інфекція або тютюнопаління, відбувається зниження факторів місцевого імунітету. Це призводить до порушення мукоциліарного кліренсу та транслокації збудника в нижні дихальні шляхи, де і розвивається запальний процес. З лабораторної точки зору, первинна верифікація збудника можлива вже на етапі мікроскопії мазка мокротиння, пофарбованого за Грамом. Виявлення на тлі значної кількості нейтрофілів характерних грампозитивних диплококів, розташованих як позаклітинно, так і внутрішньоклітинно, є вагомим аргументом на користь пневмококової етіології [10].

Подальша культуральна ідентифікація *S. pneumoniae* базується на його специфічних властивостях росту на поживних середовищах. На кров'яному агарі колонії пневмокока демонструють зону альфа-гемолізу, що проявляється характерним зеленуватим забарвленням середовища навколо колоній внаслідок відновлення гемоглобіну до метгемоглобіну. Важливим диференційним тестом, що дозволяє відрізнити пневмокок від інших представників групи *viridans*, є тест на чутливість до оптохіну (етилгідрокупреїну гідрохлориду), до якого *S. pneumoniae* проявляє високу чутливість. Окрему настороженість у медичної спільноти викликає глобальна тенденція до зростання резистентності пневмококів до бета-лактамних антибіотиків та макролідів. Цей феномен обумовлений структурною модифікацією пеніцилінзв'язуючих білків клітинної стінки, що унеможливорює ефективну дію препаратів. У зв'язку з цим, сучасні

лабораторні протоколи вимагають обов'язкового визначення мінімальних інгібуючих концентрацій антибіотиків для всіх клінічно значущих ізолятів, відмовляючись від виключно якісних методів оцінки чутливості.

Друге місце за частотою виділення у пацієнтів середнього віку, складаючи близько 15–20% випадків, посідає *Haemophilus influenzae*. Клінічне значення цього збудника суттєво зростає у пацієнтів, які мають в анамнезі тривалий стаж тютюнопаління або початкові стадії хронічного обструктивного захворювання легень, що є досить поширеним явищем у віковій групі старше 45 років. Морфологічно *H. influenzae* являє собою дрібну грамнегативну кокобацилу. Варто підкреслити суттєву відмінність між штамми, що циркулюють у дитячій та дорослій популяціях. Якщо у дітей основну небезпеку становить капсульний тип b (Hib), то у дорослих пацієнтів середнього віку пневмонію переважно викликають некапсульовані (non-typeable, NTHi) штамми. Відсутність капсули робить ці штамми менш інвазивними, знижуючи ризик розвитку бактеріємії, проте вони еволюціонували в іншому напрямку, розвинувши потужні механізми адгезії до епітелію бронхів та здатність формувати складні біоплівки. Ця особливість значно ускладнює ерадикацію збудника антибактеріальними препаратами та сприяє затяжному, рецидивуючому перебігу захворювання [6, 10].

Лабораторна діагностика гемофільної інфекції є справжнім викликом для бактеріологічних лабораторій через високу вибагливість мікроорганізму до складу поживних середовищ. *H. influenzae* не здатна рости на звичайному кров'яному агарі, оскільки для її розвитку необхідні специфічні ростові фактори, які знаходяться всередині еритроцитів і не є доступними у нативному стані: гемін (фактор X) та нікотинамідаденіндинуклеотид (фактор V). Для культивування використовують «шоколадний» агар, який отримують шляхом прогрівання кров'яного агару, що призводить до лізису еритроцитів і вивільнення необхідних нутрієнтів. Характерною діагностичною ознакою

є феномен «сателізму»: на кров'яному агарі колонії *H. influenzae* можуть рости лише в безпосередній близькості до колоній *Staphylococcus aureus*, який у процесі своєї життєдіяльності виділяє необхідний фактор V (NAD) і спричиняє гемоліз, вивільняючи фактор X. Крім складнощів культивування, лабораторний супровід таких пацієнтів обов'язково повинен включати тестування виділених штамів на продукцію ферментів бета-лактамаз. Здатність сучасних штамів гемофільної палички руйнувати бета-лактамне кільце антибіотиків робить їх стійкими до традиційних препаратів вибору, таких як ампіцилін та амоксицилін, що вимагає корекції терапевтичної тактики на основі точних лабораторних даних [8].

1.2. Клініко-епідеміологічне значення атипівих збудників (*Mycoplasma*, *Chlamydomphila*, *Legionella*) в осіб працездатного віку.

Особливий сегмент в етіологічній структурі негоспітальних пневмоній у осіб працездатного віку (45–60 років) займає група так званих «атипівих» інфекцій, частка яких, за різними даними, коливається від 15% до 40%. Цей термін об'єднує інфекційні ураження легень, викликані внутрішньоклітинними збудниками, ключовою особливістю яких є неможливість виявлення при стандартному бактеріоскопічному дослідженні (фарбування за Грамом) та природна резистентність до бета-лактамних антибіотиків. Висока поширеність цих агентів саме в даній віковій когорті обумовлена соціальними факторами: професійною активністю, роботою у великих колективах, частими відрядженнями та використанням сучасних систем кондиціонування, що створює специфічні епідеміологічні передумови для інфікування [13].

Одним із найбільш поширених агентів у цій групі є *Mycoplasma pneumoniae* — унікальний прокаріот класу *Mollicutes*. Фундаментальною біологічною відмінністю мікоплазми є повна відсутність клітинної стінки, функцію якої виконує тришарова цитоплазматична мембрана, збагачена стеролами (холестерином). Ця структурна особливість робить мікроорганізм абсолютно нечутливим до пеніцилінів, цефалоспоринів та карбапенемів, механізм дії яких спрямований на пригнічення синтезу пептидоглікану. Епідеміологічна небезпека мікоплазмозу для осіб середнього віку полягає у здатності збудника викликати циклічні спалахи (кожні 3–5 років) в організованих колективах, офісах та на підприємствах, що передаються повітряно-краплинним шляхом при тісному контакті. Патогенез ураження базується на цитоадгезії: за допомогою спеціалізованої термінальної органели мікоплазма щільно прикріплюється до війок миготливого епітелію бронхів, що призводить до пригнічення мукоциліарного кліренсу. Крім того, продукція специфічних цитотоксинів, зокрема CARDS-токсину, викликає вакуолізацію та

десквамацію епітеліоцитів, провокуючи тривалий, непродуктивний кашель. Для фахівця лабораторної медицини діагностика *M. pneumoniae* становить значні труднощі: збудник не візуалізується у нативному мазку, а культуральне дослідження є складним, тривалим (1–3 тижні) і вимагає дороговартісних середовищ, збагачених сироваткою та дріжджовим екстрактом. У зв'язку з цим, «золотим стандартом» діагностики у дорослих на сьогодні визнано полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) або серологічний моніторинг із визначенням наростання титру специфічних IgM/IgG у парних сироватках, хоча слід враховувати, що у пацієнтів старше 40 років імунна відповідь може бути сповільненою [16].

Іншим важливим представником атипової флори є *Chlamydophila pneumoniae* — облігатний внутрішньоклітинний паразит зі складним життєвим циклом, що включає чергування інфекційних позаклітинних форм (елементарні тільця) та реплікативних внутрішньоклітинних форм (ретикулярні тільця). Для пацієнтів середнього віку цей збудник має виняткове значення не лише як етіологічний агент гострої пневмонії, а й як тригер хронічного системного запалення. Сучасні дослідження демонструють переконливий зв'язок між персистуючою хламідійною інфекцією та розвитком атеросклерозу й ішемічної хвороби серця. Оскільки віковий проміжок 45–60 років є критичним для маніфестації серцево-судинних патологій, інфікування *C. pneumoniae* розглядається як вагомий кофактор, що погіршує загальний прогноз пацієнта. Клінічна картина хламідійної пневмонії часто стерта, протікає під маскою затяжного бронхіту з субфебрилітетом, що ускладнює своєчасну клінічну діагностику. Лабораторна верифікація базується переважно на молекулярно-генетичних методах (ПЛР) або імуноферментному аналізі (ІФА). Культуральний метод доступний лише спеціалізованим науковим лабораторіям, оскільки вимагає зараження культур клітин (наприклад, лінії Нер-2 або McCoy), що є неприйнятним для рутинної практики [18].

Окреме місце в структурі захворюваності осіб працездатного віку займає *Legionella pneumophila* (переважно серогрупа 1), яка становить серйозну техногенну небезпеку. Це грамнегативна паличка, природним резервуаром якої є водні середовища. Епідеміологія легіонельозу тісно пов'язана з інженерними системами: централізованим кондиціонуванням повітря у великих офісних центрах та готелях, а також системами гарячого водопостачання. Особи середнього віку, які часто перебувають у відрядженнях або працюють у кондиціонованих приміщеннях, становлять основну групу ризику. На відміну від мікоплазменної інфекції, легіонела здатна викликати тяжку форму пневмонії («хвороба легіонерів»), яка часто супроводжується поліорганною недостатністю та високою летальністю. Додатковими факторами сприйнятливості у віці 45+ виступають куріння, цукровий діабет та прийом системних глюкокортикостероїдів. Для технолога медичної діагностики важливо пам'ятати, що *L. pneumophila* погано сприймає барвники при фарбуванні за Грамом (доцільніше використовувати метод сріблення або за Гімзою) і не росте на стандартному кров'яному агарі. Для її культивування необхідне використання селективного вугільно-дріжджового агару (BCYE) з обов'язковим додаванням L-цистеїну та солей заліза. Найшвидшим та найефективнішим методом скринінгу є імунохроматографічний тест на визначення розчинного антигену легіонели в сечі, який залишається позитивним навіть на тлі розпочатої антибіотикотерапії, що дозволяє швидко верифікувати діагноз у критичних ситуаціях [13, 18].

1.3. Вірусно-бактеріальні асоціації та їх вплив на тяжкість перебігу пневмонії.

У сучасній пульмонології та лабораторній медицині класична парадигма «однієї хвороби — одного збудника» поступово втрачає свою актуальність, поступаючись місцем концепції ко-інфекцій. Для когорти пацієнтів середнього віку (45–60 років), чия імунна система, з одного боку, ще зберігає високу реактивність, а з іншого — вже зазнає вікових регуляторних змін, особливу небезпеку становлять саме вірусно-бактеріальні асоціації, або мікст-інфекції. У таких клінічних сценаріях респіраторний вірус діє не просто як ко-агент, а виступає в ролі потужного біологічного «пейсмейкера» (ініціатора), що готує морфологічне та імунологічне підґрунтя для приєднання тяжкої бактеріальної суперінфекції.

Тяжкість перебігу таких асоційованих інфекцій обумовлена не простим арифметичним сумуванням патогенних ефектів, а складними механізмами взаємного посилення, що реалізуються на декількох рівнях. Перш за все, відбувається деструкція епітеліального бар'єра. Респіраторні віруси, зокрема вірус грипу та SARS-CoV-2, чинять пряму цитопатичну дію на війчастий епітелій бронхів. Руйнування війок критично пригнічує мукоциліарний кліренс — основний механізм механічного очищення легенів, а оголення базальної мембрани відкриває нові сайти адгезії, до яких легко прикріплюються такі бактерії, як *Streptococcus pneumoniae* та *Staphylococcus aureus* [9].

Паралельно з фізичним пошкодженням відбувається модифікація клітинних рецепторів. Доведено, що вірусна нейрамінідаза (характерна для вірусу грипу) розщеплює сіалові кислоти на поверхні клітин господаря, що демаскує рецептори для бактеріальних адгезинів. Цей молекулярний механізм пояснює відомий клінічний феномен різкого зростання ризику вторинної пневмококової пневмонії саме на 5–7 добу після маніфестації вірусного захворювання. Третім ключовим

компонентом патогенезу є специфічна імуносупресія, або так званий «іммунний параліч»: вірусна інвазія стимулює масивний викид інтерферонів I типу для противірусного захисту, які, в свою чергу, парадоксально пригнічують відповідь Th17-лімфоцитів та фагоцитарну активність нейтрофілів і макрофагів. У результаті такої тимчасової «сліпоти» фагоцитів бактерії отримують можливість безперешкодно розмножуватися в альвеолярному просторі.

Серед клініко-епідеміологічних комбінацій для осіб середнього віку найбільш загрозливою історично вважається асоціація вірусу грипу та *Staphylococcus aureus*. Ця комбінація супроводжується найвищими показниками летальності, оскільки на тлі грипозної інфекції золотистий стафілокок часто набуває здатності продукувати лейкоцидин Пантона-Валентайна (PVL) — потужний екзотоксин, що викликає масивний некроз легеневої тканини. Клінічно це проявляється швидким прогресуванням дихальної недостатності, деструкцією паренхіми та кровохарканням. Дещо інший сценарій спостерігається при COVID-19, особливо у госпіталізованих пацієнтів, де тривала імуносупресія (як вірус-індукована, так і медикаментозна, внаслідок терапії кортикостероїдами) призводить до приєднання госпітальної грамнегативної флори, зокрема *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* та *Pseudomonas aeruginosa*. Також не слід ігнорувати роль респіраторно-синцитіального вірусу (РСВ) та аденовірусів, які у дорослих пацієнтів віком понад 45 років часто стають тригерами загострення хронічного обструктивного захворювання легень з подальшою пневмококовою інфільтрацією [17].

Головним викликом для лабораторної служби та клініцистів у веденні таких пацієнтів залишається своєчасне розпізнавання моменту переходу вірусної інфекції у бактеріальну фазу, оскільки клінічна картина (лихоманка, кашель, задишка) при обох станах часто ідентична. У цьому контексті вирішальну роль відіграють специфічні біомаркери запалення, серед яких «золотим стандартом» диференційної діагностики на сьогодні

визнано прокальцитонін (PCT). При неускладненій вірусній пневмонії рівень PCT зазвичай залишається низьким ($<0,25\text{--}0,5$ нг/мл), оскільки інтерферон-гамма блокує його синтез. Натомість різке підвищення концентрації прокальцитоніну ($>0,5\text{--}1,0$ нг/мл) на тлі вірусної інфекції є прямим індикатором приєднання бактеріального компонента і слугує об'єктивним сигналом для початку антибіотикотерапії. Допоміжним маркером виступає С-реактивний білок (CRP), який, хоч і є менш специфічним через підвищення і при вірусному цитокіновому штормі, проте його кількісна динаміка є важливою для моніторингу ефективності призначеного лікування [9].

1.4. Особливості спектра збудників при нозокоміальних (госпітальних) пневмоніях.

Окремим і вкрай складним розділом клінічної пульмонології є діагностика та лікування нозокоміальних (госпітальних) пневмоній — інфекційних уражень легеневої паренхіми, що розвиваються не раніше ніж через 48 годин після госпіталізації пацієнта, за умови відсутності клініко-рентгенологічних ознак захворювання на момент поступлення. Для пацієнтів середнього віку (45–60 років) ця патологія найчастіше стає грізним ускладненням після планових об’ємних хірургічних втручань, зокрема в абдомінальній та торакальній хірургії, внаслідок важких політравм або під час тривалого перебування у відділеннях інтенсивної терапії на штучній вентиляції легень (вентилятор-асоційована пневмонія).

Фундаментальною відмінністю етіологічної структури госпітальних пневмоній від негоспітальних форм є радикальна зміна мікробіологічного пейзажу: відбувається заміщення чутливої грампозитивної флори на переважно грамнегативну, часто полірезистентну мікрофлору. У сучасній світовій мікробіології найбільш небезпечні госпітальні патогени об’єднані акронімом **ESKAPE** (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*), що символічно відображає їхню унікальну здатність «вислизати» (escape) від дії більшості відомих антибактеріальних препаратів [2, 15].

Серед грамнегативних збудників одним із найпоширеніших агентів у відділеннях інтенсивної терапії є *Pseudomonas aeruginosa* (синьогнійна паличка). Для пацієнтів середнього віку ключовими факторами ризику інфікування цим патогеном є наявність бронхоектазів або необхідність тривалої респіраторної підтримки. З точки зору лабораторної діагностики, ідентифікація *P. aeruginosa* базується на виявленні її природної стійкості до широкого спектра антибіотиків та здатності формувати потужні біоплівки на абіотичних поверхнях, зокрема на ендотрахеальних трубках.

Характерною фенотиповою ознакою, що полегшує первинну візуальну діагностику, є продукція пігментів (зокрема піоціаніну), які надають колоніям на поживних середовищах та мокротинню пацієнта специфічного синьо-зеленого забарвлення.

Не меншу загрозу становить *Acinetobacter baumannii*, який отримав неформальну назву «кошмар реаніматологів» через свою виняткову виживаність на об'єктах лікарняного середовища (обладнання, меблі, руки персоналу) та стрімке поширення. Пневмонії, викликані *A. baumannii*, характеризуються блискавичним перебігом і високими показниками летальності. Критичною проблемою для лабораторії стає той факт, що більшість госпітальних штамів є панрезистентними, тобто стійкими до всіх класів антибіотиків, зберігаючи чутливість іноді лише до препаратів резерву, таких як колістин. У групі ентеробактерій особливу увагу привертають представники порядку *Enterobacterales*, зокрема *Klebsiella pneumoniae* та *Enterobacter spp.* Їх головна небезпека у госпітальному середовищі полягає в здатності продукувати плазмідні бета-лактамази розширеного спектра (БЛРС/ESBL) та карбапенемази (типу KPC, NDM-1), що робить неефективним застосування цефалоспоринових та карбапенемів. Лабораторна ідентифікація клебсієли часто полегшується завдяки характерній морфології колоній: вони великі, слизові та схильні до злиття, що обумовлено гіперпродукцією капсульного полісахариду — ключового фактора вірулентності [2].

Серед грампозитивної флори провідну роль у нозокоміальній патології відіграє *Staphylococcus aureus*, зокрема його метицилін-резистентні штами (MRSA). Такі пневмонії часто виникають як суперінфекція після перенесеного грипу або внаслідок гематогенного поширення збудника через інфіковані судинні катетери. Лабораторна верифікація MRSA вимагає використання селективних хромогенних середовищ або молекулярної детекції гена *mecA*, який кодує модифікований пеніцилінзв'язуючий білок (PBP2a), забезпечуючи

стійкість бактерії до всіх бета-лактамних антибіотиків. Крім того, у пацієнтів середнього віку, які отримують тривалу та масивну антибактеріальну терапію, зростає ризик грибкової суперінфекції, спричиненої дріжджоподібними грибами роду *Candida* або пліснявими грибами роду *Aspergillus*, що вимагає від лаборанта особливої настороженості при негативних результатах бактеріальних посівів.

Фундаментальним викликом для лабораторної діагностики госпітальних пневмоній є диференціація між простою колонізацією верхніх дихальних шляхів лікарняною флорою та істинним інфекційним процесом у нижніх дихальних шляхах. Сам факт виділення *P. aeruginosa* або *A. baumannii* з мокротиння не є абсолютним доказом пневмонії. Для достовірної верифікації діагнозу необхідне проведення виключно кількісних бактеріологічних досліджень. Діагностично значущими титрами, що свідчать про етіологічну роль виділеного мікроорганізму, прийнято вважати: для матеріалу бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) — $\geq 10^4$ КУО/мл, а для ендотрахеального аспірату — $\geq 10^5$ – 10^6 КУО/мл. Тільки дотримання цих кількісних критеріїв дозволяє уникнути гіпердіагностики та необґрунтованого призначення токсичних антибіотиків резерву [15].

Розділ 2. Фактори ризику та їх вплив на зміну мікробіологічного пейзажу

2.1. Вплив коморбідних станів (ХОЗЛ, цукровий діабет) на колонізацію дихальних шляхів умовно-патогенною флорою.

Віковий проміжок 45–60 років є критичним періодом у житті людини, коли відбувається природне накопичення хронічної соматичної патології. Наявність коморбідних станів не просто знижує загальну резистентність організму, а й фундаментально змінює екологічну нішу респіраторного тракту. Це призводить до клініко-мікробіологічного феномену «зміни лідера» (*shift of pathogens*), коли місце класичних респіраторних збудників, таких як пневмокок, займає умовно-патогенна та грамнегативна флора, яка за звичайних умов не здатна викликати захворювання у імунокомпетентної особи.

Найбільш значущим фактором ризику трансформації мікробіологічного пейзажу легень є хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ). Патогенетичні зміни при цій нозології, зокрема структурна перебудова бронхіального дерева, гіперсекреція в'язкого слизу та критичне зниження мукоциліарного кліренсу, створюють ідеальні умови для персистенції специфічних мікроорганізмів. На відміну від здорових людей, у пацієнтів з ХОЗЛ нижні дихальні шляхи втрачають стерильність навіть у період клінічної ремісії. Відбувається колонізація бронхів потенційно патогенними мікроорганізмами (РРМ), чому сприяє висока в'язкість мокротиння, що стає матриксом для формування бактеріальних біоплівки. Ці структури надійно захищають збудників від факторів імунного захисту та дії антибіотиків, ускладнюючи ерадикацію [7].

Для пацієнтів середнього віку з ХОЗЛ характерна специфічна мікробіологічна картина. Лідируючі позиції займає *Haemophilus influenzae*, що виявляється у 40–60% випадків загострень і підтримує хронічне запалення низької інтенсивності, яке пришвидшує прогресування обструкції. Другим типовим агентом є *Moraxella catarrhalis* —

грамнегативний диплокок, особливістю якого є здатність більшості штамів (до 95%) продукувати бета-лактамази, що робить їх природно стійкими до незахищених пеніцилінів. У пацієнтів із тяжким перебігом захворювання та наявністю бронхоектазів домінує *Pseudomonas aeruginosa*, поява якої у мокротинні завжди розцінюється клініцистами як маркер несприятливого прогнозу та швидкого прогресування дихальної недостатності.

Іншим потужним модифікатором спектра збудників є цукровий діабет 2-го типу, дебют якого часто припадає саме на середній вік. Це захворювання створює системні імунodefіцитні умови через прямий токсичний вплив гіперглікемії на фагоцити, що призводить до зниження хемотаксису, порушення фагоцитарної активності та дефекту внутрішньоклітинного кілінгу нейтрофілів. Крім того, підвищений рівень глюкози в тканинах легень та інтерстиціальній рідині слугує додатковим поживним субстратом для розмноження бактерій. У таких пацієнтів етіологічна структура пневмоній зміщується в бік грамнегативних ентеробактерій та стафілококів. Спостерігається сильна кореляція між декомпенсованим діабетом та пневмонією, викликаною *Klebsiella pneumoniae*. В умовах гіперглікемії капсула клебсієли стає більш щільною та масивною, що забезпечує їй додатковий захист від фагоцитозу і часто призводить до розвитку тяжких деструктивних форм пневмонії з швидким формуванням абсцесів та емпієми плеври. Також у хворих на діабет в 2–3 рази частіше виділяється *Staphylococcus aureus*, що пов'язано з підвищеною адгезією бактерій до глікозильованих рецепторів епітеліоцитів дихальних шляхів. Нерідко причиною пневмонії у цієї категорії хворих стають *Escherichia coli* та інші ентеробактерії внаслідок транслокації кишкової флори або мікроаспірації на тлі діабетичної гастропатії (гастропарезу) [14].

Для фахівця з лабораторної діагностики наявність цих коморбідних станів диктує особливі вимоги до проведення аналізу. Часто

спостерігається полімікробний характер інфекції (мікст-інфекції), що ускладнює визначення провідного патогена. Лаборант стикається з необхідністю чіткої диференціації між колонізацією та істинною інфекцією, спираючись на кількісні показники посіву (КУО/мл) та результати цитологічного дослідження мазка мокротиння. Крім того, враховуючи часті курси попередньої антибіотикотерапії у пацієнтів з ХОЗЛ та діабетом, рутинне визначення чутливості до розширеного спектра антибіотиків стає обов'язковим етапом, оскільки емпіричне призначення препаратів у цих групах ризику часто виявляється неефективним через високий рівень набутої резистентності [7].

2.2. Значення факторів способу життя (тютюнопаління, алкоголізм) у розвитку специфічних інфекцій (*K. pneumoniae*, анаероби).

Фактори способу життя, зокрема хронічне зловживання алкоголем та тютюнопаління, у медичній практиці слід розглядати не просто як соціальні характеристики або шкідливі звички пацієнта, а як потужні біологічні детермінанти, що здійснюють жорсткий селективний тиск на мікробіом дихальних шляхів. У пацієнтів середнього віку (45–60 років) ці фактори зазвичай мають багаторічний стаж впливу, що призводить до глибоких, часто незворотних кумулятивних змін у місцевому імунітеті легень, анатомії ротоглотки та фізіології мукоциліарного захисту. Саме ці зміни формують передумови для розвитку специфічних, тяжких форм пневмоній, викликаних нетиповими для здорової популяції збудниками.

Хронічна алкогольна інтоксикація є одним із провідних факторів ризику розвитку деструктивних аспіраційних пневмоній. Патогенетичний ланцюг цього зв'язку є складним і реалізується через три ключові механізми. По-перше, етанол пригнічує безумовні захисні рефлексі — кашльовий та блювотний, а також порушує замикальну функцію надгортанника. Це створює умови для мікро- та макроаспірації вмісту ротоглотки або шлунка в трахеобронхіальне дерево, особливо коли пацієнт перебуває у стані сну або алкогольного сп'яніння. По-друге, у осіб із алкогольною залежністю відбувається фундаментальна зміна колонізаційної резистентності ротоглотки. Внаслідок зміни рН слини та ферментативного складу, нормальна грампозитивна флора заміщується на грамнегативні ентеробактерії, які зазвичай вегетують у кишечнику. По-третє, етанол чинить пряму токсичну дію на альвеолярні макрофаги, пригнічуючи їх хемотаксис та здатність до фагоцитозу, що фактично залишає легеневу тканину беззахисною перед аспірованим бактеріальним інокулюмом [6].

Класичним клінічним проявом пневмонії на тлі алкоголізму є інфекція, викликана *Klebsiella pneumoniae*, яка історично відома як

«пневмонія Фрідлендера». Ця патологія часто називається «візитною карткою» пацієнтів із соціальною дезадаптацією та алкогольною залежністю. Захворювання характеризується блискавичним перебігом, розвитком гострої часткової пневмонії зі схильністю до швидкого некрозу легеневої тканини та формування гангрен легень. Висока вірулентність *K. pneumoniae* обумовлена наявністю товстої полісахаридної капсули (K-антиген), яка екранує клітинну стінку бактерії, роблячи її недоступною для розпізнавання рецепторами фагоцитів та дії системи комплементу. Специфічною клініко-лабораторною ознакою, що дозволяє запідозрити цей діагноз ще на етапі огляду мокротиння, є його особливий характер: воно в'язке, тягуче, має вигляд «смородинового желе» через суміш слизу, частково лізованої крові та некротичних мас, і вкрай важко відкашлюється [6].

Іншою загрозою для цієї категорії пацієнтів є анаеробна інфекція. Недотримання гігієни ротової порожнини, наявність каріозних зубів, гінгівіту та пародонтозу, що часто супроводжує спосіб життя осіб з алкогольною залежністю, призводить до накопичення в зубному нальоті та ясенних кишнях критичної маси анаеробних мікроорганізмів, таких як *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogenica* та *Peptostreptococcus spp.* При аспірації цей масивний конгломерат потрапляє в дихальні шляхи, де в умовах гіпоксії (наприклад, в ателектазованих ділянках) викликає абсцедуючу пневмонію. Патогномонічною ознакою такого процесу є різкий, гнильний запах мокротиння (*fetor ex ore*), який свідчить про активний протеоліз та розпад легеневої тканини під дією анаеробних ферментів.

Тютюнопаління виступає іншим потужним фактором селекції респіраторних патогенів. Компоненти тютюнового диму чинять пряму цитотоксичну дію на миготливий епітелій бронхів (циліотоксичність), викликаючи спочатку сповільнення биття, а згодом і повний параліч та деструкцію війок. Це призводить до зупинки «мукоциліарного

ескалатора» — основного механізму самоочищення легень. Окрім механічного пошкодження, тютюновий дим стимулює запалення, що підвищує експресію молекул адгезії на поверхні епітеліоцитів, полегшуючи бактеріальну колонізацію.

Специфічні зміни спектра збудників у курців включають підвищену сприйнятливість до *Legionella pneumophila* та *Streptococcus pneumoniae*. Тютюнопаління визнано найсильнішим доведеним фактором ризику для розвитку хвороби легіонерів, підвищуючи ймовірність інфікування у 3–4 рази порівняно з популяцією некурців. Це пояснюється тим, що легіонела є внутрішньоклітинним паразитом, захист від якого забезпечують альвеолярні макрофаги, функціональна активність яких у курців різко пригнічена. Що стосується пневмокока, то у курців середнього віку значно частіше розвиваються тяжкі, інвазивні форми інфекції з бактеріємією. Молекулярною основою цього явища є здатність компонентів тютюнового диму посилювати експресію рецептора фактора активації тромбоцитів (PAF-рецептора) на клітинах дихальних шляхів, який пневмокок використовує як «якір» для адгезії та проникнення в тканини [10].

Для фахівця лабораторної медицини збір анамнезу щодо способу життя пацієнта є критично важливим етапом, оскільки він визначає вибір діагностичних методик. При підозрі на анаеробну етіологію (у пацієнтів з алкоголізмом та аспірацією) стандартний бактеріологічний посів мокротиння в аеробних умовах є абсолютно неінформативним, оскільки на середовищах виросте лише супутня флора верхніх дихальних шляхів. У таких випадках необхідний посів матеріалу, отриманого інвазивним шляхом (пунктат абсцесу, плевральна рідина), з використанням спеціальних тіогліколевих транспортних середовищ та культивування в анаеростатах або камерах типу GasPak. Мікроскопія також може бути корисною, виявляючи характерні веретеноподібні фузобактерії. У випадку підозри на *K. pneumoniae*, лаборант повинен звернути увагу на

морфологію колоній на диференціальних середовищах Ендо або МакКонкі: вони виглядають великими, жирними, слизовими та схильні до злиття. Важливим підтверджуючим тестом на рівні рутинної практики є проведення «струнного тесту» (*string test*): при дотику бактеріологічною петлею колонія тягнеться за нею у вигляді довгої в'язкої нитки (довжиною понад 5 мм), що є прямим свідченням гіпермуков'язкості та високої вірулентності штаму [6].

2.3. Поширення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів серед популяції середнього віку.

Глобальне поширення антибіотикорезистентності (AMR) кардинально змінило парадигму емпіричної терапії інфекцій нижніх дихальних шляхів. Якщо в класичній медицині резистентність традиційно вважалася проблемою виключно нозокоміальних штамів, що циркулюють у відділеннях реанімації та хірургії, то сьогодні клініцисти та мікробіологи спостерігають тривожну тенденцію експоненційного зростання стійкості серед збудників негоспітальних інфекцій. Особливе занепокоєння викликає ситуація в соціально активній популяції осіб середнього віку (45–60 років), де межі між «госпітальним» та «домашнім» штамом стають дедалі більш розмитими.

Формування резистому у цієї вікової когорти обумовлено специфічною соціо-поведінковою моделлю. Першочерговим фактором є безконтрольний та часто необґрунтований прийом антибактеріальних препаратів. Масове самолікування під час сезонних спалахів вірусних інфекцій, таких як грип або пандемія COVID-19, створило безпрецедентний селективний тиск на мікробіом, сприяючи виживанню та розмноженню резистентної флори. Ситуацію погіршує низька прихильність пацієнтів до дотримання повного курсу терапії: припинення прийому ліків при першому клінічному покращенні призводить до створення субінгібуючих концентрацій антибіотика в тканинах, що не вбиває бактерії, а лише «тренує» їх, залишаючи життєздатними найбільш стійкі субпопуляції. Крім того, глобалізація та активні подорожі осіб працездатного віку сприяють транскордонному імпорту резистентних клонів із регіонів з високим рівнем AMR, зокрема з країн Південно-Східної Азії та Південної Європи [3].

Найбільшим викликом у терапії негоспітальних пневмоній є зростання частки пеніцилін-резистентних пневмококів (PRSP). На відміну від стафілококів, механізм стійкості *Streptococcus pneumoniae* не

пов'язаний із продукцією ферментів бета-лактамаз, що робить застосування інгібіторів (клавуланової кислоти) неефективним. Резистентність у даному випадку є хромосомною і обумовлена ступінчастими мутаціями в генах, які кодують пеніцилінзв'язуючі білки (ПЗБ) клітинної стінки. Ці конформаційні зміни призводять до зниження афінності (спорідненості) бета-лактамних антибіотиків до їхньої мішені. У лабораторній практиці для первинного скринінгу PRSP використовують диск з оксациліном (1 мкг). Зона затримки росту менше 20 мм є сигналом про ймовірну резистентність. У таких випадках якісного методу недостатньо, і згідно зі стандартами EUCAST, обов'язковим стає визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) для пеніциліну та цефтріаксону за допомогою градієнтної дифузії (Е-тести) або автоматичних аналізаторів. Це критично важливо, оскільки критерії чутливості відрізняються залежно від шляху введення препарату (пероральний чи парентеральний) та клінічної форми (менінгіт чи пневмонія) [5].

Серед грамнегативних збудників родини *Enterobacterales* (*E. coli*, *K. pneumoniae*), які все частіше стають причиною пневмоній у пацієнтів з коморбідними станами, домінуючим механізмом стійкості є продукція бета-лактамаз розширеного спектра (БЛРС або ESBL). Ці ферменти, що найчастіше мають плазмідну природу (наприклад, тип CTX-M), здатні гідролізувати пеніциліни та цефалоспорины I–IV поколінь, залишаючи активними лише карбапенеми, що значно звужує терапевтичні можливості. Лабораторна детекція цього феномену базується на виявленні синергізму між цефалоспоринами та інгібіторами бета-лактамаз. Класичним проявом є розширення зони затримки росту навколо диска з цефалоспорином у бік диска з клавулановою кислотою, що формує характерну фігуру, відому як «ефект пробки від шампанського».

Особливу епідеміологічну небезпеку для працездатного населення становить поширення позалікарняних штамів метицилін-резистентного

Staphylococcus aureus (CA-MRSA). На відміну від госпітальних штамів, CA-MRSA часто зберігають чутливість до не-бета-лактамних антибіотиків (кліндаміцину, фторхінолонів), проте характеризуються надзвичайно високою вірулентністю. Ключовим фактором патогенності є продукція токсину Пантона-Валентайна (PVL), який викликає лізис лейкоцитів та швидкий некроз легеневої тканини, призводячи до розвитку тяжких некротизуючих пневмоній у раніше здорових людей. Генетичною основою резистентності є наявність гена *tesA* або *tesC*, що кодує модифікований білок PBP2a. Для лабораторної ідентифікації MRSA «золотим стандартом» фенотипового тестування є використання диска з цефокситином (30 мкг), який є більш потужним індуктором експресії гена *tesA*, ніж оксацилін, що забезпечує вищу чутливість та специфічність тесту [5].

Також у популяції середнього віку, де макроліди (азитроміцин, кларитроміцин) часто призначаються емпірично як препарати першої лінії, спостерігається критичне зростання резистентності *S. pneumoniae* до цієї групи антибіотиків, яка в деяких регіонах перевищує 30%. Механізми стійкості реалізуються двома шляхами: модифікацією мішені внаслідок метилювання рибосомальної РНК (забезпечує високий рівень стійкості, часто перехресної з кліндаміцином) або активним виведенням антибіотика з клітини за допомогою ефлюкських насосів (забезпечує помірний рівень стійкості).

В епоху глобальної кризи антибіотикорезистентності роль фахівця з лабораторної діагностики трансформується: завданням лаборанта перестає бути проста технічна видача результату у форматі «S/I/R» (Чутливий/При збільшеній експозиції/Стійкий). Сучасний стандарт вимагає впровадження так званого інтерпретаційного зчитування антибіотикограми. Це передбачає аналіз отриманих фенотипів на біологічну вірогідність, виявлення технічних помилок (наприклад, фенотип «пеніцилін-чутлива, але ванкоміцин-резистентна клебсієла» є неможливим і вимагає перевірки

ідентифікації) та експертну корекцію результатів. Наприклад, при фенотиповому підтвердженні MRSA, лабораторія зобов'язана автоматично звітувати про резистентність штаму до всіх бета-лактамних антибіотиків (пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів), незалежно від того, які зони затримки росту були отримані при тестуванні *in vitro*, оскільки клінічна ефективність цих препаратів буде нульовою [3].

2.4. Стратифікація пацієнтів за групами ризику для прогнозування етіології пневмонії.

В умовах реальної клінічної практики, коли отримання результатів класичних мікробіологічних досліджень об'єктивно потребує від 48 до 72 годин для виділення чистої культури та визначення її чутливості, стратегія ведення пацієнта вимушено базується на прогнозуванні ймовірного збудника. Для когорти осіб середнього віку (45–60 років) найбільш релевантною та клінічно обґрунтованою є стратифікація на чотири прогностичні групи. Цей поділ враховує місце лікування (амбулаторні умови чи стаціонар), наявність супутньої соматичної патології та модифікуючих факторів ризику, що в сукупності диктує не лише вибір стартової антибактеріальної терапії, а й специфічний алгоритм лабораторного обстеження для кожної категорії.

До першої групи ризику відносять імунокомпетентних осіб працездатного віку, які захворіли гостро, не мають тяжких хронічних захворювань, таких як цукровий діабет, серцева недостатність або обструктивні захворювання легень, та не приймали системні антибактеріальні препарати протягом останніх трьох місяців. У етіологічній структурі захворювань цієї групи спостерігається абсолютне домінування класичного *Streptococcus pneumoniae* та так званих «атипових» збудників, зокрема *Mycoplasma pneumoniae* та *Chlamydophila pneumoniae*, а дещо рідше причиною стають респіраторні віруси. З точки зору лабораторного менеджменту, рутинне бактеріологічне дослідження мокротиння у таких пацієнтів згідно з міжнародними протоколами часто вважається факультативним, оскільки стандартна емпірична терапія демонструє високу ефективність. Проте, при підозрі на епідемічний спалах у організованому колективі доцільним є застосування молекулярно-генетичних методів (ПЛР) для верифікації мікоплазмозу або хламідіозу, а також використання експрес-тестів для виключення грипу чи COVID-19 [1].

Друга група є найбільш чисельною та гетерогенною серед пацієнтів віком понад 45 років. Вона включає осіб, які лікуються амбулаторно, але мають обтяжений преморбідний фон: курців, пацієнтів з хронічним бронхітом, цукровим діабетом, патологією серцево-судинної системи, або тих, хто нещодавно проходив курс антибіотикотерапії. У цих хворих, поряд із збереженням провідної ролі пневмокока (із зростанням ризику виділення пеніцилін-резистентних штамів PRSP), різко зростає ймовірність інфікування грамнегативною флорою, зокрема *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* та представниками порядку *Enterobacterales* (*E. coli*, *K. pneumoniae*), а також золотистим стафілококом. Для цієї категорії лабораторний алгоритм змінюється кардинально: бактеріологічне дослідження мокротиння стає суворо обов'язковим. Ключовим завданням лабораторії є постановка розширеної антибіотикограми з включенням захищених пеніцилінів та цефалоспоринів II–III покоління, а також активний пошук феноменів продукції бета-лактамаз, що критично впливає на прогноз лікування [1].

Третя група включає пацієнтів із середньотяжким перебігом пневмонії, які за медичними показаннями потребують госпіталізації у терапевтичне або пульмонологічне відділення через наявність ознак дихальної недостатності або декомпенсації супутніх хвороб. Етіологічний спектр у цій когорті значно розширюється: окрім типових та грамнегативних збудників, з'являється реальний ризик анаеробної інфекції (особливо за наявності факторів ризику аспірації) та *Legionella pneumophila*. Лабораторний супровід таких пацієнтів передбачає комплексний підхід: обов'язкову мікроскопію та посів мокротиння для оцінки якості зразка та морфології збудника, а також проведення гемокультивування (посів крові). Останнє виконується шляхом забору двох зразків з різних периферичних вен до початку введення антибіотиків і має на меті виявлення бактеріємії як ознаки генералізації інфекційного процесу. Додатково рекомендовано використання імунохроматографічних

тестів (Urinary Antigen Test) для експрес-визначення розчинного антигену легіонели в сечі, що є особливо актуальним для пацієнтів-мандрівників та злісних курців [9].

Найтяжчу категорію хворих складає четверта група — пацієнти з тяжкою пневмонією, які потребують негайних реанімаційних заходів у відділеннях інтенсивної терапії. У межах цієї групи проводиться додаткова стратифікація за наявністю ризику інфікування *Pseudomonas aeruginosa* (бронхоектатична хвороба, муковісцидоз, тривалий прийом системних кортикостероїдів). Прогнозований спектр включає найбільш агресивні та резистентні патогени: *S. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *S. aureus* (включаючи MRSA) та грамнегативні ентеробактерії, а за наявності факторів ризику — синьогнійну паличку. Завдання лабораторії в таких умовах зміщуються в площину екстреної діагностики. Пріоритет віддається використанню інвазивних методів забору біоматеріалу, таких як трахеальний аспірат або бронхоальвеолярний лаваж (БАЛ), що дозволяє отримати вміст саме нижніх дихальних шляхів, мінаючи контаміновану ротоглотку. "Золотим стандартом" стає кількісний посів для диференціації інфекції від колонізації та застосування швидких молекулярно-генетичних методів (ПЛР) для негайної детекції генів резистентності (*tesA*, *vanA/B*, *KPC*), що дозволяє розпочати таргетну терапію в перші години після госпіталізації [9].

Розділ 3. Сучасні технології лабораторної ідентифікації збудників пневмонії.

3.1. Алгоритм бактеріологічного дослідження: преаналітичний етап, мікроскопія та культуральні методи.

Незважаючи на стрімкий розвиток молекулярно-генетичних та імунохімічних технологій, класичний бактеріологічний метод залишається «золотим стандартом» етіологічної діагностики негоспітальних та нозокоміальних пневмоній. Його унікальна цінність полягає у можливості не лише ідентифікувати збудника до виду, а й отримати життєздатну чисту культуру, що є необхідною умовою для фенотипового визначення чутливості до антибіотиків та виявлення механізмів резистентності. Валідність та клінічна цінність отриманого результату перебувають у прямій залежності від суворого дотримання стандартизованого алгоритму на кожному з етапів діагностичного процесу [11].

Фундаментом якісного дослідження є преаналітичний етап, помилки на якому, такі як порушення техніки збору або температурного режиму транспортування, роблять подальший високовартісний аналіз беззмисовним або навіть шкідливим через ризик хибної діагностики. Оптимальним матеріалом для дослідження є ранкова порція мокротиння, зібрана натщесерце. Критично важливим моментом підготовки пацієнта є ретельне полоскання ротової порожнини кип'яченою водою або фізіологічним розчином перед відкашлюванням. Ця процедура необхідна для механічного видалення залишків їжі, злущеного епітелію та, що найважливіше, зменшення контамінації зразка вегетуючою мікрофлорою ротоглотки. Пацієнт повинен бути проінструктований щодо необхідності зробити глибокий вдих і відкашляти вміст саме з нижніх дихальних шляхів у стерильний одноразовий контейнер. Доставка нативного матеріалу в лабораторію має відбуватися у максимально стислі терміни — протягом 2 годин з моменту збору. У разі неможливості дотримання цього часового інтервалу допускається зберігання зразка в холодильнику при

температурі 4°C, але не довше 24 годин, що дозволяє загальмувати розмноження супутньої коменсальної флори та зберегти життєздатність вибагливих патогенів, таких як *Streptococcus pneumoniae* та *Haemophilus influenzae* [12].

Після надходження зразка до лабораторії технолог проводить обов'язковий первинний скринінг, який включає макроскопічну та мікроскопічну оцінку якості матеріалу. На етапі макроскопії оцінюють консистенцію, колір та запах мокротиння, що може надати важливі діагностичні підказки ще до початку посіву. Наприклад, «іржавий» відтінок мокротиння є класичною ознакою пневмококової пневмонії, тоді як в'язкий секрет кольору «смородинового желе» характерний для інфекції, спричиненої *Klebsiella pneumoniae*, а гнильний запах свідчить про ймовірну анаеробну деструкцію легеневої тканини. Наступним і вирішальним кроком є мікроскопічний скринінг зразка, пофарбованого за Грамом. Метою цього етапу є визначення придатності матеріалу для подальшого культивування, для чого використовують шкалу Мюррея-Вашингтона (*Murray-Washington*) або Q-шкалу Бартлетта. Критерієм непридатності зразка, що свідчить про те, що замість мокротиння була зібрана слина, є виявлення у полі зору мікроскопа (при збільшенні x100) понад 10 клітин плоского епітелію та менше 25 поліморфноядерних лейкоцитів. Такі зразки підлягають бракуванню, оскільки їх посів призведе до виділення ротоглоткової флори та дезінформації клініциста. До подальшого аналітичного етапу допускаються лише зразки, що відповідають критеріям «істинного мокротиння»: містять менше 10 епітеліоцитів та значну кількість лейкоцитів (понад 25 у полі зору), що є маркером запального процесу в нижніх дихальних шляхах [8].

Мікроскопія мазка, пофарбованого за Грамом, окрім функції контролю якості, має важливе діагностичне значення як метод експрес-діагностики. Інтерпретація морфо-тинкторіальних властивостей бактерій дозволяє зробити попередній висновок про етіологію пневмонії. Так,

наявність грампозитивних ланцетоподібних диплококів, оточених світлим ореолом капсули, дозволяє з високою ймовірністю запідозрити *S. pneumoniae*. Виявлення дрібних грамнегативних кокобацил вказує на *H. influenzae*, скупчення грампозитивних коків у вигляді грон — на *S. aureus*, а товсті грамнегативні палички з вираженою капсулою характерні для *K. pneumoniae*. Ця інформація дозволяє лікарю скоригувати емпіричну антибіотикотерапію в перші години після госпіталізації пацієнта, не чекаючи результатів посіву.

Аналітичний етап дослідження розпочинається з попередньої обробки зразка. Оскільки гнійне мокротиння має високу в'язкість та нерівномірний розподіл бактерій, перед посівом проводять його гомогенізацію за допомогою муколітиків, таких як N-ацетилцистеїн або дитіотреїтол. Це дозволяє розрідити секрет, вивільнити бактерії з муцинового матриксу та забезпечити коректність кількісного підрахунку. Техніка посіву також є суворо регламентованою: використовують калібровану бактеріологічну петлю (ємністю 1 мкл або 10 мкл) та метод посіву «на виснаження» або секторний метод Голда. Це дає змогу визначити ступінь бактеріального обсіменіння у колонієутворюючих одиницях (КУО/мл). Для мокротиння діагностично значущим порогом, що дозволяє диференціювати етіологічний агент пневмонії від колонізуючої флори, вважається титр $\geq 10^5$ – 10^6 КУО/мл. Виділення бактерій у нижчих титрах зазвичай розцінюється як супутня контамінація або носійство [8, 11].

Для забезпечення росту всього спектра потенційних респіраторних патогенів використовують стандартизований набір поживних середовищ. Базовим є кров'яний агар, який слугує універсальним середовищем для оцінки гемолітичної активності *S. pneumoniae* (альфа-гемоліз) та *S. aureus* (бета-гемоліз). Для вибагливих мікроорганізмів, зокрема *H. influenzae*, які не здатні рости на звичайному кров'яному агарі, обов'язковим є використання «шоколадного» агару — збагаченого середовища з

прогрітою кров'ю, що містить вивільнені фактори росту X (гемін) та V (NAD). Для селективного виділення грамнегативних ентеробактерій (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) застосовують диференційно-діагностичні середовища Ендо або МакКонкі, які пригнічують ріст грампозитивної флори. При підозрі на грибкову етіологію, особливо у пацієнтів після тривалих курсів антибіотикотерапії, додатково використовують агар Сабуро з декстрозою [12].

Умови інкубації посівів також мають свою специфіку. Чашки Петрі поміщають у термостат при температурі 35–37°C на 18–24 години (для грибів інкубація продовжується до 48–72 годин). Важливим нюансом є створення капнофільних умов для пневмококів та гемофільної палички, які потребують для свого росту атмосфери з підвищеним вмістом вуглекислого газу (5–10% CO₂). У сучасних лабораторіях це досягається за допомогою CO₂-інкубаторів, а за їх відсутності — використанням спеціальних газогенеруючих пакетів в анаеростатах або класичним методом «свічки» в ексикаторі. Лише сукупне дотримання цих вимог гарантує отримання достовірного результату мікробіологічного дослідження.

3.2. Застосування молекулярно-генетичних методів (ПЛР) для верифікації важкокультивованих збудників.

Впровадження методів ампліфікації нуклеїнових кислот, зокрема полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), спричинило справжню технологічну революцію в діагностиці інфекційних захворювань респіраторного тракту. Ця технологія дозволила вирішити фундаментальну проблему класичної клінічної мікробіології — неможливість швидкої та високочутливої детекції збудників, які не ростуть на стандартних поживних середовищах або потребують тривалого часу для культивування. Для когорти пацієнтів середнього віку, у яких етіологічна структура пневмоній значною мірою представлена респіраторними вірусами та атиповими бактеріями, молекулярно-генетичні дослідження сьогодні визнані методом вибору першої лінії, що дозволяє верифікувати діагноз протягом кількох годин, а не діб [17].

Традиційні культуральні методи демонструють низьку ефективність щодо цілої групи клінічно значущих патогенів, що історично призводило до затримки діагностики та вимушеного призначення емпіричної терапії широкого спектра. Зокрема, культивування атипових бактерій, таких як *Mycoplasma pneumoniae* та *Chlamydophila pneumoniae*, вимагає використання складних, дороговартісних середовищ, а сам процес займає від одного до трьох тижнів, що є неприйнятним для гострого клінічного випадку. ПЛР дозволяє детектувати специфічні фрагменти ДНК збудника (наприклад, ген P1 адгезину мікоплазми) безпосередньо у клінічному зразку (мокротинні, мазках із носоглотки або бронхоальвеолярному лаважі) протягом 2–4 годин. Така оперативність дає змогу клініцисту вчасно призначити таргетну терапію макролідами або респіраторними фторхінолонами, уникаючи неефективного використання бета-лактамів. Аналогічна ситуація спостерігається при діагностиці легіонельозу: хоча *Legionella pneumophila* може бути культивована на селективному агарі BCYE, цей процес займає 3–5 днів. Молекулярний метод має значно вищу

чутливість (до 99%) порівняно з культурою та, що критично важливо, дозволяє виявляти всі геномні види та серогрупи легіонел, на відміну від імунохроматографічного тесту сечі, який обмежений лише першою серогрупою [16].

У контексті вірусної етіології пневмоній ПЛР у реальному часі зі зворотною транскрипцією (RT-PCR) залишається єдиним валідованим методом підтвердження діагнозу. Це стосується як сезонних збудників (віруси грипу А та В, респіраторно-синцитіальний вірус, аденовіруси), так і пандемічного штаму SARS-CoV-2. Важливою перевагою методу Real-time PCR є можливість кількісної оцінки вірусного навантаження через визначення порогового циклу ампліфікації (Ct value). Цей параметр корелює з концентрацією вірусу в дихальних шляхах, що дозволяє оцінювати контагіозність пацієнта та прогнозувати тяжкість перебігу захворювання.

Сучасним трендом у лабораторній діагностиці пневмоній є перехід від тестування «на одного збудника» до синдромного підходу з використанням мультиплексних ПЛР-панелей. Системи типу «зразок-відповідь» (наприклад, технологія BioFire FilmArray) дозволяють за один аналітичний цикл тривалістю 45–60 хвилин перевірити зразок на наявність 20–30 найбільш ймовірних респіраторних патогенів одночасно. Для пацієнта середнього віку з тяжкою пневмонією нез'ясованої етіології така панель закриває потребу у диференціації між вірусами (грип, парагрип, коронавіруси, метапневмовірус) та бактеріями (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *B. pertussis*), а також атипovими агентами [11].

Критичною перевагою молекулярних методів є здатність до генетичної детекції антибіотикорезистентності ще до моменту отримання росту культури, або навіть у випадках, коли культура не проростає через попередній прийом антибіотиків. ПЛР-системи націлені на виявлення ключових генетичних детермінант стійкості: генів *mecA/mecC*, що

кодують резистентність до метициліну (маркер MRSA) і вимагають негайного призначення ванкоміцину; генів *vanA/vanB*, характерних для ванкоміцин-резистентних ентерококів; гена *blaCTX-M*, що є основним маркером продукції бета-лактамаз розширеного спектра (ESBL) у ентеробактерій; а також генів карбапенемаз (*blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*), виявлення яких є сигналом біологічної тривоги для госпітального епідеміолога.

Водночас фахівець із лабораторної діагностики повинен чітко усвідомлювати інтерпретаційні нюанси та обмеження методу. Головною проблемою ПЛР є феномен детекції «мертвої ДНК»: метод виявляє генетичний матеріал як живих, так і загинувших мікроорганізмів. Тому позитивний результат ПЛР після завершення курсу лікування не завжди свідчить про неефективність терапії або рецидив, а може бути наслідком персистенції фрагментів ДНК. Крім того, висока чутливість методу (теоретично — 1–10 копій матриці) створює ризик отримання хибнопозитивних результатів через перехресну контамінацію зразків продуктами ампліфікації (ампліконами). Це вимагає від лабораторії суворого дотримання правил зонування приміщень із фізичним розділенням зон виділення нуклеїнових кислот, приготування реакційної суміші та власне ампліфікації [11, 17].

3.3. Експрес-діагностика пневмоній шляхом виявлення специфічних антигенів у біологічних рідинах.

Сучасна стратегія ведення пацієнтів із пневмонією, особливо у випадках тяжкого перебігу, вимагає від лабораторної служби максимального скорочення часу від моменту госпіталізації до верифікації етіології ("time-to-result"). У цьому контексті імунохімічні методи виявлення розчинних антигенів збудників у біологічних рідинах, насамперед у сечі, стали критично важливою альтернативою та доповненням до класичних культуральних методів. Особливої актуальності цей підхід набуває для діагностики пацієнтів середнього віку, у клінічній картині яких часто домінує непродуктивний, «сухий» кашель (характерний, наприклад, для легіонельозу), що унеможливорює отримання якісного зразка мокротиння. Крім того, значна частина пацієнтів цієї вікової групи надходить до стаціонару вже після початку амбулаторного прийому антибіотиків, що робить традиційний бактеріологічний посів стерильним і неінформативним, тоді як антигенні тести зберігають свою діагностичну цінність [1].

Фізіологічною основою методу є феномен антигенурії. Деякі респіраторні патогени, зокрема *Legionella pneumophila* та *Streptococcus pneumoniae*, під час фази активного логарифмічного розмноження в легеневій паренхімі інтенсивно виділяють у системний кровотік розчинні фрагменти своєї клітинної стінки — специфічні полісахариди або ліпополісахариди. Завдяки низькій молекулярній масі та розчинності у воді, ці антигенні детермінанти вільно проходять крізь гломерулярний фільтр нирок, не піддаються реабсорбції та концентруються у сечі, де можуть бути виявлені високочутливими імунологічними методами навіть тоді, коли бактеріємія вже відсутня.

Однією з ключових діагностичних мішеней для цього методу є *Legionella pneumophila*. Визначення легіонельозного антигену в сечі на сьогодні визнано методом першої лінії діагностики «хвороби легіонерів» у

всьому світі. Більшість комерційних тест-систем налаштовані на детекцію ліпополісахаридного антигену, специфічного для **1-ї серогрупи *L. pneumophila***. Це обумовлено епідеміологічними даними, згідно з якими саме ця серогрупа відповідальна за 70–90% усіх верифікованих випадків легіонельозу у дорослих пацієнтів. Важливою кінетичною особливістю є те, що антигени з'являються в сечі дуже рано — вже на 1–3 добу від появи клінічних симптомів, і можуть персистувати в організмі протягом декількох тижнів, а іноді й місяців після клінічного одужання. Цей факт дозволяє використовувати метод не лише для екстреної, а й для ретроспективної діагностики, підтверджуючи діагноз навіть після завершення повного курсу антибіотикотерапії [18].

Другою, не менш важливою мішенню, є *Streptococcus pneumoniae*. Тест-системи для виявлення пневмококової антигенурії базуються на детекції С-полісахариду клітинної стінки (тейхоєвої кислоти), який є спільним антигенним маркером для всіх відомих серотипів пневмокока. У контексті вікової стратифікації цей тест має найвищу специфічність саме для дорослих пацієнтів. На відміну від дітей дошкільного віку, у яких високий рівень назофарингеального носійства пневмокока часто призводить до хибнопозитивних результатів (антиген потрапляє в сечу з носоглотки), у дорослих середнього віку носійство зустрічається значно рідше. Тому позитивний результат тесту у дорослого пацієнта з рентгенологічно підтвердженою інфільтрацією легень розцінюється як високодостовірний доказ інвазивної пневмококової інфекції.

Технологічно експрес-діагностика найчастіше реалізована у форматі імунохроматографічного аналізу (IXA), відомого також як *Lateral Flow Assay*. Для технолога медичної діагностики цей метод є еталоном простоти та зручності виконання (Point-of-Care Testing). Принцип методу полягає у використанні "сендвіч"-технології: зразок сечі наноситься на пористу мембрану тест-касети і під дією капілярних сил мігрує вздовж неї. Якщо у зразку присутній шуканий антиген, він зв'язується з

кон'югатом — специфічними антитілами, міченими колоїдним золотом або кольоровими латексними мікросферами. Утворений імунний комплекс продовжує рух і захоплюється другим шаром антитіл, іммобілізованих у тестовій зоні (Т), формуючи видиму кольорову смугу. Наявність другої, контрольної смуги (С), є обов'язковою умовою валідності тесту, підтверджуючи правильність проходження рідини через мембрану [18].

Впровадження антигенних тестів у клінічну практику надає низку беззаперечних переваг. Головною з них є швидкість отримання результату — аналіз займає лише 15–20 хвилин, що дозволяє ще на етапі приймального відділення призначити пацієнту прицільну, вузькоспектральну терапію (наприклад, левофлоксацин при легіонельозі), не чекаючи результатів посіву. Іншою критичною перевагою є незалежність від попереднього прийому антибіотиків: на відміну від культури, яка гине вже після першої дози препарату, розчинний антиген продовжує виділятися нирками. Крім того, неінвазивність процедури збору матеріалу (сечі) робить цей метод безпечним та доступним для будь-якої категорії хворих.

Однак, фахівець лабораторії повинен чітко усвідомлювати й обмеження методу. Негативний результат тесту на легіонелу не виключає діагноз легіонельозу, якщо він викликаний іншими серогрупами (не 1-ю) або іншими видами легіонел (наприклад, *L. micdadei*). Найсуттєвішим недоліком є неможливість отримання інформації про чутливість збудника до антибіотиків. Позитивний тест на пневмокок відповідає на питання «хто винен?», але не дає відповіді на питання «чим лікувати?», оскільки не дозволяє виявити резистентність до пеніциліну чи макролідів. Саме тому в сучасних алгоритмах експрес-тести розглядаються не як заміна, а як важливе доповнення до класичного культурального дослідження, що дозволяє виграти час у боротьбі за життя пацієнта [1].

3.4. Технології визначення чутливості виділених штамів до антимікробних препаратів (стандарти EUCAST).

Кінцевою та найбільш відповідальною метою мікробіологічного дослідження при пневмонії є не просто таксономічна ідентифікація збудника, а надання клініцисту точних, валідних даних для призначення ефективної етіотропної терапії. В Україні на сьогодні відбувся остаточний перехід лабораторної служби на стандарти **EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)**, які замінили застарілі радянські методичні вказівки та американські стандарти CLSI. Цей перехід вимагає від сучасної лабораторії суворої стандартизації процедур на всіх етапах — від приготування інокулюму до інтерпретації результатів, оскільки навіть незначні відхилення в технології можуть призвести до фатальних помилок у лікуванні пацієнта [4].

Базовим методом, що поєднує економічну доступність та високу інформативність для більшості рутинних випадків, залишається диск-дифузійний метод (метод Кірбі-Бауера). Однак його виконання згідно з EUCAST передбачає жорсткі вимоги до стандартизації. По-перше, як поживне середовище використовується виключно агар Мюллер-Хінтон (*Mueller-Hinton agar*). Для невибагливих бактерій (стафілококи, ентеробактерії) використовують стандартний агар без добавок, тоді як для вибагливих респіраторних патогенів, таких як *Streptococcus pneumoniae* та *Haemophilus influenzae*, обов'язковим є використання механічно дефібринованої кінської крові (5%) та beta-NAD (20 мг/л) — середовище МН-F. Критичним параметром є товщина шару агару в чашці Петрі, яка має становити суворо $4,0 \pm 0,5$ мм, оскільки від цього залежить швидкість дифузії антибіотика та розмір зони затримки росту. По-друге, приготування інокулюму є критичною точкою контролю. Бактеріальна суспензія повинна відповідати стандарту каламутності **0,5 за шкалою МакФарланда**, що перевіряється денситометром. Порушення концентрації бактерій призводить до хибних результатів: занадто густа

суспензія спричинить утворення менших зон затримки росту (хибна резистентність), а надто рідка — до надмірно великих зон (хибна чутливість). Інтерпретація результатів проводиться шляхом вимірювання діаметрів зон із точністю до міліметра та їх порівняння з таблицями граничних значень (*Clinical Breakpoints*), які оновлюються комітетом EUCAST щорічно [5].

У випадках тяжкого перебігу пневмонії у пацієнтів середнього віку, а також при виділенні полірезистентних штамів, використання якісного диско-дифузійного методу є недостатнім. Клінічна ситуація вимагає кількісного визначення **мінімальної інгібуючої концентрації (МІК)**. Для цього використовують метод градієнтної дифузії (E-test) — пластикові смужки, просочені експоненційним градієнтом антибіотика. Точка перетину еліпса затримки росту зі шкалою на смужці вказує точне значення МІК у мкг/мл. Цей метод є визнаним «золотим стандартом» для підбору дози ванкоміцину при MRSA-інфекціях, а також для визначення чутливості пневмококів до цефалоспоринів. У високотехнологічних лабораторіях процес визначення МІК автоматизовано за допомогою систем типу Vitek 2 або Phoenix. Прилади використовують спеціальні картриджі з мікролунками, що містять різні розведення антибіотиків, і фіксують ріст бактерій турбидиметричним або колориметричним методом, що дозволяє скоротити час отримання результату до 6–10 годин.

Важливою новацією стандартів EUCAST, про яку повинен знати кожен технолог, є зміна дефініції категорії чутливості «I». Раніше ця категорія трактувалася як «Intermediate» (проміжний) і часто сприймалася лікарями як «сіра зона» або ознака неефективності препарату. Згідно з новими правилами, категорія «I» означає «**Susceptible, Increased exposure**» (Чутливий при збільшеній експозиції). Це означає, що збудник може бути ефективно елімінований даним антибіотиком, але для цього необхідно створити високу концентрацію препарату у вогнищі інфекції шляхом збільшення дози, скорочення інтервалу введення або

використання пролонгованої інфузії. Практичним прикладом є *Pseudomonas aeruginosa* дикого типу, яка тепер за замовчуванням класифікується як «I» до ципрофлоксацину та інших препаратів, що змушує лікаря одразу призначати максимальні терапевтичні дози [11].

Крім того, стандарти EUCAST вимагають від лабораторії активного фенотипового пошуку прихованих механізмів резистентності. Для детекції **MRSA** використовують не оксацилін, а диск із цефокситином (30 мкг), який є більш надійним індуктором гена *mecA*. Для виявлення бета-лактамаз розширеного спектра (**ESBL**) у клебсієл та кишкової палички застосовують тест «подвійних дисків» (Double Disk Synergy Test), де розширення зони затримки росту цефалоспорину в бік диска з інгібітором (клавулановою кислотою) підтверджує наявність ферменту. Особливої уваги заслуговує **D-тест** для виявлення індукцибельної резистентності стафілококів до кліндаміцину. Якщо штам демонструє стійкість до еритроміцину, але чутливість до кліндаміцину, постановка дисків поруч дозволяє виявити сплющення зони затримки росту у формі літери «D». Позитивний результат свідчить про наявність гена *erm*, що робить використання кліндаміцину небезпечним через високий ризик терапевтичної невдачі, незважаючи на формальну чутливість *in vitro* [4, 5].

Висновки

1. У генезі негоспітальних пневмоній у осіб середнього віку *S. pneumoniae* та *H. influenzae* відіграють ключову роль. Їх патогенний потенціал реалізується через різні механізми вірулентності (капсула у пневмокока та формування біоплівки у гемофільної палички). Точна лабораторна ідентифікація цих агентів, з урахуванням їх морфотинкторіальних та культуральних властивостей, є фундаментом для призначення адекватної етіотропної терапії та запобігання ускладненням.
2. Атипові збудники у пацієнтів середнього віку формують специфічний сегмент етіологічної структури пневмоній, що характеризується невідповідністю клінічної картини даним фізикального обстеження («walking pneumonia»). Їх внутрішньоклітинна природа або відсутність клітинної стінки роблять рутинні бактеріологічні методи (мікроскопія, стандартний посів) неефективними, вимагаючи впровадження в діагностичний алгоритм молекулярно-генетичних методів та специфічних імунохімічних тестів.
3. Вірусно-бактеріальні асоціації у пацієнтів середнього віку є фактором, що драматично погіршує прогноз захворювання, перетворюючи середньотяжку пневмонію на критичний стан. Розуміння механізмів синергії між вірусами та бактеріями, а також використання специфічних лабораторних маркерів (прокальцитонін) та мультиплексних ПЛР-панелей для одночасної детекції вірусів і бактерій, є необхідною умовою для адекватної діагностики та терапії в сучасній клінічній практиці.
4. Спектр збудників нозокоміальних пневмоній у пацієнтів середнього віку характеризується домінуванням полірезистентних грамнегативних бактерій та MRSA. Успіх лікування таких пацієнтів напряму залежить від якості роботи бактеріологічної лабораторії: швидкості ідентифікації патогену, коректного визначення механізмів

резистентності та інтерпретації результатів кількісного посіву для розмежування інфекційного процесу та носійства.

5. Коморбідні стани, такі як ХОЗЛ та цукровий діабет, є ключовими детермінантами етіологічної структури пневмоній у осіб середнього віку. Вони трансформують респіраторний тракт у середовище, сприятливе для колонізації грамнегативною флорою (*H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) та *S. aureus*, що вимагає зміщення акцентів у лабораторній діагностиці з пошуку «типових» збудників на ідентифікацію умовно-патогенної та резистентної флори.

6. Спосіб життя пацієнта є потужним модифікатором мікробіологічного спектра пневмоній. Алкоголізм асоціюється з високим ризиком аспірації грамнегативної (*K. pneumoniae*) та анаеробної флори з розвитком деструктивних процесів.

Тютюнопаління, порушуючи механізми мукоциліарного захисту, робить пацієнта вразливим до *Legionella pneumophila* та інвазивних форм пневмококової інфекції. Ці особливості вимагають від лабораторії застосування специфічних умов культивування (анаеростат) та підвищеної уваги до морфології колоній.

7. Поширення резистентних штамів серед амбулаторних пацієнтів середнього віку розмиває межі між «домашньою» та «госпітальною» інфекцією. Це вимагає від лабораторної служби переходу від рутинних методів до цілеспрямованого пошуку маркерів резистентності (БЛРС, MRSA, PRSP) у кожному випадку бактеріальної пневмонії, особливо за наявності факторів ризику в анамнезі.

8. Стратифікація пацієнтів дозволяє лабораторії перейти від «сліпого» пошуку до цілеспрямованої діагностики. Розуміння того, до якої групи ризику належить пацієнт, дозволяє лаборанту правильно обрати поживні середовища (наприклад, додати селективний агар для стафілокока або легіонели), обрати відповідний набір дисків з

антибіотиками та правильно інтерпретувати результат, розмежовуючи колонізацію та інфекцію.

9. Дотримання чіткого алгоритму (відбраковування слини за шкалою Мюррея-Вашингтона, використання кількісного посіву та створення капнофільних умов) є гарантією того, що лабораторія виділить саме етіологічний агент пневмонії, а не коменсала ротової порожнини.

10. Молекулярно-генетичні методи не замінюють класичний бакпосів повністю (оскільки не дають повної антибіотикограми для всіх препаратів), але є незамінними для верифікації вірусних, атипових інфекцій та швидкого скринінгу механізмів резистентності. У складних діагностичних випадках у пацієнтів середнього віку саме ПЛР часто стає вирішальним аргументом для вибору тактики лікування.

11. Виявлення антигенів у сечі — це потужний інструмент скринінгу для двох найбільш небезпечних збудників пневмонії у дорослих (*Pneumococcus* та *Legionella*). Впровадження цих тестів у рутинний алгоритм лабораторії дозволяє значно скоротити час до початку адекватного лікування та зменшити смертність у групах ризику.

12. Сучасна лабораторна ідентифікація збудників пневмонії — це високотехнологічний процес, що поєднує сувору стандартизацію преаналітичного етапу, використання диференційних середовищ, молекулярних методів (ПЛР) та точного визначення чутливості за стандартами EUCAST. Роль технолога трансформується від простого виконавця аналізу до консультанта, який допомагає інтерпретувати складні профілі резистентності та категорію «I», забезпечуючи персоналізований підхід до лікування пацієнта.

Список використаних джерел

Нормативно-правові акти та стандарти України:

1. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 06.04.2021 № 639 «Про затвердження Уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Пневмонія у дорослих (негоспітальна)».
2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 01.08.2022 № 1380 «Про затвердження Стандартів медичної допомоги «Госпітальна пневмонія у дорослих (нозокоміальна та вентилятор-асоційована)».
3. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 04.04.2019 № 722 «Про затвердження Порядку проведення епідеміологічного нагляду за антимікробною резистентністю».

Міжнародні рекомендації та стандарти (EUCAST/CLSI):

4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. URL: <http://www.eucast.org>.
5. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.01, July 2017.
6. Metlay J.P., Waterer G.W., Long A.C. et al. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2019. Vol. 200, No. 7. P. e45–e67.
7. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease. 2023 Report.

Спеціальна література (Підручники, монографії, статті):

8. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. навч. закл. / за ред. В.П. Широбокова. – 3-тє вид., оновл. та допов. – Вінниця : Нова Книга, 2021. – 920 с.
9. Інфекційні хвороби : підручник / О.А. Голубовська, М.А. Андрейчин, А.В. Шкурба та ін. ; за ред. О.А. Голубовської. – Київ : ВСВ «Медицина», 2018. – 688 с.
10. Фещенко Ю.І., Дзюблик О.Я., Перцева Т.О. та ін. Негоспітальна пневмонія у дорослих осіб: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія (проєкт клінічних настанов). *Український пульмонологічний журнал*. 2019. № 1. С. 5–16.
11. Manual of Clinical Microbiology / [edited by] Karen C. Carroll, Michael A. Pfaller et al. – 12th edition. – Washington, DC : ASM Press, 2019. – 2700 p. (Базовий посібник для розділу 3).
12. Клінічна лабораторна діагностика : навч. посіб. / Б.Д. Луцик, Л.Є. Лаповець, Г.Б. Лебедь та ін. ; за ред. Б.Д. Луцика. – 2-ге вид., переробл. і допов. – Київ : Медицина, 2018. – 288 с.

Джерела до розділу про коморбідність та резистентність:

13. Cilloniz C., Martin-Loeches I., Garcia-Vidal C. et al. Microbial Etiology of Pneumonia: Epidemiology, Diagnosis and Resistance Patterns. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17(12). P. 2120. (Про спектр збудників).
14. Torres A., Cilloniz C., Niederman M.S. et al. Pneumonia with nonresolving infiltrates: etiology, diagnosis, and management. *Intensive Care Medicine*. 2018. Vol. 44. P. 13–30. (Про групи ризику та стратифікацію).
15. Restrepo M.I., Babu B.L., Reyes L.F. et al. Burden of bacterial resistance in hospitalized adults with community-acquired pneumonia. *Infection and Drug Resistance*. 2019. Vol. 12. P. 1203–1211.

Джерела до розділу про лабораторні методи (ПЛР, ІХА):

- 16.Loens K., Goossens H., Ieven M. Molecular diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019. Vol. 48. P. 1021–1031.
- 17.Murdoch D.R. Nucleic Acid Amplification Tests for the Diagnosis of Pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*. 2011. Vol. 52 (Suppl 4). P. S284–S289.
- 18.Diederer B.M. *Legionella* spp. and Legionnaires' disease. *Journal of Infection*. 2018. Vol. 56. P. 1–12. (Про експрес-тести на легіонелу).