

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ В ХИРУРГИИ

*Слободенюк В.В. \**, кандидат биологических наук, *prof-v-iprim@mail.ru*  
*Воропаева Е.А. \**, кандидат биологических наук, *anaerob.lab@mail.ru*  
*Алешкин В.А. \**, доктор биологических наук, профессор, (495)452-18-16,  
*Афанасьев С.С. \**, доктор медицинских наук, профессор,  
*Караулов А.В. \*\**, член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук,  
профессор, (903) 572-60-26, *drkaraulov@mail.ru*  
*Афанасьев М.С. \*\**, доктор медицинских наук, (916) 685-52-38  
*\*ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора*  
*\*\* ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России*

**Ключевые слова:** перитонит, бактериофаги, микрофлора, антибиотики.

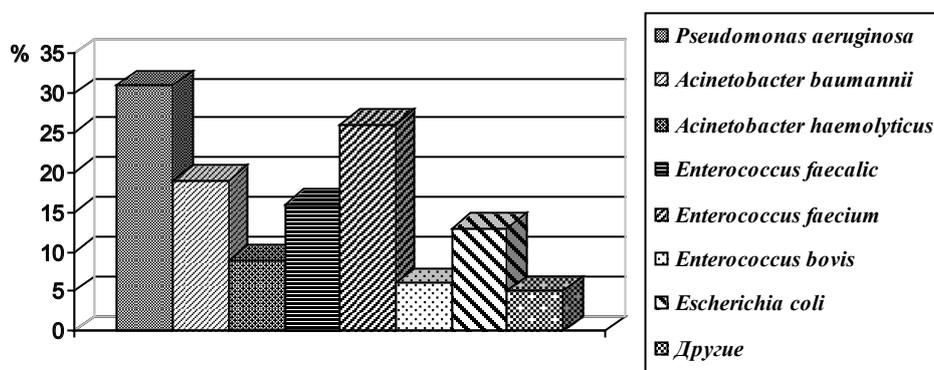
*Перитонит, его классификация, оценка тяжести, лечение - одни из самых насущных вопросов современной хирургии. Осуществлен поиск и применение бактериофагов, активных против бактерий, выделенных из перитонеального экссудата пациентов с перитонитами. Изучена возможность применения комбинированного фагового препарата для профилактики и лечения «нозокомиальных» перитонитов.*

**Введение.** В подавляющем большинстве случаев перитонит является полимикробным заболеванием. При первичном перитоните, если источником перитонита является толстая кишка, то, более чем в 90% случаев определяется аэробно-анаэробная ассоциация микроорганизмов; если источником инфицирования является желудок или тонкая кишка, то такая ассоциация встречается значительно реже. Степень обсемененности брюшной полости четко коррелирует с длительностью течения перитонита. Исходный спектр микрофлоры перитонеального экссудата при вторичном перитоните, характеризуется стабильным единообразием и преобладанием высоковирулентных грамотрицательных микроорганизмов. Нерациональное применение антибактериальных препаратов приводит к существенному изменению видового состава возбудителей перитонита. При отсутствии положительной динамики в течение перитонита на протяжении 3-4 суток в ходе программируемых хирургических санаций брюшной полости практически у всех пациентов отмечалось увеличение удельного веса госпитальной микрофлоры, крайне высоко устойчивой к антибиотикам резерва. Каждый конкретный стационар характеризуется своим микробным пейзажем, однако, в последнее десятилетие многие авторы указывают на преобладание неферментирующих микроорганизмов среди госпитальных штаммов (ацинетобактеров и псевдомонад). За ними следуют клебсиеллы, эшерихии, энтерококки и бактероиды. Практически все нозокомиальные штаммы входят в состав нормальной микрофлоры кишечника человека.

**Материалы и методы исследований.** В проспективное исследование было включено 40 (21 мужчина и 19 женщин) пациентов с распространенным гнойным перитонитом, у которых в процессе лечения использовалась лапаростома. Основным критерием отбора больных было лечение путем наложения лапаростомы и проведение этапных санаций общим количеством не менее 5. У всех пациентов Мангеймский индекс перитонита составил 25 баллов и более (31,6±3,7). Общая тяжесть состояния пациентов, оцениваемая по шкале SAPS II, была не менее 35 баллов (43,3±6,8). Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили с при-

менением стандартных бактериологических методик. Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом. Определяли чувствительность выделенных микроорганизмов к следующим фагам: Стафилококковый бактериофаг, Бактериофаг синегнойный жидкий, Коли-протейный бактериофаг, Интести-бактериофаг жидкий раствор, Пио-бактериофаг поливалентный, Клебсиллезный бактериофаг (ФГУП «НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России). Выявление «островков патогенности», как дополнительного критерия оценки вирулентности, выделенных микроорганизмов проводили методом ПЦР. Выбор «островков патогенности» для исследования был связан с основными этапами инфекционного процесса: адгезия – гены, контролирующие синтез фимбрий Р типа (*papC* и *papH*), S типа (*sfaA* и *sfaG*), I типа (*fimA*) и бактериального адгезина интимина (*eaeA* ген), а также капсулообразование (*kps*); размножение в тканях – *irp2* ген, контролирующий синтез сидерофора, участвующего в транспорте железа внутрь клетки; продукция токсических веществ: *toxAgene* (LTh) - термолабильный энтеротоксин, *estIa gene* (ST-IA/ST-P) - термостабильный энтеротоксин, α-гемолизин (*hlyB* ген) и энтерогемолизин (*ehx* ген), цитотоксический некротизирующий фактор 1 (*cnf1* ген) и шигаподобные токсины 1 и 2 типа (*stx1* и *stx2* гены); наличие генов устойчивости к антибиотикам: *qnrB*, *qnrS*, *qnrA* – фторхинолоны; TEM (*bla TEM*), CTX (*blaCTX-M*), SHV (*blaSHV*) – бета-лактамы.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В процессе микробиологических исследований перитонеального экссудата и биопсийного материала указанных пациентов (сальник, брюшина), было выделено 15 чистых культур 7 видов микроорганизмов, в 95,3% случаев вызывающих нозокомиальный перитонит. К ним относились, 2 штамма *Acinetobacter baumannii*, 1 штамм *Acinetobacter haemolyticus*, 1 штамм *Enterococcus bovis*, 2 штамма *Enterococcus faecalis*, 4 штамма *Enterococcus faecium*, 2 штамма *Escherichia coli*, 3 штамма *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 1).



**Рис. 1 - Частота встречаемости нозокомиальных штаммов.**

У большинства микроорганизмов выявлена высокая устойчивость к антибиотикам (табл. 1), в том числе и антибиотикам последних поколений (цефалоспорином III, IV поколений, фторхинолонам, карбопенемам). Кроме того, 2 штамма *Pseudomonas aeruginosa* и 1 штамм *Acinetobacter baumannii* были устойчивы к 0,5% водному раствору хлоргексидина, часто используемого для санации брюшной полости, а один штамм *Pseudomonas aeruginosa* и 2 штамма *Enterococcus faecium*, проявляли устойчивость к гипохлориту натрия.

**Таблица 1 - Чувствительность госпитальных штаммов микроорганизмов к антибиотикам.**

Штаммы микроорганизмов	Антибиотики								
	Цефтазидим	Цефоперазон	Цефепим	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Левифлоксацин	Имипенем	Меропенем	Ванкомицин
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 41/1	-	-	-	++	++	++++	-	++	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P15	-	-	++	-	-	++	+++	+++	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 5/3	+	+	+++	-	-	-	+	+	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> Б1	-	-	++	+++	++	+++	++++	++++	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> 7/1	-	+	+++	-	-	-	++	+++	-
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> 6/3	++++	+++	++	-	-	-	+++	+++	-
<i>Enterococcus faecalis</i> 18/3	-	-	++	+	+	++	-	-	++++
<i>Enterococcus faecalis</i> 21/3	-	-	-	++	++	++	+++	+++	++++
<i>Enterococcus faecium</i> Б/3	-	-	-	-	+	+++	+	+	-
<i>Enterococcus faecium</i> 26/2	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	+++
<i>Enterococcus faecium</i> 10/1	+++	+++	+++	-	-	-	+++	+++	+
<i>Enterococcus faecium</i> 37/2	-	-	-	++	++	+++	-	-	-
<i>Enterococcus bovis</i> 15/1	-	-	+++	+	+	+++	+++	+++	++++
<i>Escherichia coli</i> 1	++	++	++++	++	++	+++	++++	++++	-
<i>Escherichia coli</i> 2	-	-	+++	-	-	-	++++	++++	-

Примечания: - устойчив; +- слабо чувствителен; ++- умеренная чувствительность; +++- чувствителен; ++++- высоко чувствителен.

У исследуемых нозокомиальных штаммов наблюдалось выявление островков патогенности, отвечающих как за адгезию бактериальной клетки на тканях макроорганизма, обеспечивающих размножение, антибиотикорезистентность, так и повышающих патогенность бактерий за счёт придания им дополнительной токсичности в разнообразных сочетаниях. Выявление островков патогенности антибиотикорезистентности при определении устойчивости к фторхинолонам у 75% исследованных штаммов совпадало с результатами, полученными диско-диффузионным методом. В отношении бета-лактамов антибиотиков процент совпадений генотипической и фенотипической устойчивости составляло 62,5%.

При определении чувствительности этих штаммов к применяемым в России коммерческим бактериофагам установили, что *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus bovis* чувствительны к «Интести-бактериофаг жидкий раствор», «Бактериофаг синегнойный жидкий» и «Коли-протейный бактериофаг» (ФГУП «НПО Микроген») в высокой степени.

Не выявлено чувствительности *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus* и *Enterococcus faecalis* к указанным и другим, разрешенным к применению бактериофагам (табл. 2).

Таблица 2 - Чувствительность нозокомиальных штаммов к бактериофагам.

Микроорганизм	Бактериофаги					
	Стафилококковый бактериофаг	Бактериофаг синегнойный жидкий	Коли-протейный бактериофаг	Интести-бактериофаг жидкий раствор	Пио-бактериофаг поливалентный	Клебсиллезный бактериофаг
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 41/1	-	+++	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> P15	-	++	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 5/3	-	++	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> Б1	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> 7/1	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter haemolyticus</i> 6/3	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> 18/3	-	-	++	+	+	-
<i>Enterococcus faecalis</i> 21/3	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecium</i> Б/3	-	-	-	+++	-	-
<i>Enterococcus faecium</i> 26/2	-	-	++	-	+++	-
<i>Enterococcus faecium</i> 10/1	+	-	+	++	+	-
<i>Enterococcus faecium</i> 37/2	-	-	-	++	++	-
<i>Enterococcus bovis</i> 15/1	+	-	-	+	+++	-
<i>Escherichia coli</i> 1	+	-	+++	+	++	-
<i>Escherichia coli</i> 2	++	-	++	-	-	-

Примечания: - устойчив; +- слабо чувствителен; +- умеренная чувствительность; +++ чувствителен; ++++ высоко чувствителен.

В связи с полученными результатами, у 16 пациентов с распространенным гнойным перитонитом с профилактической целью был применён комбинированный препарат из коммерческих бактериофагов, проявивших активное действие в отношении выявленных нозокомиальных штаммов. Целесообразность применения комбинированного препарата обусловлена тем, что фаги обеспечивают профилактическую защиту реинфицирования брюшной полости нозокомиальными штаммами. Это предотвращает как развитие нозокомиального перитонита, так и смену нозокомиального возбудителя в брюшной полости в случаях послеоперационного перитонита во время многократных этапных санаций.

В случае послеоперационного перитонита, где уже имеется какой-либо из перечисленных нозокомиальных штаммов, комбинированный препарат позволяет бороться с уже присутствующей инфекцией и предупреждать смену доминирующего возбудителя, так как один из 3-х компонентов комбинированного фагового лечебного препарата играет роль основного лечебного агента, а другие предотвращают смену возбудителя.

После каждой санации в брюшную полость вводили по 200,0 мл раствора комбинированного препарата бактериофага, а также 2 раза в сутки с момента наложения и до момента

закрытия лапаростомы указанный препарат вводили в желудочно-кишечный тракт через желудочный зонд или клизму. При использовании бактериофагов, ни в одном случае не отмечено присоединения внутрибольничной флоры из группы *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus bovis* и *Escherichia coli*.

Кроме того, в одном случае послеоперационного перитонита в перитонеальном экссудате при первом посеве выявлен нозокомиальный штамм *Pseudomonas aeruginosa*  $10^6$  Ig КОЕ/г и у другого пациента с послеоперационным перитонитом наличие нозокомиального штамма *Enterococcus faecium*  $10^7$  Ig КОЕ/г. Примечательно, что после применения комбинированного бактериофагового препарата к моменту второй санации оба штамма определялись в титре  $10^3$  Ig КОЕ/г, а после третьей и последующих санаций внутрибольничная флора в посевах из перитонеального экссудата не высевалась. Необходимо отметить, что указанные микроорганизмы характеризовались отсутствием чувствительности к использованным антибактериальным препаратам, применённых у пациентов до получения данных микробиологического исследования. Следовательно, положительная динамика в виду ликвидации нозокомиальной флоры из перитонеального экссудата ко 2 и 3 санациям брюшной полости у данной группы больных была достигнута благодаря раннему применению фаговых препаратов.

В 2-х случаях при многократных санациях брюшной полости отмечено присоединение *Acinetobacter baumannii* (при третьей и четвертой санации) и по одному случаю - присоединение *Acinetobacter haemolyticus* (вторая санация) и *Enterococcus faecalis* (с первой санации послеоперационного перитонита). Среди пациентов с летальным исходом нозокомиальная флора из групп *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus bovis* и *Escherichia coli* не высевалась.

Таким образом, развитие «нозокомиального» перитонита при многократных санациях брюшной полости на фоне проведения фаготерапии составило 30,77%, что более чем в 3 раза ниже, по сравнению с группой пациентов, где в случаях длительного использования лапаростомы и без проведения фаготерапии процент развития нозокомиального перитонита после 5-ой санации близок к 100%.

По данным как отечественных, так и зарубежных авторов, эффективность фагов зависит от степени их адаптированности к регионарным вариантам (расам) бактерий. Чувствительность возбудителей госпитальных инфекций к адаптированным бактериофагам значительно выше, чем к коммерческим (72- 94% и 9-47%, соответственно). В первую очередь, это относится к синегнойной палочке, протею, энтерококкам и клебсиеллам. В связи с отсутствием в продаже адекватного фагового препарата, в отношении трех выделенных нами видов микроорганизмов - возбудителей нозокомиального перитонита (*Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus* и *Enterococcus faecalis*), Государственным научным центром прикладной микробиологии (ГНЦ ПМ) оказана консультативная помощь в выделении, идентификации и определении биологических свойств новых бактериальных вирусов. Полученные фаги исследованы в тестах *in vitro* на литическую активность к патогенам, выделенных от пациентов с распространенным гнойным перитонитом. Результаты исследований, показали 100% литическую активность нового фагового препарата в отношении *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter haemolyticus* и *Enterococcus faecalis*. Чувствительность указанных штаммов микроорганизмов к полученным фагам на питательных средах превосходила чувствительность к антибиотикам, в той или иной степени сохранивших свое действие на данную микрофлору. Кроме того, был произведен поиск адекватных фаговых препаратов из коллекции института, активных в отношении всех выделенных нозокомиальных штаммов микроорганизмов. Такие бактериальные вирусы найдены, и активность их на питательных средах при определении чувствительности несколько превосходила чувствительность к антибиотикам, сохранивших свое действие

на данные микроорганизмы. Никакой корреляции между антибиотикоустойчивостью и фагоустойчивостью не существует, так как эти признаки имеют разные генетические структуры и механизмы фенотипической экспрессии.

**Заключение.** Применение адаптированных бактериофагов в лечении вторичного и нозокомиального распространенного гнойного перитонита заметно повышает эффективность проводимой терапии и предотвращает летальный исход.

## PROSPECTS OF THE APPLICATION OF BACTERIOPHAGES IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF NOSOCOMIAL COMPLICATIONS IN SURGERY

*Slobodenyuk V.V., Voropaeva E.A., Aleshkin V.A., Afanas'ev S.S., Karaulov A.V.,  
Afanas'ev M.S.*

**Key words:** *peritonitis, bacteriophages, microflora, antibiotic.*

*Peritonitis, classification, assessment of severity, treatment is one of the most pressing issues of modern surgery. Conducted the selection and use of bacteriophages, which have active against bacteria isolated from peritoneal exudate of patients with peritonitis. Studied the possibility of the combination different bacteriophages for the prevention and treatment «nosocomial» peritonitis.*

УДК 619:616.98:576.8:636.5

## ФАГОТЕРАПИЯ САЛЬМОНЕЛЛЁЗА КУР С УЧЕТОМ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ ПТИЦЫ

*Плешакова В.И., доктор ветеринарных наук, профессор  
Тел. (3812)25-05-19, 89136259160, lescheva@list.ru  
Степанов Д.Н., аспирант, тел. 89081082017, chups08@mail.ru  
ФГБОУ ВПО «ИВМиБ ОмГАУ им. П.А. Столыпина»*

**Ключевые слова:** *Цыплята-бройлеры, сальмонеллёз, бактериофаги, микрофлора, производственные показатели*

*Работа посвящена фаготерапии сальмонеллёза цыплят-бройлеров с учетом особенностей технологии выращивания птицы. Авторами установлено, что использование сальмонеллёзного бактериофага обеспечивает отсутствие сальмонелл в продукции и повышает производственные показатели сохранности птицы, среднесуточного привеса, индекса продуктивности.*

**Введение.** Среди болезней птицы в последние годы более 60% составляют инфекции бактериальной этиологии, при этом отмечается возрастание роли микроорганизмов, являющихся возбудителями проблемных для птицеводств болезней: колибактериоза, сальмонеллёза, стафилококкоза и др. [1]. Сальмонеллёз птиц независимо от сероварианта возбудителя, вызвавшего его, причиняет значительный социально-экономический ущерб [2]. Важным моментом в организации борьбы с сальмонеллёзной инфекцией на птицеводческом предприятии