

А.М. КУПЧЕНКО, В.А. КОСИНЕЦ

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ АНАЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА

УО «Витебский государственный медицинский университет»,  
Республика Беларусь

**Цель.** Изучить структуру и чувствительность к антибактериальным препаратам анаэробной микрофлоры перитонеального экссудата пациентов с распространенным гнойным перитонитом.

**Материал и методы.** С помощью тест-систем «ИД-АНА» и «АБ-АН», разработанных в Витебском государственном медицинском университете, выполнены бактериологические исследования перитонеального экссудата 92 пациентов с распространенным гнойным перитонитом, проведена идентификация анаэробных возбудителей и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам.

**Результаты.** Бактериологическое исследование перитонеального экссудата подтвердило полимикробный характер микрофлоры с участием широкого спектра анаэробных микроорганизмов, часто множественно устойчивых к антибактериальным препаратам. В 73% случаев воспаление брюшины было вызвано смешанной аэробно-анаэробной микрофлорой, в 14% только анаэробами, в 13% только аэробами. Среди выделенных 93 штаммов анаэробных микроорганизмов представителей рода *Bacteroides spp.* было 63,4%, *Eubacterium spp.* – 7,53%, *Fusobacterium spp.* – 6,45%, *Peptococcus spp.* – 5,63%, *Peptostreptococcus spp.* – 5,38%, *Bifidobacterium spp.* – 4,32%, *Peptococcus spp.* – 4,3%, *Clostridium spp.* – 3,23%, недифференцированных грам (-) палочек – 3,22%, недифференцированных грам (+) и грам (-) кокков – 3,22%.

Анаэробная неклостридиальная микрофлора перитонеального экссудата наиболее чувствительна к меропенему (96,8%), имипенему (94,6%) и метронидазолу (88,2%). При этом установлена крайне низкая активность в отношении анаэробов пеницилина (8,6% чувствительных штаммов), амоксициллина (24,7%), тикарциллина (31,2%) и хлорамфеникола (28%).

**Заключение.** Идентификация анаэробной микрофлоры и определение чувствительности к антибактериальным препаратам с помощью тест-систем «ИД-АНА» и «АБ-АН» позволяют снизить временные затраты на исследование чувствительности к антибактериальным препаратам до 17 минут для 4 штаммов микроорганизмов, учет результатов – до 5 минут, обеспечивают назначение и проведение целенаправленной, эффективной антибактериальной терапии при распространенном гнойном перитоните.

*Ключевые слова:* распространенный гнойный перитонит, антибактериальная терапия, анаэробная микрофлора, тест-система

**Objectives.** To study the structure and sensitivity of anaerobic microflora of peritoneal exudate to antibacterial preparations in patients with generalized purulent peritonitis.

**Methods.** By means of the test systems “ID-ANA” and “AB-AN”, designed in Vitebsk State Medical University, the bacteriological study of peritoneal exudate in patients (n=92) with generalized purulent peritonitis have been performed and identification of pathogens and determination of their sensitivity to antibacterial preparations were carried.

**Results.** Bacteriological study of peritoneal exudate confirmed the polymicrobial character of microflora with a wide spectrum of anaerobic pathogens, often multiply resistant to antibacterial preparations. In 73% of cases the peritoneal inflammation was caused by the mixed aerobic-anaerobic microflora, in 14% – only anaerobes, in 13% – only aerobes. Among the selected 93 strains of anaerobic microorganisms of the genus *Bacteroides spp.* – 63,4%, *Eubacterium spp.* – 7,53%, *Fusobacterium spp.* – 6,45%, *Peptococcus spp.* – 5,63%, *Peptostreptococcus spp.* – 5,38%, *Bifidobacterium spp.* – 4,32%, *Peptococcus spp.* – 4,3%, *Clostridium spp.* – 3,23%, of undifferentiated gram (-) rods – 3,22%, of undifferentiated gram (+) and gram (-) coccuses – 3,22%. Anaerobic non-clostridial flora of peritoneal exudate is the most sensitive to meropenem (96,8%), imipenem (94,6%) and metronidazole (88,2%). Extremely low activity against drug-resistant anaerobes: penicillin (8,6% sensitive strains), amoxicillin (24,7%), ticarcillin (31,2%) and chloramphenicol (28%) has been registered.

**Conclusions.** Identification of anaerobic microflora and determination of sensitivity to antibacterial preparations applying the test- systems “ID-ANA” and “AB-AN” allow reducing time required to study the sensitivity for 4 strains of microorganisms to antibacterial preparations up to 17 minutes, records of the results – up to 5 minutes, providing the prescription and conduction of a targeted effective antibacterial therapy in generalized purulent peritonitis.

*Keywords:* generalized purulent peritonitis, antibacterial therapy, anaerobic microflora, test-system

Novosti Khirurgii. 2014 Jul-Aug; Vol 22 (4): 457-462

Identification and determination of antibacterial sensitivity of anaerobic microflora in treatment of generalized purulent peritonitis

A.M. Kupchenko, V.A. Kosinets

## Введение

Проблема лечения перитонита до настоящего времени остается одной из самых сложных в неотложной абдоминальной хирургии, вызывая беспокойство не только в Республике Беларусь, но и во всем мире вследствие высокого уровня неблагоприятных исходов [1, 2, 3, 4]. Летальность при данном заболевании колеблется в широком диапазоне, достигая в стадии полиорганной недостаточности более 80% [3, 5].

Современная интраабдоминальная инфекция характеризуется множественной, быстро растущей резистентностью к антибиотикам и антисептикам, что вызывает необходимость дальнейшего изучения этиологической структуры распространенного гнойного перитонита с целью разработки эффективных схем рациональной антибактериальной терапии [6, 7, 8]. Рост резистентности микрофлоры в значительной степени опережает процесс создания новых антибактериальных препаратов. За последние три десятилетия нашли клиническое применение только два новых класса препаратов [4, 8].

Доминирующими возбудителями при перитоните являются грамотрицательные бактерии (в основном семейства *Enterobacteriaceae* — *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*), энтерококки, стафилококки, чаще в сочетании с анаэробными микроорганизмами (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*). В большинстве случаев в перитонеальном экссудате удается выделить два и более микроорганизма, в 70–90% случаев это аэробно-анаэробная ассоциация микроорганизмов [3, 9, 10].

Как правило, анаэробная микрофлора встречается в перитонеальном экссудате, если причиной возникновения гнойного перитонита явилось нарушение целостности стенки толстой кишки. В случае повреждения проксимальных отделов тонкой кишки анаэробы появляются на более поздних стадиях заболевания вследствие развития пареза кишечника, нарушения колонизационной резистентности и проникновения микрофлоры из просвета кишечника в брюшную полость [3, 5, 8, 9, 10].

Анаэробные бактерии значительно чаще, чем другие грамотрицательные бактерии, встречаются в составе нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Они имеют более низкую патогенность по сравнению с другими видами, но также обладают факторами вирулентности [11]. Постоянная эволюция их видовой структуры и свойств непосредственно влияет на антибиотикорезистентность, а не-

рациональное использование антибактериальных средств приводит к появлению штаммов с множественной устойчивостью [11, 12].

Ранее при микробиологической диагностике основное внимание уделяли идентификации грамположительных и грамотрицательных аэробов. Во многих исследованиях целесообразность рутинной идентификации анаэробных микроорганизмов была под сомнением с учетом трудоемкости исследования и экономической эффективности [5, 8, 11]. Кроме того, сложные методы для культивирования этих бактерий и необходимость наличия дорогостоящего технического оснащения препятствовали их точной идентификации [3, 10]. Так как активность антибактериальных препаратов в отношении анаэробных микроорганизмов известна, предлагалось выбор антибактериальной терапии проводить эмпирически, на основе знаний приоритетных возбудителей при инфекциях определенной локализации. Однако в некоторых исследованиях было показано, что назначение антибактериальной терапии на эмпирической основе приводит к тому, что часть пациентов с анаэробной инфекцией не получает соответствующую антимикробную терапию [13].

За последние годы наблюдается тенденция роста резистентности к антибактериальным препаратам анаэробных микроорганизмов, которая варьирует в различных медицинских учреждениях [6, 12, 14]. Отмечается устойчивость анаэробов к антибактериальным препаратам группы ингибиторнезащищенных пенициллинов и хлорамфениколу, снижение чувствительности к ингибиторзащищенным пенициллинам, цефокситину и клиндамицину [4, 10, 13, 15].

В связи с увеличением числа пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, вызванными анаэробами, признана важность их рутинной идентификации в клинической практике [7, 11]. В случаях устойчивости грамотрицательных анаэробов к используемым противомикробным препаратам особенно остро проявляется необходимость определения возбудителя и его чувствительности к антибактериальным препаратам у конкретного пациента. В связи с этим использование тест-систем для этих целей является наиболее целесообразным, так как позволяет упростить и ускорить проведение исследований, расширить спектр определяемых антибиотиков, получить достоверные результаты [12].

В Витебском государственном медицинском университете для идентификации облигатно-анаэробных микроорганизмов и опре-

деления их чувствительности к антимикробным препаратам разработаны тест-системы «ИД-АНА» и «АБ-АН», соответственно. Тест-системы характеризуются большим разнообразием антибиотиков, простотой в изготовлении, эксплуатации, быстротой определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [12].

**Цель** исследования. Изучить структуру и чувствительность к антибактериальным препаратам анаэробной микрофлоры перитонеального экссудата пациентов с распространенным гнойным перитонитом.

### Материал и методы

С помощью тест-систем «ИД-АНА» и «АБ-АН» проведены бактериологические исследования перитонеального экссудата 92 пациентов с распространенным гнойным перитонитом, находившихся на лечении в хирургических отделениях УЗ «Больница скорой медицинской помощи г. Витебска» за период с 2010 по 2013 год. Изучен характер неклостридиальной анаэробной микрофлоры, определены антибактериальные препараты, обладающие наибольшей активностью в отношении основных анаэробных возбудителей распространенного гнойного перитонита.

Инструментальный учет производился с помощью многоканального спектрофотометра АИФ М/340 и компьютера с программным обеспечением «Microbi», разработанных совместно с производственным объединением «Витязь» (Республика Беларусь), комплекс антибактериальный «КАН».

### Результаты

Тест-системы «ИД-АНА» и «АБ-АН» для идентификации облигатно-анаэробных бактерий и определения чувствительности к антимикробным препаратам зарегистрированы МЗ Республики Беларусь и внедрены в производство. Данные тест-системы соответствуют требованиям как по параметрам оценки качества и воспроизводимости (94,2%), так и диагностической специфичности (сопоставимость результатов по сравнению с референс-методом 96,35%). Тест-системы «ИД-АНА» и «АБ-АН» позволяют снизить временные затраты на исследование чувствительности к антибактериальным препаратам до 17 минут для 4 штаммов микроорганизмов вместо 3-4 часов, учет результатов — до 5 минут, обеспечивают назначение и проведение целенаправленной, эффективной антибактериальной терапии при

распространенном гнойном перитоните.

Изучение микрофлоры перитонеального экссудата пациентов с распространенным гнойным перитонитом подтвердило его полимикробный характер с участием широкого спектра анаэробных микроорганизмов. Наличие бактериальной инфекции было выявлено у 91,3% обследованных, 8,7% посевов оказались стерильными.

В результате проведенных исследований установлено, что в 73% случаев воспаление брюшины было вызвано смешанной аэробно-анаэробной микрофлорой, в 14% — только анаэробами, в 13% — только аэробами.

Среди выделенных 93 штаммов анаэробных микроорганизмов представителей рода *Bacteroides spp.* было 63,4%, *Eubacterium spp.* — 7,53%, *Fusobacterium spp.* — 6,45%, *Peptococcus spp.* — 5,63%, *Peptostreptococcus spp.* — 5,38%, *Bifidobacterium spp.* — 4,32%, *Peptococcus spp.* — 4,3%, *Clostridium spp.* — 3,23%, недифференцированных грам (-) палочек — 3,22%, недифференцированных грам (+) и грам (-) кокков — 3,22%.

Виды анаэробных микроорганизмов и частота их выделения в перитонеальном экссудате пациентов с распространенным гнойным перитонитом представлены на рисунке 1.

При изучении чувствительности основных возбудителей распространенного гнойного перитонита к антимикробным препаратам было установлено, что подавляющее большинство штаммов обладало множественной лекарственной устойчивостью.

Наблюдалась резистентность возбудителей рода *Bacteroides spp.* к антибактериальным препаратам группы бета-лактамов: пенициллину (0% чувствительных штаммов), амоксициллину (13,79%), тикарциллину (25,86%) и клорамфениколу (24,13%), более эффективными были ингибиторзащищенные пенициллины: амоксициллин+клавуланат (63,79%), тикарциллин+клавуланат (74,13%) (рис. 2).

Наибольшей эффективностью в отношении *Bacteroides spp.* обладали карбапенемы: меропенем (100%), имипенем (98,27%), а также метронидазол (93,1%) и клиндамицин (81,03%).

Микроорганизмы рода *Eubacterium spp.* обладали низкой чувствительностью к антибактериальным препаратам группы бета-лактамов: пенициллину (14,2%), амоксициллину (28,5%), тикарциллину (28,5%), а также к некоторым ингибиторзащищенным пенициллинам — амоксициллин-клавуланату (42,8%) и клорамфениколу (42,8%) (рис. 3).

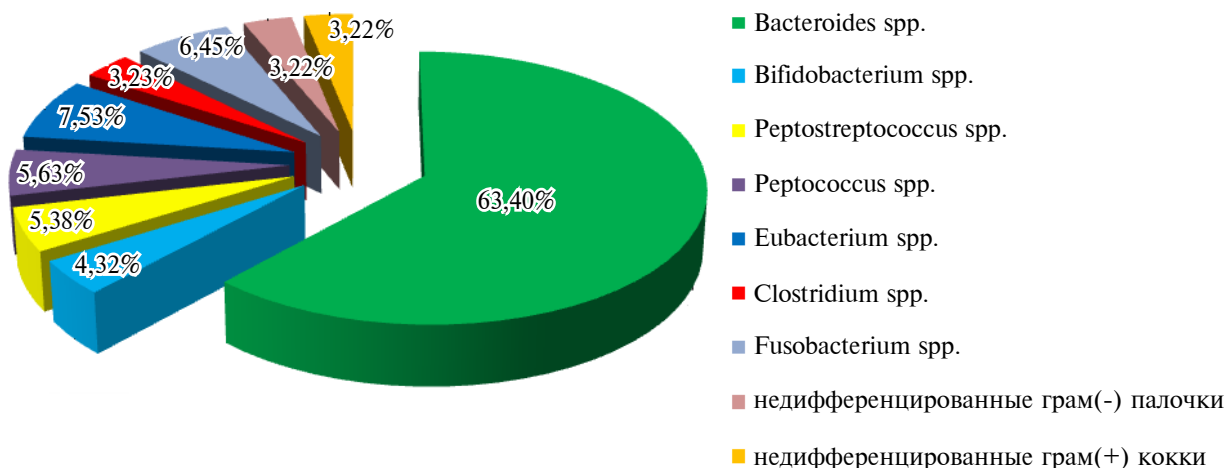


Рис. 1. Виды анаэробных микроорганизмов и частота их выделения в перитонеальном экссудате пациентов с распространенным гнойным перитонитом

Эффективными в отношении *Eubacterium spp.* были меропенем (85,7%), имипенем (85,7%), моксифлоксацин (85,7%), метронидазол (71,4%), клиндамицин (71,4%) и тикарциллин-клавуланат (71,4%).

Выделенные штаммы *Fusobacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* обладали низкой чувствительностью к антибактериальным препаратам группы бета-лактамов: пенициллину, амоксициллину и тикарциллину, а также хлорамфениколу и клиндамицину. Наиболее эффективными в отношении данных микроорганизмов были карбапенемы, моксифлоксацин, метронидазол, тикарциллин-клавуланат.

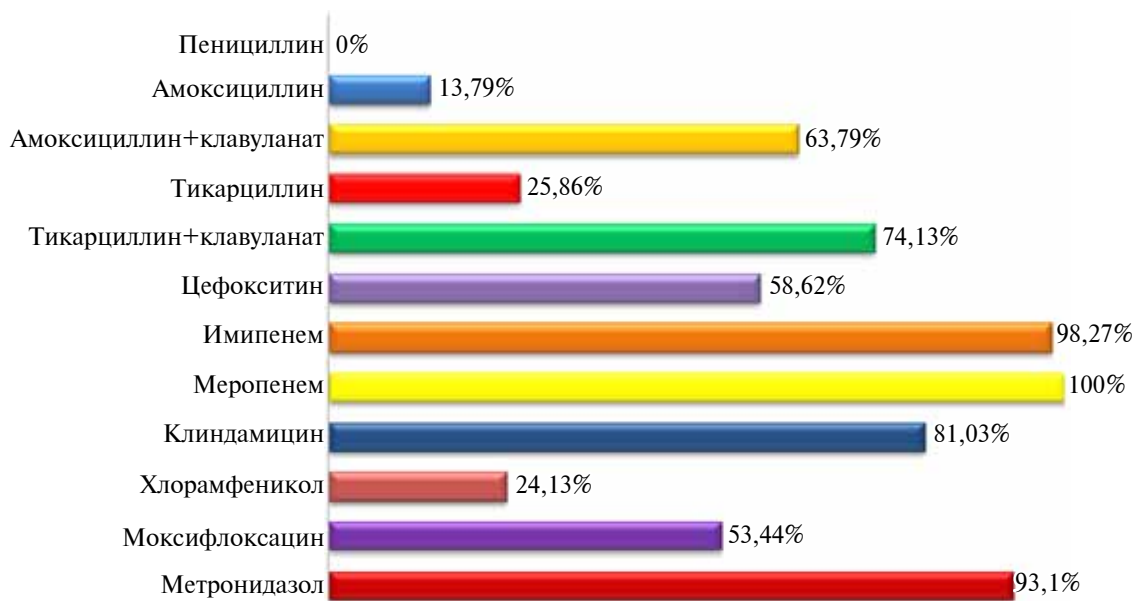
Отмечалась выраженная устойчивость возбудителей рода *Clostridium spp.* к пенициллину, хлорамфениколу, а также низкая чувстви-

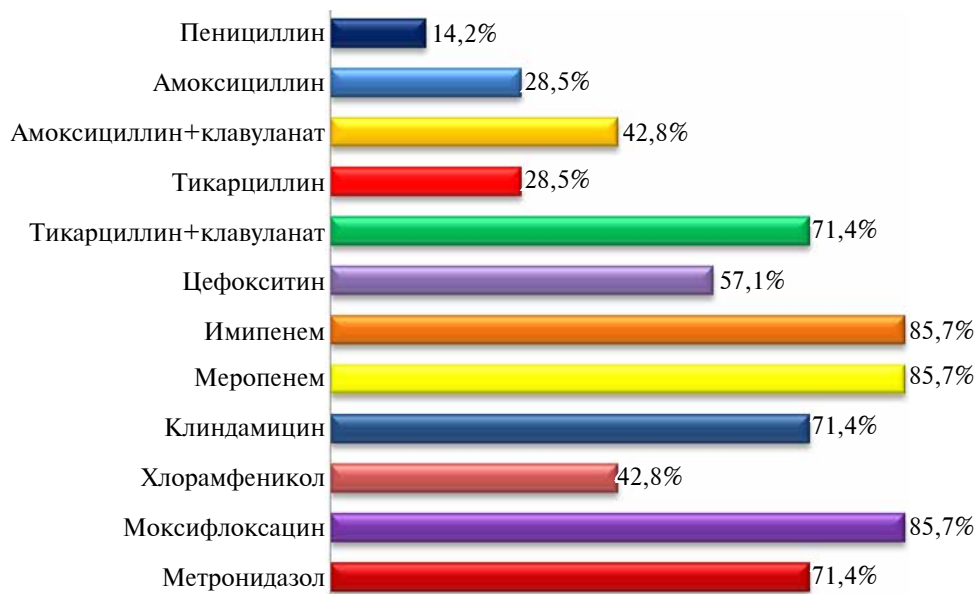
тельность к антибактериальным препаратам группы бета-лактамов: амоксициллину (33,3%), цефокситину (33,3%). Высокоэффективное действие на *Clostridium spp.* оказывали ингибиторзащищенные пенициллины: тикарциллин-клавуланат (100%).

### Обсуждение

Полученные нами данные отражают общие тенденции возникновения распространенного перитонита. Наличие бактериальной инфекции в перитонеальном экссудате выявлено более чем у 90% пациентов с распространенным гнойным перитонитом, при этом наиболее часто высеивается смешанная анаэробно-аэробная микрофлора, характеризующаяся множественной лекарственной устойчивостью к антибак-

Рис. 2. Чувствительность микроорганизмов рода *Bacteroides spp.* к антибактериальным препаратам





**Рис. 3. Чувствительность микроорганизмов рода *Eubacterium* spp. к антибактериальным препаратам**

териальным препаратам. Поэтому идентификация возбудителей и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам у конкретного пациента приобретает важное значение. Тест-системы «ИД-АНА» и «АБ-АН» прошли клинические испытания в Республике Беларусь и внедрены в производство. Данные тест-системы характеризуются большим разнообразием антибиотиков, относительной дешевизной и быстротой определения чувствительности. При идентификации анаэробной микрофлоры перитонеального экссудата пациентов с распространенным гнойным перитонитом наиболее значимы представители рода *Bacteroides* spp. Отмечается выраженная устойчивость анаэробов к антибактериальным препаратам группы ингибиторнезащищенных пенициллинов и хлорамфениколу, снижение чувствительности к ингибиторзащищенным пенициллинам – амоксициллин-клавуланату и тикарциллин-клавуланату. Наиболее эффективными препаратами в отношении анаэробной флоры являются антибактериальные препараты группы карбапенемов – меропенем, имипенем, а также метронидазол, что позволяет обосновать включение их в схемы рациональной антибактериальной терапии при лечении распространенного гнойного перитонита.

### Заключение

Распространенный гнойный перитонит необходимо рассматривать как смешанную полимикробную аэробно-анаэробную инфекцию.

Тест-системы «ИД-АНА» и «АБ-АН» для идентификации и определения чувствительно-

сти к антибактериальным препаратам неклострициальных анаэробных микроорганизмов позволяют снизить временные затраты на исследование чувствительности к антибактериальным препаратам до 17 минут для 4 штаммов микроорганизмов, учет результатов – до 5 минут, обеспечивают назначение и проведение целенаправленной, эффективной антибактериальной терапии при распространенном гнойном перитоните.

Анаэробная неклострициальная микрофлора перитонеального экссудата наиболее чувствительна к меропенему (96,8% положительных результатов в отношении всех анаэробных возбудителей), имипенему (94,6%) и метронидазолу (88,2%). При этом установлена крайне низкая активность в отношении анаэробов пенициллина (8,6% чувствительных штаммов), амоксициллина (24,7%), тикарциллина (31,2%) и хлорамфеникола (28%).

Таким образом, полученные результаты позволяют обосновать включение в схемы рациональной антибактериальной терапии при лечении распространенного гнойного перитонита препараты, обладающие наибольшей активностью в отношении анаэробной микрофлоры: меропенема или имипенема в качестве монотерапии и метронидазола при сочетании с другими антибиотиками, активными в отношении аэробной микрофлоры.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Антибактериальная терапия абдоминальной хирургической инфекции / под ред. В. С. Савельева, Б. Р. Гельфанда. – М. : Т-Визит, 2003. – 240 с.
2. Чернов В. Н. Комплексное лечение больных абдо-

минальным сепсисом / В. Н. Чернов, Д. В. Мареев // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2010. — № 8. — С. 44–47.

3. Epidemiology, management and prognosis of secondary non-postoperative peritonitis: a French prospective: observational multicenter study / R. Gauzit [et al.] // Surg Infect. — 2009 Apr. — Vol. 10, N 2. — P. 119–27.

4. Mazuski J. E. Intra-abdominal infections / J. E. Mazuski, J. S. Solomkin // Surg Clin North Am. — 2009 Apr. — Vol. 89, N 2. — P. 421–37.

5. Gao H. Bench-to-bedside review: Sepsis, severe sepsis, and septic shock — does the nature of the infecting organism matter? / H. Gao, T. W. Evans, S. J. Finney // Crit Care. — 2008. — Vol. 12, N 3. — P. 213.

6. Антибактериальная терапия в гнойной хирургии : рук. / под ред. А. Н. Косинца. — Витебск : ВГМУ, 2002. — 600 с.

7. Сажин В. П. Антибиотикотерапия при гнойных хирургических заболеваниях органов брюшной полости и мягких тканей / В. П. Сажин, Н. Г. Бодрова, Д. Е. Климов // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2010. — № 6. — С. 4–9.

8. Llewelyn M. J. Tracking the microbes in sepsis: advancements in treatment bring challenges for microbial epidemiology / M. J. Llewelyn, J. Cohen // Clin Infect Dis. — 2007 May 15. — Vol. 44, N 10. — P. 1343–48.

9. Рыбачков В. В. Перитонит / В. В. Рыбачков, К. В. Костюченко, С. В. Маевский. — Ярославль : Яр-МедиаГруп, 2010. — 304 с.

10. Микробиологическая структура перитонита / С. В. Сидоренко [и др.] // Инфекции в хирургии. — 2007. — № 1. — С. 15–17.

11. Светухин А. М. Клиническое значение ранней

диагностики анаэробной неклостридиальной инфекции / А. М. Светухин, А. Б. Земляной, В. Г. Истратов // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2005. — № 8. — С. 41–44.

12. Косинец В. А. Идентификация и определение чувствительности к антимикробным препаратам основных возбудителей распространенного гнойного перитонита / В. А. Косинец // Новости хирургии. — 2012. — Т. 20, № 5. — С. 62–69.

13. Hasper D. Management of severe abdominal infections / D. Hasper, J. C. Schefold, D. C. Baumgart // Recent Pat Antiinfect Drug Discov. — 2009 Jan. — Vol. 4, N 1. — P. 57–65.

14. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in cases of peritonitis after intraabdominal surgery affects the efficacy of empirical antimicrobial therapy / P. Montravers [et al.] // Clin Infect Dis. — 1996 Sep. — Vol. 23, N 3. — P. 486–94.

15. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск : МАКМАХ, 2007. — 464 с.

#### Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, д. 27,  
УО «Витебский государственный  
медицинский университет»,  
кафедра оперативной хирургии  
и топографической анатомии,  
тел.моб.: +375 33 675-48-62,  
e-mail: anna.annushka75@mail.ru,  
Купченко Анна Михайловна

#### Сведения об авторах

Купченко А.М., старший преподаватель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии УО «Витебский государственный медицинский университет».

Косинец В.А., д.м.н, профессор кафедры госпитальной хирургии УО «Витебский государственный медицинский университет».

Поступила 12.05.2014 г.