

Влияние эндогенных бактериофагов на результаты лечения гнойно-воспалительных осложнений у больных реанимационного профиля

Е. Б. Лазарева¹, Т. В. Черненькая¹, А. К. Шабанов¹, Н. В. Евдокимова¹,
Е. Л. Жиленьков², М. А. Годков¹, С. С. Петриков¹

¹ГБУЗМ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского»
Департамента здравоохранения г. Москвы
²ООО НПЦ «МикроМир», г. Москва

Effect of endogenous bacteriophages on results of treatment of pyo-inflammatory complications in resuscitation patients

E. B. Lazareva, T. V. Chernenkaya, A. K. Shabanov, N. V. Evdokimova, E. L. Zhilenkov, M. A. Godkov, S. S. Petrikov
Research Institute of Emergency Care n.a. N. V. Sklifosovsky, MicroMir Co.; Moscow, Russia

Резюме

Статья посвящена изучению собственных эндогенных бактериофагов на течение и исходы тяжелой сочетанной травмы. Проведен анализ микрофлоры, выделенной из крови реанимационных больных. Были сопоставлены уровень летальности с наличием или отсутствием эндогенных бактериофагов. Реже летальные исходы были обнаружены у больных, имевших эндогенные бактериофаги, независимо от того, какие они — вирулентные или умеренные. При отсутствии эндогенных бактериофагов из крови больных с летальным исходом чаще других видов выделяли *K. pneumoniae* и стафилококки.

Ключевые слова: микрофлора, эндогенные бактериофаги, реанимационные больные.

Summary

The article is devoted to the study of the effect of own endogenous bacteriophages on the course and outcomes of severe concomitant injury. The microflora isolated from the blood of resuscitation patients was analyzed. The mortality rate and the presence or absence of endogenous bacteriophages were compared. Less lethal outcomes were found in patients with endogenous bacteriophages, regardless of whether they are virulent or moderate. In the absence of endogenous bacteriophages, *K. pneumoniae* and staphylococci were isolated from the blood of patients with further lethal outcome more often than other species.

Key words: microflora, endogenous bacteriophages, resuscitation patients.

Введение

Предотвращение летального исхода у пациентов с тяжелой сочетанной травмой (ТСТ) является одной из ключевых задач отделений реанимации и интенсивной терапии. Причиной смерти у пострадавших с ТСТ в ранние сроки после получения травмы являются шок и кровопотеря; в поздние сроки летальность в 90,9 % случаев связана с развитием гнойно-септических осложнений (ГСО) [1]. Основной причиной смерти пострадавших с инфекционными осложнениями является пневмония — 60,7 %, на долю сепсиса и септикопиемии приходится 8 % случаев летальных исходов [2].

В последние годы в связи с развитием устойчивости возбудителей ГСО к антибиотикам в схемы антибактериальной терапии стали включать бактериофаги. История их применения известна с 30–40-х годов XX века, когда они активно применялись в нашей стране в различных областях медицины. По своей природе бактериофаги

являются внутриклеточными облигатными паразитами бактерий. В природных условиях фаги встречаются в тех местах, где есть гомологичные к ним бактерии. Они могут находиться и в организме человека, осуществляя его защиту от микроорганизмов, вызывающих различные гнойно-септические процессы [3, 4]. Использование бактериофагов в виде лекарственных препаратов в комплексе лечебных мероприятий позволяет сократить частоту инфекционных осложнений и летальных исходов при ГСО различного генеза. Однако нами в литературе не обнаружено сведений о влиянии собственных эндогенных бактериофагов, обитающих в организме человека, на течение и исходы ГСО, в том числе таких опасных, как сепсис.

Цель работы: определение влияния эндогенных бактериофагов, специфичных для возбудителей ГСО, на развитие и исходы ТСТ.

Материалы и методы

Обследованы 33 пациента, находившихся на лечении в отделении общей реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) для экстренных больных. Мужчин — 23 человека, женщин — 10. Основной диагноз у больных — черепно-мозговая травма в сочетании с травмой опорно-двигательного аппарата. Медиана возраста пациентов составила 45 (33; 61) лет.

Пострадавшие получали инфузионно-трансфузионную терапию, спазмолитические и антигистаминные препараты, введение гепарина. Антибактериальная терапия включала преимущественно цефалоспорины III поколения и фторхинолоны. Коррекцию лечения при необходимости проводили после получения результатов микробиологических исследований.

Бактериологическое исследование крови проводили с помощью автоматического анализатора гемокультур Bactec-9050. Идентификацию

выделенных микроорганизмов выполняли с использованием автоматического микробиологического анализатора WalkAway 40. Всего получено 42 пробы крови, выделен 41 штамм микроорганизмов.

Определение наличия эндогенных бактериофагов в крови и моче больных с положительными гемокультурами проводили в лаборатории ООО НПЦ «МикроМир». Работу с бактериофагами выполняли традиционным вирусологическим методом. Бактериофаги, извлеченные из зон лизиса после спот-тестирования, исследовали на электронном микроскопе JEOL-1011 (Япония).

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 10. Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и квартилями в формате Me (LQ; UQ). Независимые группы сравнивали с применением критерия Манна-Уитни, а также с помощью t-критерия Стьюдента и χ^2 . Пороговый уровень значимости p принят равным 0,05 [5, 6].

Результаты исследования и обсуждение

Анализ выделенной микрофлоры показал, что наиболее часто из крови больных выделяли грамотрицательные микроорганизмы (70,7%): *Klebsiella pneumoniae* — 14 штаммов и *Acinetobacter spp.* — 12 штаммов, а также по одному штамму *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* и *Pseudomonas aeruginosa*. Группу грамположительных микроорганизмов (29,3% от всех микроорганизмов) составили *Staphylococcus spp.* — 6 штаммов, *Staphylococcus aureus* — 5 и *Enterococcus faecalis* — 1 штамм.

У 12 (36,4%) больных выделены эндогенные бактериофаги (13 позитивных проб на наличие бактериофагов), у 21 пациента фаги отсутствовали (28 негативных проб на наличие бактериофагов).

Всего из 33 анализируемых больных умерло 20 пациентов (60,6%).

При этом из группы больных (21), у которых эндогенные фаги к выделенным микроорганизмам отсутствовали, умерло 14 (66,7%). Кроме того, у 3 умерших больных

Таблица 1
Частота выделения микроорганизмов из крови больных при наличии эндогенных бактериофагов и при их отсутствии

Микрофлора	Наличие эндогенных бактериофагов		Отсутствие эндогенных бактериофагов	
	Всего	У умерших	Всего	У умерших
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	–	4	2
<i>Staphylococcus spp.</i>	2	–	4	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	–	–	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	1	10	9
<i>Acinetobacter spp.</i>	4	1	8	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	–	–
Всего	13	3	28	17

при первом исследовании гомологичные фаги были выявлены. Однако затем, по данным микробиологического мониторинга, у этих пациентов произошла смена возбудителей ГСО, к которым гомологичных бактериофагов не было. Таким образом, можно считать, что у 17 из 20 умерших больных гомологичные бактериофаги отсутствовали, что составило 85,0%.

Из 9 больных, в биологическом материале которых эндогенные фаги выделялись на протяжении всего периода лечения, умерло 3 (33,3%).

Установлены достоверные различия по числу умерших среди больных, без фагов и имеющих фаги ($t = 2,5$, $p < 0,01$).

Нами проведено изучение выделенной микрофлоры из крови больных при наличии и отсутствии эндогенных бактериофагов. Результаты представлены в таблице 1.

Из 13 проб больных, имевших эндогенные фаги, у 9 (69,2%) выделены грамотрицательные микроорганизмы *K. pneumoniae* и *Acinetobacter spp.* — по 4 штамма и 1 — *P. aeruginosa*; грамположительные микроорганизмы обнаружены в 4 пробах (30,8%): *Staphylococcus spp.* — 2 штамма и по одному — *S. aureus* и *E. faecalis*. У 3 умерших больных этой группы присутствовали только грамотрицательные микроорганизмы — по одному штамму каждого (*K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp.* и *P. aeruginosa*).

В 28 пробах от больных без эндогенных фагов грамотрицательная микрофлора встречалась в 20 случаях (71,4%): в 10 пробах была выделена *K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp.* — в 8 случаях и по одному — *E. coli* и *E. aerogenes*. Стафилококки обнаружены у 8 больных (28,6%): у 4 — *Staphylococcus spp.* и также у 4 — *S. aureus*. У 13 умерших больных грамотрицательные бактерии выделены в 76,5% наблюдений: *K. pneumoniae* — у 9, *Acinetobacter spp.* — от 2, а также *E. coli* и *E. aerogenes*. Грамположительные микроорганизмы обнаружены у 4 умерших больных (25,0%): 2 — *S. aureus* и 2 — *Staphylococcus spp.*

Ни одного летального исхода у больных, в пробах которых выявлены эндогенные фаги против грамположительных микроорганизмов (*Staphylococcus spp.*, *S. aureus* и *E. faecalis*), не было, в то время как у больных без фагов летальность при выделении этих бактерий составила 50%. И в этой же группе достоверно чаще ($p < 0,02$) из крови выделяли *K. pneumoniae* (у 9 из 10 человек), чем у больных, содержащих фаги к этому микроорганизму (1 из 4).

Диагноз сепсиса был поставлен 4 из 17 умерших больных, у которых отсутствовали эндогенные фаги, при этом выделены *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, и в двух случаях — *S. aureus*. В группе больных, у которых присутствовали эндогенные фаги, сепсис диагностирован у 1 из 3 умерших больных, однако выделенный фаг

от этого больного был умеренный и он не лизировал выделенную от него *P. aeruginosa*.

Следует отметить, что из 13 выделенных фагов только в 3 (23,1 %) случаях были вирулентные, а в 10 (76,9 %) — умеренные.

Известно, что в ряде случаев умеренные фаги могут сами лизировать микробные клетки. Однако наиболее часто умеренный бактериальный вирус длительно находится в лизогенной клетке в состоянии профага. В таком виде он может сохраняться в организме длительное время. Иногда спонтанно и при индукции профаг переходит в литическую форму. Лизируя клетки патогенов, умеренные фаги, таким образом, защищают макроорганизм от бактериальных инфекций. Этот переход у больных мы не всегда можем уловить, поскольку фаг может вновь вернуться в лизогенную форму [7, 8].

Выводы

1. Летальность в группе больных, в организме которых отсутствовали эндогенные фаги, значительно превышает аналогичный показатель в группе больных, в крови которых в процессе лечения выделены бактериофаги (85,0 и 33,3 % соответственно).
2. Чаще всего эндогенные бактериофаги, выделенные от больных, представлены умеренными формами.
3. У умерших больных без эндогенных фагов достоверно чаще из крови высевали *K. pneumoniae*.

Список литературы

1. Власенко А. В., Добрушина О. Р., Яковлев В. Н., Шабунин А. В., Алексеев В. Г., Шестаков Д. А., Долоксарибу А. К. Анализ причин летальности пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отделении реанимации многопрофильного стационара. *Общая реаниматология*. 2009. № 6. С. 31–35.

2. Хубутия М. Ш., Шабанов А. К. Основные причины летальности у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отделении реанимации. *Скорая медицинская помощь*. 2010. № 3. С. 64–69.
3. Зуева Л. П., Асланов Б. И., Хорошилов В. Ю. Бактериофаги как факторы формирования госпитальных штаммов и средства борьбы с внутрибольничными инфекциями. *Инфекции в хирургии*. 2009. № 1. С. 25–29.
4. Летаров А. В., Голомидова А. К., Тарасян К. К. Экологические основы рациональной фаговой терапии. *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. 2010. Т. 2. № 1 (4). С. 66–79.
5. Марченко Б. И. Здоровье на популяционном уровне: статистические методы исследования: руководство для врачей. Таганрог: Сфинкс, 1997. 425 с.
6. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2006. 305 с.
7. Каттер Э., Сулаквелидзе А. (ред.). Бактериофаги. Биология и практическое применение: пер. с англ. М.: Научный мир, 2012. 640 с.: ил.
8. Górski A., Weber-Dabrowska B. The potential role of endogenous bacteriophages in controlling invading pathogens. *Cell Mol Life Sci*. 2005; 62 (5): 511–519.

Для цитирования. Лазарева Е. Б., Черненькая Т. В., Шабанов А. К., Евдокимова Н. В., Жиленков Е. А., Годков М. А., Петриков С. С. Влияние эндогенных бактериофагов на результаты лечения гнойно-воспалительных осложнений у больных реанимационного профиля // Медицинский алфавит. Серия «Неотложная медицина и кардиология». — 2019. — Т. 1. — 16 [391]. — С. 44–46.



«Инновационные технологии в медицинском образовании — 2019» (г. Красноярск)

6–7 февраля 2019 года в Красноярском государственном медицинском университете прошла Всероссийская научно-педагогическая конференция с международным участием «Инновационные технологии в медицинском образовании — 2019». Для участия в ключевом образовательном событии года приехали представители 30 российских медицинских вузов и 20 университетов Японии, всего более 500 участников.

Интеграция симуляционных технологий в медицинское образование стала одной из ключевых тем конференции. Директор методического центра аккредитации специалистов Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова, д. м. н., проф. Ж. М. Сизова на пленарном заседании ознакомила участников со сроками и этапами специализированной аккредитации в 2019 году. Эксперт правления АСМОК З. З. Балкизов (г. Москва) представил 12 ролей медицинского преподавателя.

6 февраля прошла секция «Симуляционное обучение в медицине» совместно с заседанием краевого отделения Общероссийской общественной организации «Российское общество симуляционного обучения в медицине». Председатели: к. м. н., доцент Е. В. Таптыгина; к. м. н. З. З. Балкизов; к. м. н., доцент Н. В. Деларю, к. м. н. З. А. Заринова. Свой опыт

использования симуляционных технологий представили коллеги из симуляционных центров России (Красноярского ГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого (Е. В. Таптыгина, О. Н. Белоброва, Т. А. Макаренко, М. Ю. Галактионова), обучающего симуляционного центра по акушерству, гинекологии и перинатологии ВолгГМУ (Н. В. Деларю), Пермского ГМУ им. акад. Е. А. Вагнера (В. В. Рудин), центра Иркутской областной клинической больницы (В. В. Суховская), Казанского медицинского колледжа (Л. М. Мусина), активными участниками секции стали руководители симуляционных центров Кубанского ГМУ (Е. А. Чабанец), Алтайского ГМУ (И. Н. Чечина). Большой интерес вызвал доклад актрисы Красноярского драматического театра им. А. С. Пушкина О. Н. Белобровой о подготовке симулированных пациентов и их опыте работы в симуляционном центре Красноярского ГМУ.

7 февраля, на базе кафедры — центра симуляционных технологий прошли образовательные мероприятия с использованием симуляционных технологий.

Интересный мастер-класс «Современные возможности оказания помощи новорожденному с асфиксией» в бинарном формате провели доцент кафедры педиатрии и неонатологии ФУВ Волгоградского ГМУ, к. м. н. Н. В. Деларю и доцент кафедры центра симуляционных технологий Красноярского ГМУ, к. м. н. И. В. Кузнецова.