

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ВОЛКОВ

Александр Геннадьевич

**КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АБДОМИНАЛЬНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ И
ЕЕ ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ**

14.01.17 – хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

профессор **Заривчацкий М.Ф.**

кандидат медицинских наук,

доцент **Коробов В.П.**

Пермь 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Особенности абдоминальных инфекций на современном этапе	12
1.2. Антибактериальная терапия абдоминальных инфекций	16
1.3. Антибактериальные пептиды	24
1.4. Современные модели перитонита in vivo	28
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая характеристика материалов исследования	34
2.2. Основные методы исследования	36
2.3. Экспериментальная модель перитонита	38
2.4. Методы статистического анализа	42
Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ	
3.1. Анамнез и клинические проявления абдоминальных инфекций у наблюдаемых больных	43
3.2. Результаты лабораторных исследований	54
3.3. Данные инструментальных исследований	60
Глава 4. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АБДОМИНАЛЬНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ	
4.1. Микробиологическая оценка экссудатов у наблюдаемых больных	62
4.2. Исследование чувствительности штаммов бактерий, изолированных из операционного поля пациентов с абдоминальной инфекцией, к традиционно применяемым антибиотикам	69
Глава 5. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ АССОЦИИРОВАННОГО С ИНТЕРФЕРОНОГЕНЕЗЕМ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА КРЫС	
5.1. Оценка эффективности антибактериального действия	75

лейкоцитарного низкомолекулярного пептидного комплекса на культуры микроорганизмов, изолированных у больных абдоминальной хирургической инфекцией

5.2. Создание модели острого перитонита с учетом микробных характеристик абдоминальной инфекции 80

5.3. Оценка эффективности противомикробного действия пептидного комплекса при экспериментальном перитоните 91

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 97

ВЫВОДЫ 106

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 107

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 108

Список сокращений

АБПК	- антибактериальный пептидный комплекс
Да	- дальтон, единица молекулярной массы
ж	- женщины
ИРЛ	- интерфероновая реакция лейкоцитов
ИФН	-интерферон
ИОХВ	- инфекционные осложнения хирургических вмешательств
КТ	- компьютерная томография
КОЕ	- колониеобразующие единицы
м	- мужчины
МЕ	- международные единицы
МРТ	- магнитно-резонансная томография
МЭС	-медико-экономические стандарты
НПО	- научно-производственное объединение
ОРИТ	- отделение реанимации и интенсивной терапии
ОЭП	- острый экспериментальный перитонит
СОЭ	- скорость оседания эритроцитов
УЕ	- условные единицы
УЗИ	- ультразвуковое исследование
ЧЛИ	- человеческий лейкоцитарный интерферон

Введение

Актуальность темы исследования

Лечение гнойно-воспалительных заболеваний органов брюшной полости и их осложнений остается одной из наиболее актуальных проблем абдоминальной хирургии и интенсивной терапии [24, 72, 87, 96, 118, 171]. В настоящее время отсутствует четкая тенденция к снижению летальности при этих патологических процессах. Так, по данным ряда исследований, она составляет от 19% до 70% [106, 128, 146]. Деструктивные поражения органов брюшной полости нередко приводят к развитию тяжелого сепсиса [35, 151, 172]. При этих заболеваниях спасение жизни пациента в первую очередь зависит от своевременной диагностики и эффективного хирургического вмешательства [147].

Благодаря созданию новых антибактериальных препаратов, удалось разработать методы эффективного лечения многих заболеваний инфекционной природы [49, 61, 81, 131]. Вместе с тем, частое применение антибиотиков без должных показаний, нарушения схем лечения, неадекватные дозировки препаратов привели к тому, что микроорганизмы, вызывающие гнойно-септические заболевания, стали малочувствительны к известным современным антибактериальным препаратам [157, 163]. При этом необходимо отметить, что повышение резистентности практически всех доминирующих патогенных микроорганизмов происходит гораздо быстрее, нежели создаются новые препараты, способные влиять на антибиотикоустойчивые штаммы [132, 157].

Кроме того, антибиотикотерапия сопровождается рядом нежелательных эффектов, таких как дисбиоз кишечника, аллергические реакции, угнетение функций печени и др. В этой связи возникает необходимость создания и использования принципиально новых антибактериальных препаратов, в частности низкомолекулярных катионных пептидов, обладающих выраженным антимикробным действием [144, 156, 178, 182]. Известно, что антибактериальные катионные пептиды проявляют высокую активность против некоторых антибиотикоустойчивых клинических штаммов [161, 176].

В 90-х годах прошлого столетия было обнаружено, что препараты природного лейкоцитарного альфа-интерферона обладают антибактериальным действием [65, 78, 79]. Установлено, что этот эффект обусловлен наличием в препаратах интерферона комплекса низкомолекулярных пептидов, являющихся защитными компонентами иммунной системы человека. На базе Пермского НПО "Биомед" был выделен антибактериальный фактор, синтезируемый донорскими лейкоцитами в процессе интерфероногенеза под действием вируса-индуктора. Данный пептидный комплекс был изучен, дана оценка его физико-химических и некоторых биологических свойств. Исследование специфической активности комплекса подтвердило его антимикробное действие на ряд грамположительных и грамотрицательных бактерий [27, 28, 67]. Создание новых препаратов предполагает этап их доклинической оценки с изучением эффективности на моделях заболеваний, при которых новое лекарственное средство может быть использовано, исходя из этого, исследование автора следует считать актуальным.

Степень разработанности темы исследования

Согласно клиническим рекомендациям по лечению острых хирургических заболеваний органов брюшной полости, методом выбора является своевременное выполненное оперативное вмешательство с проведением в послеоперационном периоде рациональной противовоспалительной и детоксикационной терапии. В России этот лечебный комплекс выполняется широко, но отсутствуют работы по применению комплекса низкомолекулярных антибактериальных пептидов человека при данной патологии. Существующие схемы моделирования перитонита у животных требуют усовершенствования в сторону их объективности и меньшей травматичности. Выше изложенное, определило выбор цели и задач настоящего исследования.

Цель исследования

Повышение эффективности лечения абдоминальных хирургических инфекций за счет использования препарата, состоящего из комплекса

антибактериальных пептидов, синтезируемых и выделяемых лейкоцитами человека в процессе интерфероногенеза.

Задачи исследования

1. Изучить особенности микробного пейзажа больных с абдоминальной хирургической инфекцией в условиях многопрофильного стационара.
2. Определить динамику антибиотикочувствительности штаммов, выделенных у больных острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом.
3. Исследовать *in vitro* антибактериальное действие комплекса низкомолекулярных пептидов лейкоцитов на штаммы микроорганизмов, выделенных у больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом.
4. Разработать модель экспериментального перитонита с учетом особенностей микробного пейзажа при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите.
5. Провести оценку эффективности использования лейкоцитарного антибактериального пептидного комплекса, ассоциированного с процессом интерфероногенеза, для подавления экспериментального перитонита у животных.

Научная новизна

Установлено, что при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите доля бактерии рода *Escherichia coli* составляет в структуре микроорганизмов не менее 36,36%. Бактерии родов *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.* составляют 19,13 и 19,37% соответственно.

Проведена сравнительная характеристика антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов у больных острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом в динамике. Выявлено снижение чувствительности с января 2008 г. по декабрь 2012 г. у *Escherichia coli* на 7,32%, *Staphylococcus spp.* – на 14,37% и *Streptococcus spp.* – на 26,23%.

Разработана модель экспериментального перитонита, которая позволяет проводить оценку лечебной эффективности различных противомикробных препаратов.

Впервые показана эффективность низкомолекулярного пептидного комплекса при экспериментальном перитоните у животных, проявляющаяся заметным снижением симптомов интоксикации и летальности.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в работе данные расширяют представления о характере микрофлоры при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите и ее значении в развитии хирургических инфекций у больных многопрофильного стационара. Результаты исследований могут быть использованы при выборе препаратов для проведения рациональной антибиотикопрофилактики, а также эмпирической и этиотропной антибактериальной терапии (Акт внедрения от 15 апреля 2015 г.).

Показана лечебная эффективность лейкоцитарного антибактериального пептидного комплекса в отношении бактерий, изолированных от больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом.

Апробирована модель экспериментального перитонита у лабораторных животных при абдоминальном введении микст-культур бактериальных штаммов, выделенных из экссудатов больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом, на основании которой можно изучать эффективность антибактериальных препаратов.

Выявленная антибактериальная эффективность пептидного препарата при лечении экспериментального перитонита является основанием внедрения в практику.

Методология и методы исследования

В исследовании использовались клинические, лабораторные, инструментальные, морфологические и статистические методы исследования. Объекты исследования: больные с острым аппендицитом, острым холециститом и

острым панкреатитом; лабораторные животные (крысы) для разработки модели перитонита и оценка эффективности его лечения. Предмет исследования – результаты определения возбудителей хирургической инфекции и выявление их чувствительности к антибиотикам, разработка модели перитонита с использованием полученных штаммов, изучение лечебной эффективности комплекса низкомолекулярных антибактериальных пептидов человека.

Положения, выносимые на защиту

1. В структуре клинически значимой микрофлоры при абдоминальных инфекциях преобладают представители грамотрицательной микрофлоры, в частности, род бактерий *Escherichia coli*, доля которой в структуре пейзажа абдоминальных микроорганизмов составляет не менее 40%. Штаммы, выделенные у больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом, обладают множественной антибиотикорезистентностью.

2. Выделенный из лейкоцитов человека комплекс низкомолекулярных пептидов обладает антибактериальным действием в отношении микроорганизмов родов *Escherichia* и *Staphylococcus*, выделенных у пациентов с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом.

3. Разработанная модель экспериментального гнойного перитонита у крыс может быть использована для оценки эффективности действия новых антибактериальных пептидных препаратов.

4. Введение раствора антибактериального пептидного комплекса (АБПК) в брюшную полость способствует уменьшению эндотоксикоза и приводит к снижению летальности при распространенном экспериментальном гнойном перитоните.

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты исследований внедрены в работу хирургических отделений ГБУЗ "Клиническая медико-санитарная часть №1" г. Перми при лечении больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым

панкреатитом, а также используются в учебном процессе на кафедре факультетской хирургии №2 с курсом гематологии и трансфузиологии ФПДО ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Результаты исследований легли в основу двух изобретений: «Способ моделирования перитонита в эксперименте» (Заявка № 2015111066 от 26.03.2015), «Способ профилактики спонтанно возникающего острого перитонита у экспериментальных животных» (Заявка № 2015150010 от 20.11.2015).

Степень достоверности и апробация результатов

Статистический анализ результатов проведён с помощью программы Statistica 6.0 (№ лицензии AXXR009E747530FAN25).

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на XVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2011); XIV региональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия. Экология. Биотехнология–2012» (Пермь, 2012); 17-ой международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2013); 51-ой Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс»; Медицина (Новосибирск, 2013.); XVII региональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия. Экология. Биотехнология – 2015» (Пермь, 2015).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них три в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, оформлено две заявки на патенты РФ «Способ моделирования перитонита в эксперименте» (Заявка № 2015111066 от 26.03.2015), «Способ профилактики спонтанно возникающего острого перитонита у экспериментальных животных» (Заявка № 2015150010 от 20.11.2015).

Связь работы с научными программами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Номер государственной регистрации темы 115031920001.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация по поставленной цели, решенным задачам и полученным результатам соответствует паспорту специальности 14.01.17 – хирургия.

Личный вклад автора в проводимое исследование

Проведен патентно-информационный поиск и анализ литературы по теме диссертации; составлены протоколы исследований; принято участие в проведении бактериологических исследований клинического материала у больных с хирургическими инфекциями; проведены экспериментальные доклинические исследования на животных; разработана модель экспериментального перитонита, определен круг возбудителей наиболее чувствительных к АБПК, синтезируемому в процессе интерферогенеза; проведена оценка клинической эффективности АБПК на экспериментальной модели перитонита у крыс. Автором лично проведен ретроспективный анализ историй болезней обследованных больных, статистическая обработка результатов исследований.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель включает в себя 188 источников, из них 123 отечественных и 65 иностранных авторов.

Диссертация изложена на 126 страницах компьютерного текста, содержит 23 таблицы, 32 рисунка.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Особенности абдоминальных инфекций на современном этапе

Абдоминальные гнойно-воспалительные заболевания и их осложнения в настоящее время остаются одной из сложных проблем хирургии. Наиболее частыми их причинами являются поражения дистального отдела пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки, желчных путей, тонкой и толстой кишок, червеобразного отростка, печени, селезенки, поджелудочной железы (включая парапанкреатические абсцессы и инфицированные псевдокисты железы), а также воспалительные заболевания органов малого таза у женщин [137, 174].

Перфорация и некроз органов брюшной полости составляют 80 % всех случаев острых хирургических заболеваний, из них 30 % связаны с некротическими поражениями органов (перфорация желудка и двенадцатиперстной кишки), 20 % – с деструктивным аппендицитом, 20 % с поражением толстой кишки и 10 % – тонкой кишки) [96, 111].

В хирургической тактике, так и в планировании программы противомикробного лечения, с клинической позиции, имеет важное значение разделение гнойно-воспалительных заболеваний брюшной полости на неосложненные и осложненные инфекцией. Отсутствие признаков перитонита и выраженной системной воспалительной реакции наблюдаются при неосложненных инфекциях. В данных случаях после операции нет необходимости в назначении длительной противомикробной терапии, назначение антибиотиков носит профилактический характер [12].

Диагноз острого аппендицита наиболее затруднителен в течение первых часов заболевания, т. е. в стадии «катарального» воспаления, поскольку в этот период симптоматика неспецифична: мало страдает общее состояние больного, отсутствуют симптомы раздражения брюшины и др. [25, 120, 175]. Поэтому именно при катаральной форме острого аппендицита встречается наибольшее количество диагностических ошибок, приводящих, в лучшем случае, к напрасному удалению червеобразного отростка [129]. Тем не менее, внимательная оценка анамнеза и данных физикального исследования, а также использование

лапароскопии в значительной мере снижают частоту неверных диагнозов и таким образом, исключают проведение ненужных аппендэктомий [5]. Острый аппендицит приходится дифференцировать почти от всех острых заболеваний органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Этому, с одной стороны, способствует чрезвычайно высокая вариабельность расположения червеобразного отростка, а с другой – нередкое отсутствие специфической симптоматики заболевания [1, 7, 24, 90].

Для осложненных заболеваний характерно распространение инфекции за пределы зоны ее возникновения, что приводит к развитию перитонита или формированию абсцессов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Основу классификации перитонита по этиологическому принципу составляет выделение 3-х категорий: первичного, вторичного и третичного перитонитов [159, 164].

Первичный перитонит – инфицирование брюшины из экстраперитонеального источника, редкая форма перитонита гематогенного происхождения. Чаще перитонит развивается у женщин в результате проникновения бактерий из влагалища в брюшную полость через маточные трубы. Гематогенный первичный перитонит в большинстве случаев вызывается гонококками, менингококками, пневмококками, стафилококками, стрептококками и энтеробактериями. Редко выделяют анаэробы. Предрасполагающим к перитониту фактором является асцит, чаще у пациентов с циррозом печени [14, 23].

Вторичный перитонит – форма осложненной интраабдоминальной инфекции и основная причина развития абдоминального сепсиса у хирургических больных. Причиной вторичного перитонита в 80% случаев являются деструктивные поражения органов брюшной полости; в 20% послеоперационный перитонит развивается после различных абдоминальных вмешательств [86].

Третичный перитонит, или перитонит без манифестирующего источника инфекции, особенно проблематичен как в диагностике, так и в отношении хирургического и противомикробного лечения. Эта рецидивирующая и

персистирующая форма перитонита возникает у больных, находящихся в критическом состоянии, при нарушениях механизмов местной и системной противоинфекционной защиты. Клинические проявления при этой форме перитонита стерты, проявляются в гипердинамических нарушениях кровообращения и умеренной гипертермии, без четкой местной симптоматики, но с развивающейся полиорганной дисфункцией. При проведении лапаротомии не удается выявить причину перитонита даже при повторном оперативном вмешательстве. Инфицирование мультирезистентными штаммами коагулазонегативных стафилококков, энтерококков, энтеробактерий, псевдомонад или грибами рода *Candida* является важной причиной данной формы перитонита, что свойственно для нозокомиальных инфекций. Эффективная противомикробная терапия третичного перитонита очень сложна [6, 11, 139].

При осложненных инфекциях брюшной полости отмечается распространение инфекции за пределы инфекционного очага – развивается перитонит и системная воспалительная реакция. Перитонеальный экссудат при перфорации гастродуоденальных язв, после нескольких часов, содержит грамотрицательные факультативные и облигатные анаэробы. Спустя 2 часа после перфорации тонкой или толстой кишок происходит инфицирование брюшной полости грамотрицательными факультативными бактериями и анаэробной облигатной микрофлорой, грамположительными кокками и палочками, что сопровождается развитием перитонита. Характер микрофлоры при остром холецистите, осложненном перипузырным абсцессом и неограниченным перитонитом, становится практически идентичным микробному пейзажу тонкой кишки [11].

Вместе с тем, в развитии инфекции брюшной полости временные интервалы являются относительными показателями дифференцировки неосложненной и осложненной внутрибрюшной инфекции. Диагностика инфекции брюшной полости или забрюшинного пространства не может основываться только на результатах бактериологического анализа. Если операция выполнена в первые часы после перфорации стенки кишечника, то микробиологические анализы

будут показывать лишь характер микрофлоры перфорированного органа. Независимо от уровня повреждения желудочно-кишечного тракта, в более поздние сроки, микробный спектр содержимого брюшной полости будет состоять из ассоциации аэробной и анаэробной флоры. Поэтому всегда необходимо в первую очередь ориентироваться на клинические и интраоперационные данные.

Осложнением абдоминальной хирургической инфекции следует считать возникновение признаков синдрома системной воспалительной реакции, что по современным представлениям является клинико-патофизиологической основой сепсиса. Диагностические критерии системной воспалительной реакции включают наличие не менее трех из четырех клинических и лабораторных признаков:

- температура тела более 38 °С или ниже 36 °С;
- число сердечных сокращений не менее 90 ударов в мин (за исключением пациентов, страдающих заболеваниями, сопровождающимися тахикардией);
- частота дыхания свыше 20 раз в мин или р СО₂ менее 32 мм рт. ст.;
- количество лейкоцитов в циркулирующей крови более $12 \times 10^9/\text{л}$ или наличие более 10 % незрелых нейтрофилов.

Частота встречаемости острого аппендицита колеблется среди разных категорий населения в больших пределах от 10 до 150 случаев на 100 000 населения [137]. Одними из ведущих причин развития наиболее тяжелых форм интраабдоминальных инфекций – абдоминального сепсиса, являются острый аппендицит, острый холецистит и дивертикулит [134].

Среди экстренной хирургической патологии в настоящее время наблюдается рост заболеваемости острым панкреатитом, в том числе деструктивными формами, которые развиваются у 30% больных с воспалением поджелудочной железы [41], а также возникновением осложненных форм заболевания. Острый панкреатит является одной из наиболее тяжелых и материально затратных патологий экстренной хирургии. Воспалительный и некротический процессы поджелудочной железы варьируют от интерстициального панкреатита (панкреатит легкой степени) до развития

осложненных форм стерильного и инфицированного панкреонекроза [44]. Панкреонекроз инфицированный, согласно модифицированной классификации острого панкреатита «Атланта-992» [45, 130], – одна из форм тяжелого панкреатита, характеризующаяся присоединением инфекции к некробиотическим изменениям в самой поджелудочной железе (ПЖ) и окружающих тканях и является наиболее грозным осложнением данной патологии, летальность при которой достигает 40-52% [39]. Панкреонекроз при присоединении инфекции является причиной развития серьезных осложнений, таких как флегмона брюшинного пространства, панкреатогенный абсцесс и гнойный перитонит. На сегодняшний момент, несмотря на распространенность острого панкреатита, в тактике лечения его остается много спорных вопросов: нет единой концепции в показаниях и объему оперативного лечения, отсутствует общепринятая схема консервативной терапии, остаются спорные вопросы в отношении антибиотикотерапии [29, 170].

1.2. Антибактериальная терапия абдоминальных инфекций на современном этапе

Для абдоминальных хирургических инфекции характерна полимикробная этиология, встречаются как грамотрицательные, так и грамположительные аэробные и анаэробные бактерии. Грамотрицательные возбудители играют основополагающую роль и представлены в основном энтеробактериями (*E. coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*), псевдомонадами, неспорообразующими анаэробами, особенно бактероидами. Грамположительные микроорганизмы выделяются менее чем в 30% случаев.

Госпитальные штаммы возбудителей имеют большое значение в микробиологической структуре абдоминальных инфекционных осложнений, развивающихся в послеоперационном периоде или во время пребывания пациентов в медицинском учреждении: коагулазонегативные стафилококки, энтерококки, энтеробактер, ацинетобактер и псевдомонады. Крайне затруднено лечение больных с этими видами микроорганизмов, так как у них высокая и поливалентная резистентность к антибиотикам. В этом отношении

грамотрицательные микроорганизмы представляют большую проблему, например, *Acinetobacter spp.* [33, 160].

При проведении антимикробной терапии необходимо учитывать, что в последние годы наблюдается увеличение роли грибов рода *Candida* в возникновении и прогрессировании интраабдоминальных инфекционных процессов: перитонита, внутрибрюшных абсцессов, инфекционных осложнений, деструктивного панкреатита [113, 154].

При выборе схем противомикробной терапии следует соблюдать последовательность лечения, использования в качестве средств первоначальной терапии препаратов широкого спектра действия с учетом клинического течения заболевания, точно поставленного диагноза (локализация и характер первичного очага инфекции), предполагаемых при этом диагнозе возбудителей и прогнозируемой чувствительности возбудителя к противомикробному препарату [31]. Первое изменение выбранной схемы терапии проводится, как правило, спустя 18-36 часов после забора исследуемого материала на основании данных антибиотикограммы, повторное – на 3-4 день по данным полного бактериологического обследования. Продолжительность терапии антимикробными препаратами не превышает 5-7 дней при неосложненных формах внутрибрюшной инфекции, а при осложненных зависит от ее эффективности. Улучшение методик противомикробной терапии пациентов группы высокого риска является для них не только жизненной необходимостью, но и позволяет более эффективно контролировать распространение полирезистентных микроорганизмов в стационаре, появлению которых способствует нерациональное использование противомикробных препаратов [50].

Инфицированный панкреонекроз является абсолютным показанием к назначению противомикробной терапии, цель которой состоит в ограничении распространения инфицирования тканей, окружающих гнойный процесс и профилактике реинфицирования брюшной полости после проведения хирургического лечения и формирования экстраабдоминальных очагов инфекции. Несмотря на успехи в создании новых антибиотиков, в настоящее время ни один

из существующих консервативных методов лечения не способен блокировать прогрессирующий инфекционный некротический процесс в поджелудочной железе [158].

Перитонит относится к полимикробным заболеваниям с плохим прогнозом. Смертность от перитонита колеблется от 3,5% при проникающих ранениях брюшной полости до 60% при абдоминальном сепсисе с полиорганной недостаточностью [4]. Главными этиологическими агентами при этих типах перитонита являются грамотрицательные бактерии (в основном семейства *Enterobacteriaceae*) и энтерококки, как правило, в сочетании с анаэробными микроорганизмами (*Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp.*). Наиболее часто при вторичном перитоните из брюшной полости выделяются несколько видов микроорганизмов [18], причем в 90% случаев идентифицируются аэробно–анаэробные ассоциации микроорганизмов [30, 40, 43]. В качестве наиболее частых патогенов при перитоните выделяют *Escherichia coli* и *Bacteroides fragilis*, менее часто – *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, различные виды рода *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Eubacterium spp.* [18, 173].

Клинически важной особенностью интраабдоминальных инфекций, во многом определяющей отрицательный прогноз, является стремительное развитие генерализованной реакции макроорганизма в ответ на инфекционный процесс, обусловленный действием бактериальных эндо- и экзотоксинов, а так же различных медиаторов воспаления.

Таким образом, для установления диагноза и выбора лечения при абдоминальных инфекциях следует учитывать такие моменты, как полиэтиологичность, возможные сложности в клинической оценке результатов микробиологического исследования, значение данных по антибиотикорезистентности в конкретном стационаре, а также использование рациональной антибактериальной терапии.

Грамотрицательные бактерии являются наиболее частыми возбудителями абдоминальных инфекций и осложнений у хирургических больных, основное

место среди которых занимают представители энтеробактерий (*E.coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*), псевдомонады, а также неспорообразующие анаэробы, особенно, бактероиды. Данные микроорганизмы обладают высокой поливалентной резистентностью к противомикробным препаратам, что сильно затрудняет эффективное лечение пациентов. Большие сложности наблюдаются у больных с грамотрицательными микроорганизмами рода *Acinetobacter*, которые устойчивы ко многим противомикробным препаратам. Грамположительные микроорганизмы в общей структуре интраабдоминальных инфекций занимают одну треть [30, 46]. Среди аэробных микроорганизмов при внебольничных интраабдоминальных инфекциях преобладают грамположительные кокки: золотистый стафилококк, пиогенный и другие стрептококки [52].

Наиболее широким спектром активности против анаэробов обладают метронидазол, карбапенемы и хлорамфеникол. Последний противомикробный препарат из-за высокой токсичности не может быть рекомендован для широкого применения при абдоминальных инфекциях. В последние годы наблюдается тенденция к росту устойчивости анаэробных микроорганизмов, особенно у грамотрицательных, к таким противомикробным препаратам, как линкозамидам и цефамицинам. При изучении антибиотикочувствительности кишечных штаммов *B. fragilis* и *B. thetaiotaomicron* выявлена их нечувствительность к незащищенным пенициллинам (ампициллину, бензилпенициллину), соответственно в 99 и 93% случаях. Наибольшая активность против этих бактерий (оцененную по значениям МПК) наблюдалась у метронидазола, имипенема, амоксициллина/клавуланата, умеренная у – клиндамицина, хлорамфеникола, цефокситина. Устойчивых штаммов к метронидазолу не выявлено, частота резистентных штаммов к амоксициллин/клавуланату, имипенему и хлорамфениколу составила 2%, а для других антибиотиков была намного выше: цефокситину – 11%, пиперациллину – 13%, клиндамицину – 36%, ампициллину – 93% [181].

В неотложной абдоминальной хирургии основным путем проведения антибиотикотерапии является парентеральный. Эффективную концентрацию препаратов в крови при заболеваниях средней степени тяжести создают путем

внутримышечного введения с адекватным интервалом. При тяжелых состояниях больных ухудшается перфузия тканей, всасывание препаратов при внутримышечном введении значительно снижается. По этой причине, более эффективным способом введения противомикробных препаратов является внутривенный [60, 118].

Результаты по эндолимфатическому и внутриартериальному введению противомикробных препаратов при абдоминальной хирургической инфекции, представленные в литературе, пока нельзя считать достаточными для того, чтобы сформировать окончательное представление в отношении их лечебной эффективности, экономической целесообразности, наличия побочного действия и осложнений [138].

Эффективность методов введения антибиотиков местно внутрибрюшинно или орошение ими брюшной полости сомнительна, так как сравнительными клиническими исследованиями убедительно доказано отсутствие влияния орошения брюшной полости аминогликозидами, цефалоспоридами или хлорамфениколом на частоту встречаемости послеоперационных инфекций. Применение противомикробных препаратов таким методом не создает выраженного бактерицидного эффекта в брюшной полости и может способствовать проникновению препарата в системный кровоток, что при использовании токсичных антибиотиков (особенно аминогликозидов I поколения) опасно дополнительными повреждениями органов [17].

Вместе с тем, многие авторы отмечают, что применение антибиотиков вызывает развитие ряда побочных эффектов, в том числе, приводит к возникновению антибиотикорезистентных госпитальных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих тяжелые внутрибольничные инфекции [30, 46, 133]. В связи с этим гнойно-воспалительные заболевания и послеоперационные осложнения, обусловленные условно-патогенными микроорганизмами, обычно бывают хронического эндогенного характера и вызываются заболеваниями, которым характерно стабильное выделение возбудителя [18].

Учитывая, что у 26,1% больных с острыми деструктивными заболеваниями органов брюшной полости течение патологического процесса сопровождается симптомами эндогенной интоксикации, использование миниинвазивных оперативных вмешательств в сочетании с адьювантным проведением в послеоперационном периоде сеансов мембранного плазмафереза способствует более быстрой реабилитации пациентов, значительному сокращению периода пребывания больного в стационаре, а также снижению числа послеоперационных осложнений на 47,4%, а послеоперационной летальности в три раза [123].

Известен метод струйной санации брюшной полости с использованием микродисперсного антисептического раствора (0,1% раствор гипохлорита натрия). Сущность струйной санации брюшной полости заключается в использовании для обработки париетальной и висцеральной брюшины такой формы антисептического раствора, которая обеспечивает эффективное удаление пленок фибрина и микробных клеток с поверхности брюшины [40].

Современные антибиотические препараты, применяемые для лечения различных заболеваний бактериальной природы, обладают рядом побочных эффектов [150, 152]. В этой связи наиболее важный аспект современной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний человека является выбор не только эффективного, но и щадящего режима терапии даже в случаях бесспорной результативности назначения таких средств, как антибиотики.

Одним из альтернативных методов воздействия на патогены, устойчивые к антибиотикам, является применение вирусов бактерий-бактериофагов, атакующих болезнетворные микроорганизмы [73, 177, 180]. Впервые бактериофаги были применены с терапевтическими целями Д'Эррелем около 90 лет назад [48]. Биологически фаготерапия является взаимодействием «фаг-хозяин», происходит постоянное изменение соотношения их сил, и только в том случае, когда в этом противостоянии механизмов преобладает бактериофаг, возможным становится эффективное использование его в лечебных целях [69, 153, 185].

Положительными качествами бактериофагов является их высокая избирательная противомикробная активность и безвредность для пациента [167, 187]. Кроме того, известно, что продукты фаголизиса обладают специфическим и неспецифическим действием на иммунную систему пациента, усиливают противоинфекционный иммунитет [142, 169].

Бактериофаги широко используются в хирургической практике для лечения фурункулезов, абсцессов, гидраденитов [2, 115]. Положительные результаты их применения доказаны при проникающих ранениях грудной клетки, перитонитах, паранефритах, маститах, флегмонах [116]. Фаги успешно применяются при лечении остеомиелитов [58, 122], в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии [51, 84, 107, 119], у больных с сепсисом, анаэробной инфекцией [186]. Положительный эффект фаготерапии наблюдался также при лечении заболеваний легких и плевры [62, 77]. Полученные результаты показали отсутствие побочных эффектов фаготерапии – метода лечения более щадящего, по сравнению с антибиотиками [91, 102, 103].

Бактериофаги вводятся различными путями в зависимости от локализации воспалительного процесса: перорально, внутримышечно, в виде клизм, местно (в очаг поражения). Клинически было показано, что при пероральном поступлении фаг быстро достигает пораженного органа и выводится из организма через мочевыделительную систему. Обнаружение бактериофагов в крови, бронхо-легочном содержимом, экссудате ожоговых ран, ликворе, моче говорит о том, что пероральный прием этих препаратов обеспечивает их контакт с возбудителем непосредственно в очаге инфекции, недоступном по его расположению для непосредственного взаимодействия с лекарством [91]. Энтеральное применение моно- и поливалентных бактериофагов показано больным с дисбактериозами, а также в послеоперационном периоде у больных с тяжелыми гнойно-септическими осложнениями [34, 111].

При сепсисе и септикопиемии используют внутривенный и внутриартериальный пути введения бактериофагов [76]. Важно отметить, что при парентеральном введении бактериофагов количество вводимого лекарства, ни в

кчем случае, не должно превышать дозу, вызывающую развитие массивной токсемии за счет лизиса бактерий с выбросом значительного количества экзо- и эндотоксинов [115, 127].

В настоящее время широко применяют при гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей и наиболее часто при нагноении ран после абдоминальных операций, поливалентные препараты бактериофагов, одним из которых является «Секстафаг», обладающий комбинацией различных фагов-стрептококкового, стафилококкового, протейного, клебсиелезного, коли, псевдомонадного и энтеробактеров [53, 102, 103]. Использование поливалентных препаратов бактериофагов позволяет проводить лечение до выяснения результатов бактериологического исследования [34, 75, 184]. Действие таких препаратов способствует более быстрой регрессии воспалительной реакции и снижению эндогенной интоксикации, повышению фагоцитарной активности нейтрофилов, стабилизации функций лейко- и эритропоэза, уменьшению времени очищения раны [69, 165].

Высокая клиническая эффективность лечения больных бактериальной инфекцией (80-95%), особенно вызванной антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов, позволила рекомендовать поливалентный препарат «Секстафаг» для лечения острых и деструктивных панкреатитов. Использование бактериофага во время операции и включение его в состав комплексного послеоперационного лечения больных панкреонекрозом позволило быстрее купировать явления эндотоксикоза, восстановить основные параметры гомеостаза и функции органов и систем. Комплекс предложенных авторами мероприятий значительно уменьшил количество послеоперационных осложнений и летальных исходов [102, 103, 108].

Учитывая, что в многопрофильном хирургическом стационаре количество пациентов с острым панкреатитом составляет, как правило, около 12% от общего числа экстренно госпитализированных с патологией органов брюшной полости, установлена практическая целесообразность использования поливалентных бактериофагов в составе комплексной терапии асептического панкреонекроза

[110]. Двукратное введение препарата в течение суток в начальный отдел тонкой кишки через зонд, установленный эндоскопически или во время операции, а также путем инфильтрации зон некроза, лаважа сальниковой сумки и забрюшинных пространств в сочетании с энтеральной нутритивной поддержкой, способствуют улучшению результатов лечения, снижению послеоперационных осложнений с 78,6% до 47,7% и летальности с 39,2% до 16,3% [43].

Несмотря на то, что многие аспекты фаготерапии к настоящему времени достаточно хорошо изучены, вопрос о поиске новых эффективных природных и безопасных антибактериальных препаратов не теряет своей актуальности.

1.3. Антибактериальные пептиды

Очевидно, что чем ближе состав лекарства к веществам, содержащимся в человеческом организме, тем эффективнее окажется их воздействие. К таким соединениям относятся и пептидные препараты. Некоторые специалисты называют препараты, изготовленные на основе пептидов, лекарством XXI века.

Эффективность пептидных препаратов определяется тем, что они функционируют на клеточном уровне. Механизм действия этих соединений довольно сложный: они запускают в клетке очень много процессов, особым образом взаимодействуя с клеточной мембраной и подавая при этом своего рода сигнал о необходимости синтеза определенных веществ, изменяющих жизнь отдельного органа или всего организма.

Бактериальная инфекция, нарушает в организме метаболические процессы, супрессирует специфические и неспецифические факторы резистентности, приводит к острому или хроническому синдрому вторичного иммунодефицита. Супрессия системы интерферона является отражением иммунодефицита у инфекционных пациентов. Так, при анализе интерфероновой реакции лейкоцитов (ИРЛ) установлено, что при бактериальных инфекциях более подвержена подавлению продукция ИФН- γ (ИРЛ- γ) и, в меньшей степени, – ИРЛ- α [27].

Постоянно увеличивается количество антибактериальных пептидов, полученных из человеческого организма. О.В. Бухариным описан тромбоцитарный катионный белок - бета-лизин, обладающий противомикробной активностью, в отношении грамположительных

бактерий и обладающий иммунорегулирующей активностью [17]. В 2002 году было выяснено, что кератиноциты кандилом человека продуцируют противомикробный пептид LL-37, который также является многофункциональным иммуномодулятором [135, 179]. Позднее из тестикулярной и почечной ткани получен противомикробный пептид, активный в отношении микроорганизмов видов *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [143].

Необходимо обратить внимание на то, что ряд пептидов и белков, обладающих противомикробным действием, показывают свою активность не только внутриклеточно, располагаясь в лизосомальных гранулах нейтрофилов, но также и в жидких средах макроорганизма. К данным лекарствам можно отнести лактоферин, лизоцим и лактопероксидазу, являющихся катионными белками, проявляющими противомикробную активность с помощью разнообразных механизмов, в частности повреждением клеточной стенки бактерий [16]. Кроме того, к данной группе относят противомикробные пептиды, продуцируемые клетками барьерных эпителиев желудочно-кишечного, респираторного и мочеполового трактов и секретируемые на поверхности слизистой оболочки [144, 166]. В 2002 году выделили из семенной жидкости человека катионный противомикробный протеин-18 [125].

В этой связи, внимание исследователей в настоящее время все больше привлекают низкомолекулярные катионные пептиды, среди которых число обладающих антибактериальной активностью к настоящему времени превысило несколько сотен за счет быстрого расширения скрининга продукции пептидов, практически, во всех биологических объектах: от человеческого организма [17, 143] до различных тканей многоклеточных организмов [16, 126, 166] и микроорганизмов [156].

Антимикробная активность крови, лейкоцитов и лимфоидной ткани человека была обнаружена еще в 50-х годах XIX столетия, а в 1920-1950-х годах множество антимикробных веществ было выделено из различных тканей человека. В отечественной литературе в начале 80-х годов прошлого столетия появились публикации о присутствии у человеческого лейкоцитарного интерферона противомикробной активности в отношении патогенных микроорганизмов [64, 92, 126]. Ученые доказали, что в препаратах человеческого лейкоцитарного интерферона (ЧЛИ) присутствовала в достаточно больших титрах

антистафилококковая активность, не связанная с ИФН непосредственно, поскольку она не нейтрализовалась антиинтерфероновым иммуноглобулином и не увеличивалась, а наоборот, полностью пропадала в результате очистки ИФН для увеличения его удельной противовирусной активности [71]. В результате проведенных экспериментов был сделан вывод, что ИФН оказывал бактерицидное и бактериостатическое действие на стафилококки, изменяя их биологические свойства. У микробов пропадала активность ферментов вирулентности: гемолизина, лецитовителлазы, плазмокоагулазы, а также способность ферментировать манит и глюкозу в анаэробных условиях [82]. Бактериостатический эффект в отношении грамотрицательной флоры был выявлен лишь при использовании больших концентраций препарата ИФН [65]. Проведенные опыты натолкнули на мысль, что в составе препаратов ИФН, полученных путем обработки лейкоцитов вирусными индукторами, есть фактор, оказывающий влияние на клеточные стенки грамположительных бактерий [79, 92]. Проведенные исследования и полученные данные подтвердили влияние очищенных препаратов ИФН на рост и чувствительность бактерии *S. epidermidis* 33. Результаты проведенных исследований позволили предположить, что в составе препаратов интерферона, полученных традиционным способом путем обработки лейкоцитов крови вирусными индукторами, есть фактор, избирательно взаимодействующий с клеточными мембранами грамположительных бактерий, имеющий молекулярную массу около 5 кДа [61]. Действие этого фактора приводит к изменению энергетического потенциала мембран микробных клеток и разрушению плазматической мембраны стафилококков после их взаимодействия с ИФН [64, 156].

В 2000 году О.В. Бухарин и В.А. Гриценко изучили катионный термостабильный белок «Интерцид» молекулярной массой 11,0 - 11,5 кДа, выделенный из лейкоцитов человека, который имеет широкий спектр противомикробного действия в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [19, 42].

В начале нового тысячелетия в Пермском НПО «Биомед» был получен антибактериальный низкомолекулярный комплекс пептидов, ассоциированный с процессом интерфероногенеза [27]. Проведен цикл исследований по оценке

присутствия антибактериальной активности препаратов ИФН лейкоцитарного происхождения, выпускаемых в России. Показано, что уровень их антибактериальной активности взаимосвязан с уровнем противовирусной активности препаратов, чем выше противовирусная активность ИФН и качество очистки, тем ниже его антибактериальная активность. Большое значение имеет природа ИФН, так как показано, что рекомбинантный ИФН не содержит какой-либо антибактериальный фактор. В процессе изучения природного интерферона было обнаружено, что его антибактериальная активность обусловлена комплексом низкомолекулярных пептидов, представленным 5 пептидами с молекулярными массами от 1296,8 до 1673,11 кДа. В составе пептидного комплекса обнаружено 16 аминокислот. Наличие в нем изолейцина (6,2 %), лейцина (7,0%), валина (6,2%) обеспечивает гидрофобные свойства молекул пептидов, указывающие на их способность к взаимодействию с фосфолипидами бактериальных мембран. Полученные результаты позволили сделать выводы о том, что выделенный пептидный комплекс, продукция которого ассоциирована с интерфероногенезом, обладает суммарным положительным зарядом в сыворотке крови со слабощелочным значением рН. Исследование пептидного комплекса методом электрофореза на ацетат-целлюлозных мембранах также свидетельствовало о катионных свойствах его молекул [28].

Микробиологическими исследованиями показано влияние комплекса низкомолекулярных пептидов на микроорганизмы, полученные из мочи детей с различной патологией мочевой системы. Так, из мочи больных хроническим пиелонефритом в максимальном проценте случаев высевались бактерии *Staphylococcus* – 41,7%; 33,3% относились к роду *Escherihia* и 25% – к роду *Proteus*. Анализ чувствительности к пептидному комплексу выделенных уропатогенных бактерий показал, что все изученные группы микроорганизмов оказались чувствительны во всех протестированных образцах мочи. При этом отмечалось полное подавление роста бактерий рода *Staphylococcus* при концентрации пептидного комплекса 4000 УЕ/мл. У представителей грамотрицательной флоры, таких как бактерии родов *Klebsiella* и *Escherihia*,

чувствительность к данному пептидному комплексу отмечена в 86,67% случаев. В то время как наибольший процент резистентных бактерий был характерен для бактерий рода *Proteus* – 38,5% [27, 28].

Отсутствие в настоящее время тенденции к снижению гнойно-воспалительных абдоминальных инфекций способствует значительному увеличению продолжительности их лечения и, как следствие, его трудоемкости и значительному возрастанию экономических затрат. На сегодняшний день согласно современным представлениям о природе и качестве лекарств, наибольшее предпочтение отдается препаратами, включающим естественные защитные компоненты организма, а расширение алгоритма их использования является альтернативой антибиотикотерапии.

Таким образом, низкомолекулярные катионные пептиды и белки лейкоцитарных клеток, обладающие антибактериальной активностью, в будущем, по-видимому, будут способны заменить традиционные антибиотики в качестве природных защитных факторов при лечении инфекционных заболеваний.

1.4. Современные модели перитонита *in vivo*

Одной из актуальных проблем хирургии является острый перитонит. В настоящее время условия методологического подхода к моделированию на животных различной патологии человека вызваны необходимостью осуществить в лабораторных условиях наиболее точное воссоздание патологического процесса, лишенного каких-либо побочных реакций, изменяющих результаты исследования.

В большом количестве экспериментальных моделей перитонита на сегодняшний день имеется несколько принципиально различающихся методических подходов, которые условно делятся на пять групп [74].

В первую группу входят экспериментальные перитониты, которые развиваются у животных при введении в брюшную полость инородных тел: куски дерева, пробки, марли [20].

Моделирование перитонита путем введения различных химических веществ составляет вторую группу. В качестве химических веществ используются такие

вещества, как: деготь, скипидар, формалин, дистиллированная вода и амниотическая жидкость коровы.

К третьей группе относятся перитониты, полученные путем введения чистых культур микроорганизмов, в частности предложенный еще в прошлом веке способ моделирования перитонита путем прямого введения бактериальной культуры внутрибрюшинно. О.С. Илларионова в эксперименте на белых крысах и кошках инфицировала брюшную полость содержимым кишечника и культурой кишечной палочки в дозах, вызывающих гибель животных [56].

Известен способ моделирования острого гнойного перитонита у собак введением через лапаротомный разрез смеси культур – *S.aureus* 209, *E.coli* O – 111 и *C.perfringens* Киев-235. В целях раздражения брюшины перед введением смеси культур в брюшную полость предварительно вводят бычий бульон [47, 114]. Существенным недостатком данного способа является то, что введение в брюшную полость микробной культуры, даже после предварительной провокации брюшины, у части животных не обеспечивает развития четко выраженного перитонита, т.к. микробная взвесь быстро резорбируется из брюшной полости, и реакция организма протекает по типу острого сепсиса с гибелью животных в течение суток.

Разработан способ моделирования перитонита, связанный с введением каловой взвеси в брюшную полость. Обычно используют 30% аутогенную или аллогенную взвесь, освобожденную от взвешенных крупных частиц в количестве 0,7-0,9 мл на 100,0 г массы животного. Состав такой взвеси представлен ассоциацией микробов, содержащей грамтрицательные палочковидные бактерии, протей, золотистый стафилококк, стрептококк и др. Предварительно за 2-3 дня до введения каловой взвеси у животных повреждают мышцы скакательного комплекса [104]. Основным недостатком метода заключается в трудности определения качественного состава взвеси, введение которой может и не вызывать развитие перитонита или, наоборот, провоцировать стремительное развитие абдоминального сепсиса и гибель животного уже в первые часы эксперимента.

Предложен также способ моделирования экспериментального перитонита у крыс путем инъекционного введения в брюшную полость бактериальной культуры *E.coli* O – 111 в дозе 14 млрд. микробных тел на 100,0 г массы крысы в 2,0 мл 20 % раствора маннитола. Через 7 суток крысы погибают от острого разлитого перитонита. Предложенный способ обеспечивал надежную, приближенную к клиническим условиям, картину гнойного процесса при воспроизведении острого разлитого перитонита с увеличением продолжительности жизни животных, что могло быть использовано для разработки новых методов лечения заболевания. Однако, данный метод непрактичен, требует значительных финансовых затрат и времени для подготовки. При этом моделирование воспаления брюшной полости данным методом не всегда дает положительный результат [94].

Согласно методике А.А. Глухова [38], лабораторным животным в брюшную полость через катетеры вводится аутокровь в общем объеме 7 – 10,0 мл/кг массы тела экспериментального животного с последующим через 24 час. введением комбинированной взвеси микроорганизмов: стафилококков, кишечной палочки, сине-зеленого гноя и пептококков в равных соотношениях.

Существует также способ моделирования перитонита с механическим повреждением желудочно-кишечного тракта с нарушением его целостности. Так, Ф.А. Исмагилов [57] для моделирования перитонита предложил капсулу, состоящую из однородного твердого вещества, тающего при температуре тела - лед. Капсула вводилась в выбранный отдел кишечника через зонд. Внутри капсулы находился свернутый эластичный обоюдоострый стержень из нихрома. Под действием температуры тела капсула тает, стержень выпрямляется и повреждает стенку кишки [57].

Разработана модель распространенного гнойного перитонита, заключающаяся в крестообразном рассечении передней стенки краниальной части двенадцатиперстной кишки у экспериментальных животных (собак) [15]. Предложенная методика трудновоспроизводима, влияет на эмоциональное

состояние экспериментальных животных, длительность развития перитонита (до 30 суток) не позволяет осуществлять своевременное антибактериальное лечение.

Предложен особый способ для моделирования перитонита у крыс. Для этого под наркозом выполняют лапаротомию, в рану выводят слепую кишку. Затем осуществляют перфорацию в бессосудистой зоне купола слепой кишки в 6-8 местах иглой для инъекций (G18) на различных сторонах кишки. После этого производят резекцию сальника. Рана послойно ушивается. Перфорацию осуществляют на различных сторонах кишки. Перфорированную часть укладывают на петли тонкой кишки по центру раны. В брюшной полости во время операции скапливается до 1,0 мл крови, которую не удаляют. Лапаротомную рану ушивают послойно наглухо. В послеоперационном периоде животное получает обычное питание. Впервые сутки после операции животное остается активным с сохраненным аппетитом. На вторые сутки животное становится заторможенным и малоподвижным, еда практически не употребляется, проявляют выраженную жажду. На третьи сутки животные становятся вялыми, малоподвижными, еду не употребляют и характерной более выраженной жаждой. При выполнении на третьи сутки от первой операции релапаротомии в брюшной полости выявляется мутный экссудат во всех отделах. На слепой кишке обнаруживается налет фибрина, брюшина выглядит тусклой, сосуды расширены и гиперемированы, петли тонкой кишки раздуты, перистальтика значительно снижена.

Этот способ обеспечивает адекватное воспроизведение модели и простоту исполнения. Его преимуществом является постепенное развитие перитонита за счет медленного постоянного поступления содержимого кишечника в брюшную полость, что позволяет избежать развития инфекционно-токсического шока, а также простота выполнения операции, не требующая дополнительных технических приспособлений для предотвращения закупорки перфорации [98].

Известен также способ моделирования перитонита, связанный с повреждением кишечника, при котором после лапаротомии, в слепой кишке производят перфорацию. Кишку обертывают бумагой, пропитанной эпоксидной

смолой, для предотвращения подпаивания сальника к перфорации [88]. Недостатком метода является то, что при данном способе развивается спаечный процесс в брюшной полости, который приводит к ограничению зоны воспаления.

Известна и методика моделирования перитонита, при которой у белых лабораторных крыс после лапаротомии перфорируют в бессосудистой зоне купол слепой кишки иглой для инъекций. К этому отверстию подшивают в трех точках крученой синтетической нитью на атравматичной игле полиэтиленовую пленку, тем самым обеспечивая постепенное развитие воспалительного процесса за счет медленного постоянного поступления кишечного содержимого в брюшную полость. Закупорку места перфорации слепой кишки сальником или тонкокишечными петлями предотвращает полиэтиленовая пленка, фиксированная швами к дефекту кишки [117]. Недостатком данного метода является техническая сложность выполнения операции.

Пятая группа экспериментальных моделей перитонита основана на введении в брюшную полость взвеси кала других животных [95, 109]. Так, предложен способ моделирования перитонита путем введения взвеси кала в растворе новокаина в течение 3 ч из расчета 2,0 - 2,5 мл/кг веса животного [70]. Данный метод имеет недостатки: длительность проведения манипуляции и как следствие стрессовая ситуация для животных. Другой метод моделирования калового перитонита заключался в непосредственном введении каловой взвеси интактных животных в брюшную полость опытных крыс [74]. Однако наиболее распространенным способом моделирования перитонита у крыс является его воспроизведение путем пункционного внутрибрюшинного введения каловой взвеси [89]. Основным недостатком данного способа является то, что он непригоден для проведения ряда специфических, например иммунологических, исследований, в частности, для определения отдельных бактериальных антигенов, для чего необходима предварительная идентификация бактериальной флоры с последующим подбором специфических сывороток. Состав каловой взвеси нестабилен и в значительной степени зависит от особенностей кормления животных. Кроме того, после

введения каловой взвеси животные погибают в течение суток вследствие острого перитонеального сепсиса.

Отрицательными моментами имеющихся методик моделирования перитонита путем использования оперативного доступа к органам брюшной полости, кроме возникновения у лабораторных крыс инфекционного процесса, являющегося конечной задачей эксперимента, является причинение животному операционной травмы, что изменяет регистрируемые в эксперименте показатели и, тем самым, снижает чистоту эксперимента и достоверность полученных выводов.

В связи с этим разработана оптимальная модель перитонита, в которой отсутствует нанесение животному операционной травмы и, вместе с тем, наиболее приближенная к реальным клиническим условиям, все еще остается актуальной задачей при доклинической оценке новых антибактериальных препаратов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика материалов исследования

В период с января 2008 г. по декабрь 2012 г. проводилось клиническое обследование пациентов с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом, находившихся в отделениях экстренной, плановой и гнойной хирургии городской клинической больницы № 2 им. Ф.К. Граля г. Перми (главный врач – В.Н. Грязнов). Клинические исследования проведены у 244 пациентов в возрасте от 16 до 89 лет (таб. 2.1), из абдоминальных экссудатов которых в диагностическом титре выделены микроорганизмы родов *Escherichia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, а также бактерии родов *Klebsiella*, *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosae* в различных титрах (рис. 2.1).

Таблица 2.1

Распределение больных абдоминальными инфекциями по полу и возрасту (острый аппендицит, острый холецистит, острый панкреатит, количество-244)

Пол	Возраст, лет							ВСЕГО
	16-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	>80	
Женский	16	18	28	18	21	14	2	117
Мужской	18	19	31	20	22	15	2	127
ВСЕГО	34	37	59	38	43	29	4	244

В 2013 – 2014гг. исследован комплекс низкомолекулярных пептидов, продуцируемых лейкоцитами человека в процессе интерферогенеза, антибактериальная активность которого, в том числе, в отношении микрофлоры, встречающейся при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите, была установлена в рамках настоящего исследования. Препарат пептидного комплекса получен в Отделении интерферона филиала ФГУП МЗ РФ НПО «Микроген» «Пермское НПО Биомед».

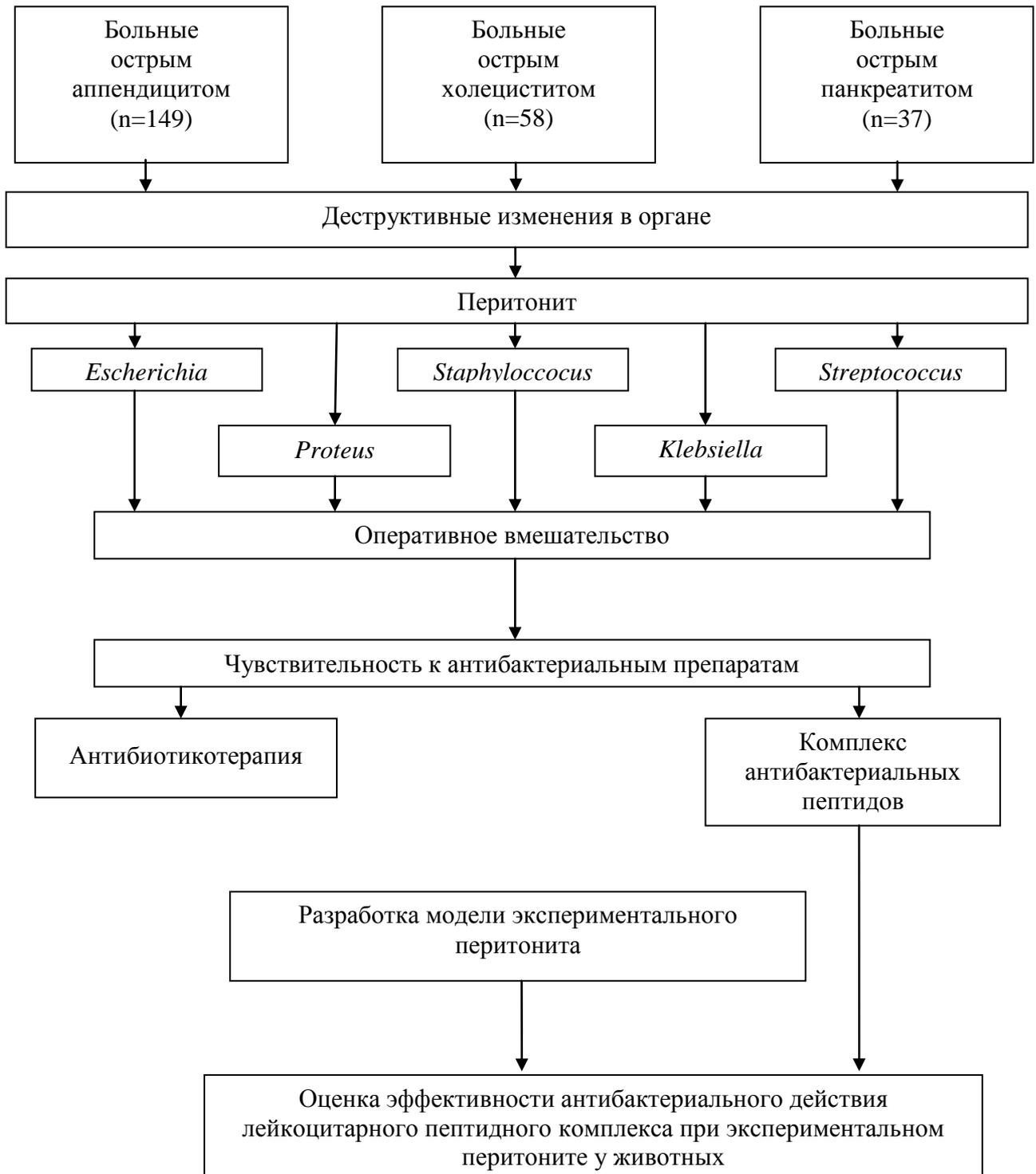


Рис. 2.1. Дизайн исследования

Тестируемый пептидный комплекс обладал следующими характеристиками: молекулярная масса входящих в его состав пептидов от 1044 до 1673. Да, содержание хлоридов в изучаемом образце – 0,9%, содержание белка в препарате (по методу Лоури) составлял 0,94 мг/мл

2.2. Основные методы исследования

Находящимся под наблюдением больным проводили изучение анамнеза и клинико-лабораторное обследование. При этом обращали внимание на жалобы больного, характер начала заболевания, регистрировали сроки поступления больных в стационар от начала заболевания.

При проведении клинического обследования учитывали длительность лихорадочного периода, выраженность симптомов интоксикации.

Исходя из формулировки клинического диагноза, все больные были разделены на три группы: первую составили пациенты с острым аппендицитом, вторую – с острым панкреатитом, третью – с острым холециститом.

Основными клиническими и лабораторными методами при обследовании больных были:

1. Изучение анамнеза и результатов объективного обследования.
2. Изучение динамики показателей периферической крови проводили с подсчётом гемоглобина (г/л), эритроцитов ($\times 10^{12}$ /л), лейкоцитов ($\times 10^9$ / л), определением лейкоформулы капиллярной крови (%) и скорости оседания эритроцитов СОЭ (мм/ч).
3. Определение биохимических показателей сыворотки кров: исследование концентрации общего белка биуретовым методом(г/л), активности ферментов АСАТ, АЛАТ и амилазы, а также изучение концентрации креатинина по цветной реакции Яффе [68].
4. Изучение абдоминальных штаммов микроорганизмов, выделенных от больных, проводили следующей методикой: материал засекали на чашку Петри с 5% кровяным агаром, на среду Сабуро и сахарный бульон. Посев на чашку Петри с агаром производили методом "тампон-петля": тампоном проводили "дорожку" по диаметру чашки, затем другой стороной тампона в обратном направлении засекали еще одну "дорожку", параллельную первой. После этого материал рассекали по чашкам при помощи петли штрихами, перпендикулярными "дорожкам". Такой посев позволяет выделить микроорганизмы в виде отдельных колониобразующих единиц даже из ассоциации микроорганизмов.

Засеянные жидкие и плотные питательные среды термостатировали при 37 °С в течение 24 час. При обнаружении роста производили отсев отдельных колоний на селективные среды с целью их идентификации. При отсутствии роста в первые сутки посева оставляли в термостате, ежедневно просматривали и при визуальном обнаружении роста также производили соответствующие отсева. Констатацию отсутствия роста проводили через 5 суток термостатирования.

В качестве диагностического титра во внимание принимали $1 \cdot 10^5$ колониеобразующих единиц в 1,0 мл экссудата для микроорганизмов вида *Escherichia coli* и грамположительных кокков. Высев микроорганизмов родов *Klebsiella* и *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosae* принимали за диагностический при любой степени бактеремии в виду их высокой патогенности.

Колонии, выросшие на плотных питательных средах, пересеивали в пробирки со скошенным агаром. Выделенную чистую культуру идентифицировали микроскопией мазка, окрашенного по Грамму, и изучением культуральных свойств. Исследование биохимических свойств возбудителя проводили, используя стандартные биохимические тесты [93].

Антибактериальное действие комплекса низкомолекулярных пептидов в отношении тестируемых штаммов, выделенных у больных, определяли микрометодом серийных разведений [156]. Готовили серии двойных разведений низкомолекулярного катионного пептидного комплекса из лейкоцитов человека – в объеме 100 мкл, с активностью – 4000-8000 УЕ/мл против референтного штамма *Staphylococcus epidermidis* (то есть в разведении 1: 4000 регистрировалось антибактериальное действие пептидного комплекса) – в лунках микро-планшета для иммунологических реакций (Санкт-Петербургский завод медицинских полимеров), используя для разведения 100 мкл мясопептонного бульона с содержанием хлоридов (0,05 - 0,075%) [63, 140].

Суточные бульонные культуры микроорганизмов использовали в концентрациях $1 \cdot 10^6$ и $1 \cdot 10^9$ колониеобразующих единиц в 1,0 мл, что соответствовало их оптической плотности 0,0032 и 0,325, определяемой на приборе фотоэлектрическом фотометре КФК-3 при длине волны 540 нм [22]. Эти

условия соответствовали требованиям National Committee for Clinical Standards, 1993 (США), так как при определении минимальной подавляющей концентрации антибактериальных препаратов, обычно, используется концентрация 10^6 колониеобразующих единиц в 1,0 мл [99].

Бактериальные клетки вносили в лунки планшета в объеме 10 мкл и инкубировали в термостате в течение 18-24 часов при температуре 37°C , а затем проводили регистрацию результатов. Отсутствие роста в лунках планшета расценивали как проявление антибактериального действия катионного пептидного комплекса в отношении тестируемой культуры в соответствующем разведении препарата.

Идентификацию выделенных чистых культур *Staphylococcus aureus* проводили при помощи системы одноразового использования для дифференциации микроорганизмов рода *Staphylococcus* «ПБДС» (НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород).

Клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования были проведены в клинической лаборатории ГКБ № 2 им. Ф.К. Граля (зав. лабораторией – М.Н. Муц). Микробиологические исследования состава содержимого брюшной полости исследуемых пациентов проведены в бактериологической лаборатории ГБУЗ ПК ГКБ №7 (зав. лабораторией Н.С. Авдеева), морфологические и патофизиологические исследования у экспериментальных животных выполнены на базе ГБОУ ВПО им. академика Е.А. Вагнера (зав. ЦНИЛ – д.ф.н. Г.П. Вдовина). Оценка антибактериальной активности исследованных штаммов и эффективности АБПК выполнена в лаборатории биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (директор - чл.-корр. РАН, д.м.н., проф. В.А. Демаков).

2.3 Экспериментальная модель перитонита

С целью определения антибактериальной активности пептидного комплекса была разработана экспериментальная модель острого перитонита (рис. 2.2). В эксперименте использовано 96 животных – нелинейных белых крыс (самцов и

самок) четырехмесячного возраста, с массой тела 200-235г, содержащихся в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники-вивария (свободный доступ к пище и воде и 12-14-часовой световой день).

Животные получали типовой рацион вивария в соответствии с нормами, утвержденными приказом Минздрава СССР от 10 марта 1966 г. № 163 и Приказом Минздрава СССР от 10.10.83 № 1179 (п. 4.1).

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. N 755) и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. на базе ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Для заражения животных были использованы изолированные от пациентов культуры бактерий: *Escherichia coli* (10 штаммов) и *Staphylococcus aureus* (5 штаммов), выделенные из экссудатов больных абдоминальной инфекцией с диагнозом «перитонит», входящих в клиническую выборку, в концентрации 10^5 КОЕ/мл.

Идентификацию чистых культур *Escherichia coli* проводили с помощью системы одноразового использования для дифференциации микроорганизмов семейства энтеробактерий «ЭНТЕРОтест 24» (производство PLIVA-Lachema Diagnostica s.r.o., Чехия).

Идентификацию выделенных чистых культур *Staphylococcus aureus* проводили при помощи системы одноразового использования для дифференциации микроорганизмов рода стафилококков «ПБДС» (НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород).

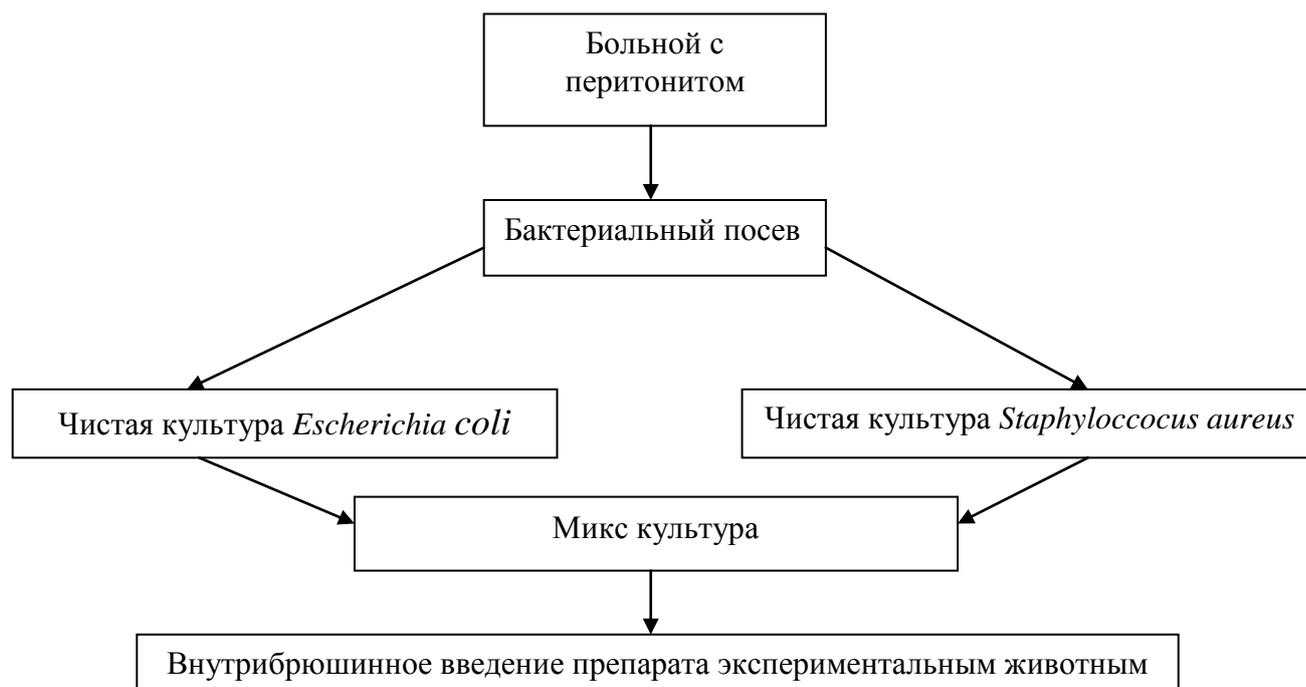


Рис. 2.2. Схема модели экспериментального перитонита

Моделирование экспериментального перитонита осуществляли путем интраперитонеального введения микробной суспензии.

Лабораторному животному однократно под легким эфирным наркозом интраперитонеально вводили суточную бульонную культуру *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, выделенных из экссудатов пациентов с клинической картиной острого перитонита, подтвержденного лабораторными исследованиями.

Культуры бактерий вводили внутриабдоминально в количестве от 20,0 мл на 1,0 кг веса экспериментального животного в концентрациях 10^6 КОЕ/мл, от 1 до 15×10^9 КОЕ/мл, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, определяемых нефелометрическим методом. Оптическую плотность микробной суспензии, соответствующую заданной концентрации, устанавливали эмпирически [22] на фотоэлектрокалориметре КФК-2 (зеленый светофильтр, длина волны 540 нм, кювета – 1,060 мм). Для каждого значения известной оптической плотности делали четыре посева по 1 мкл: суспензия в исходной концентрации и 3 ее десятикратных разведения. В результате проведенных исследований установлено, что оптическая плотность бактериальных суспензий *Escherichia coli* и

Staphylococcus aureus в мясопептонном бульоне, соответствующая концентрациям 1×10^9 КОЕ/мл и 4×10^9 КОЕ/мл, составляют 0,325-0,34 и 1,3-1,36 соответственно.

Ежедневное наблюдение за животными в условиях эксперимента включало регистрацию поведения, внешнего вида, физиологических функций. До начала и по окончании исследования у животных регистрировали показатели периферической крови рутинными лабораторными методами, определяя количество эритроцитов (10^{12} клеток в 1 мл) и лейкоцитов (10^9 клеток в 1 мл), а также концентрацию гемоглобина (г/л). Из нативной крови готовили мазок, фиксировали в смеси Никифорова, окрашивали по Романовскому-Гимза и микроскопировали под иммерсией (Micros, Austria, $\times 1000$). Определяли лейкоцитарную формулу, по относительному содержанию клеток в мазке и их абсолютные значения (абс. колич. = абс. колич. лейкоцитов \times относит. / 100).

По окончании исследований животных выводили из эксперимента путем перерезки спинного мозга под эфирным наркозом с соблюдением правил эвтаназии. Сразу после наступления биологической смерти животному, в асептических условиях, делали срединную лапаротомию и производили бактериальный посев содержимого брюшной полости.

Одновременно для гистологического исследования забирали печень, селезенку, петлю тонкой кишки и фрагмент передней брюшной стенки, площадью до 1 см^2 .

Оценка результатов лечения проводилась на основе клинически ревалентных критериев эффективности с объективизацией клинических данных при помощи лабораторных методов исследования.

Оценка бактериологического исследования экссудата брюшной полости заключалась в следующем: после выполнения лапаротомии у животных с ОЭП осуществляли забор в стерильные пробирки экссудата из брюшной полости. Забор экссудата (смывов) осуществляли в стерильные пробирки. Из взятого материала готовили разведения, содержащие 10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 микробных тел/мл. После этого осуществляли посев газонем на чашки с мясопептонным агаром. Результат оценивался через 18-20 час. при инкубации при 37°C . Исследование

проводили на 1, 3, 5, 7 сутки после инфицирования экспериментальных животных.

2.4 Методы статистического анализа

Для оценки клинико-лабораторных и бактериологических показателей применялись методы вариационной статистики. Определяли следующие величины: среднюю арифметическую (M), сравнению двух величин по t-тесту Стьюдента с определением вероятности различий – p .

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью персонального компьютера с использованием стандартного пакета прикладных программ для «Microsoft-Excel», версия 7,0 для Windows 2000, Biostat.

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

3.1. Анамнез и клинические проявления абдоминальных инфекций у наблюдаемых больных

В период с января 2008 г. по декабрь 2012 г. проводилось клиническое обследование пациентов с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом, находившихся в отделениях экстренной, плановой хирургии и гнойной хирургии ГКБ №2 им. Ф.К. Граля г. Перми (главный врач – В.Н. Грязнов). В клиническое исследование включено 244 пациента в возрасте от 16 до 89 лет, из абдоминальных экссудатов которых в диагностическом титре выделены микроорганизмы родов *Escherichia*, *Staphylococcus*, а также *Klebsiella*, *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosae* в различных титрах. Исходя из клинического диагноза, больных распределили следующим образом: острый аппендицит – 149, острый холецистит – 58, острый панкреатит – 37. Распределение в выборке больных по полу было следующим: 144 мужчины и 100 женщин.

В связи с совершенствованием методов диагностики, для оценки динамики изменений в лечении патологии для сравнительного анализа были взяты первый год исследований – 2008 и пятый год – 2012 г.

В I группу вошло 149 человек с диагнозом острый аппендицит: 68 женщин (45,64%), и 81 мужчина (54,36%). Критериями отбора больных в эту группу послужили данные анамнеза, свидетельствующие об остром начале заболевания: лихорадка, интоксикация, боль в правой подвздошной области, диспепсические расстройства (тошнота), сухость во рту и высеив культуры при проведении бактериологического исследования абдоминального выпота – микроорганизмов родов *Escherichia* и *Staphylococcus* в титре 10^5 , родов *Klebsiella*, *Proteus* и вида *Pseudomonas aeruginosae* – в любом титре; лейкоцитоз, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, ускоренная СОЭ периферической крови.

Гендерная характеристика пациентов за период 2008-2012гг. представлена в табл. 3.1 и на рис. 3.1.

Количество обследованных пациентов с диагнозом острый аппендицит за период 2008-2012 гг. с разделением их по гендерному признаку

Диагноз	Отчетный период, год					Итого пациентов
	2008	2009	2010	2011	2012	
Острый аппендицит	11 7м+4ж	56 28м+28ж	19 11м+8ж	25 14м+11ж	38 21м+17ж	149 81м-54,36%, 68ж- 45,64%

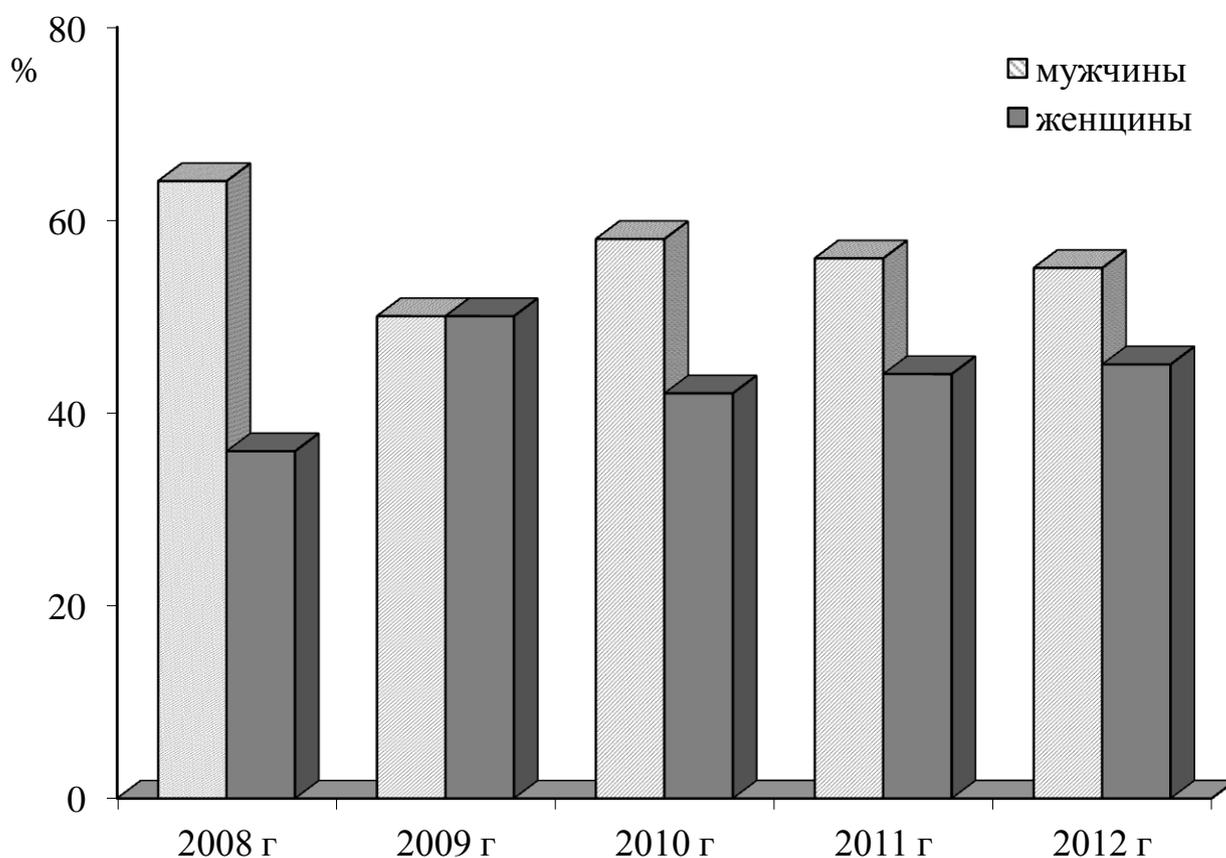


Рис. 3.1. Процентное соотношение больных острым аппендицитом по гендерному признаку

Анализ распределения пациентов по гендерному признаку показал, что большую часть больных при острым аппендиците составили мужчины (54,36%), доля женщин составила 45,64%. Результаты распределения больных острым аппендицитом по возрасту представлены по материалам 2008 и 2012гг. (рис 3.2.).

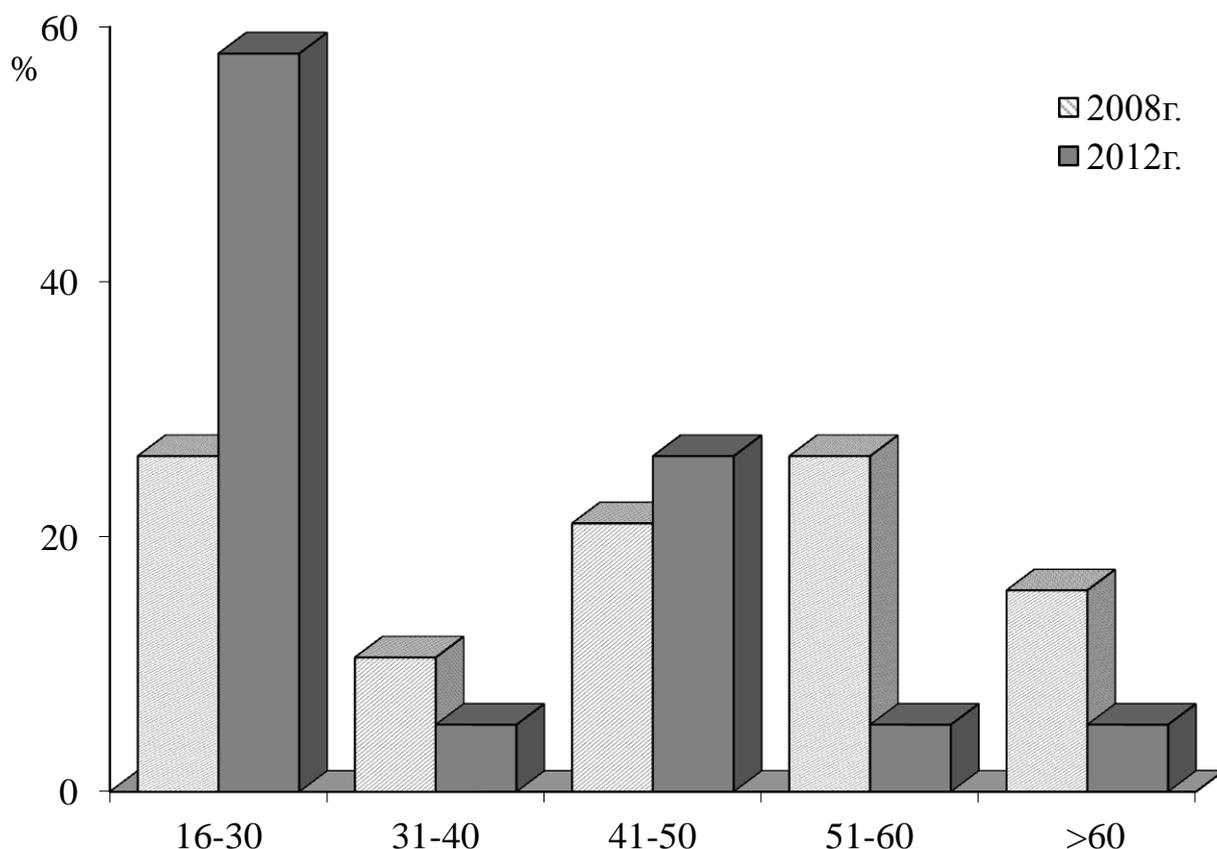


Рис.3.2. Распределение больных острым аппендицитом по возрасту - за 2008г. и 2012г. (n=49)

Острым аппендицитом подвержены молодые люди в возрасте от шестнадцати до тридцати пяти лет. По нашим исследованиям, самым частым возрастом для развития это заболевания является возраст от 16 до 30 лет (рис. 3.2). Признаки острого аппендицита у мужчин в юном возрасте отличаются от более взрослого человека [120, 175]. Полученные в наших исследованиях результаты согласуются с данными проф. Акжигитова Д.В. [1].

Необходимо отметить, что чем раньше диагностирован острый аппендицит и проведено оперативное вмешательство, тем эффективнее лечение, и, как правило, меньше шансов развития осложнений в виде перитонита [141]. Проведенный анализ срока госпитализации больных за 2008г. и 2012г. показал, что в первые сутки от острого начала заболевания в стационар поступило 32 пациента (65,30%) (рис. 3.3).

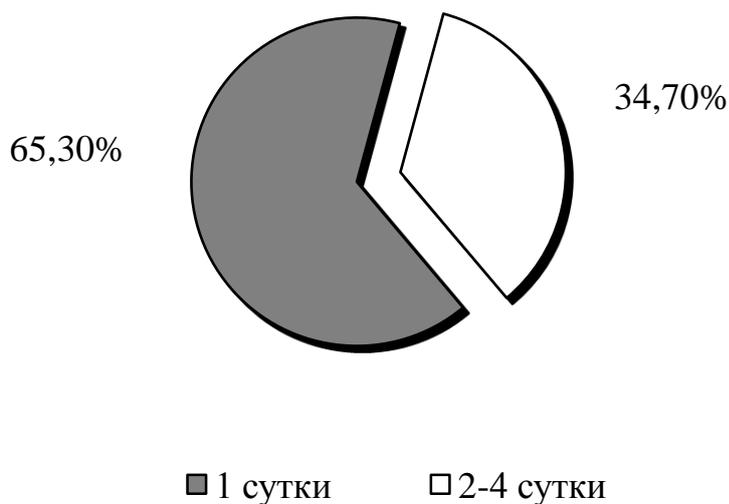


Рис. 3.3. Распределение больных острым аппендицитом по срокам поступления в стационар суммарно по годам 2008 г. и 2012 г. (n=49)

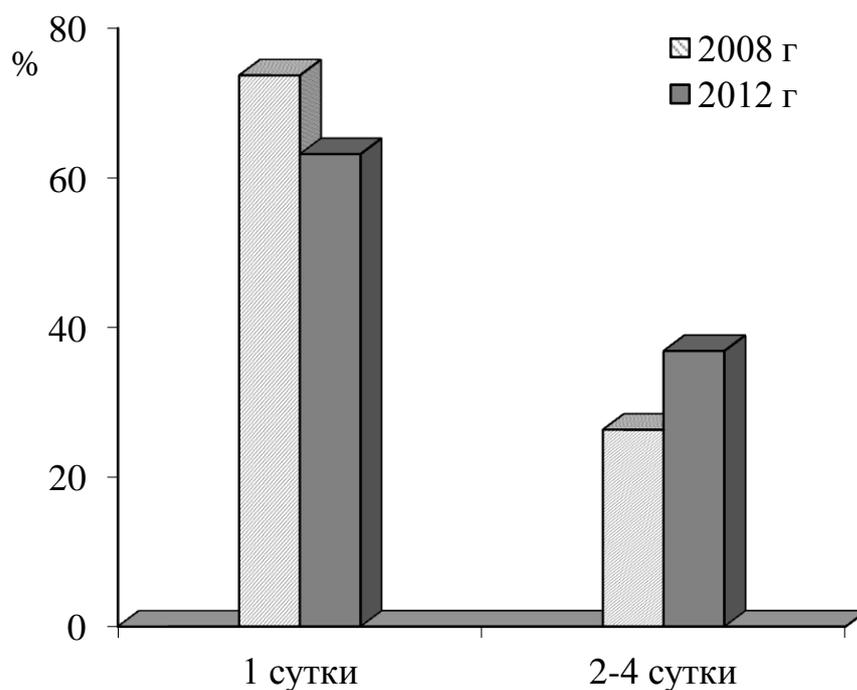


Рис. 3.4. Распределение больных острым аппендицитом по срокам поступления в стационар отдельно по годам (2008 г. - n=11, 2012 г. - n=38)

При анализе времени поступления больных с аппендицитом от начала заболевания в 2012 г. выявлено, что в первые сутки госпитализировано 63,16% пациентов, на 2-4 сутки – 36,84%, что в 1,7 раза меньше, по сравнению с первыми сутками. Снижение количества пациентов, обратившихся в первые сутки, с

72,73% в 2008 году до 63,16% в 2012 году свидетельствует о несвоевременности диагностики заболевания (рис. 3.4).

Во II группу вошли больные с диагнозом острый холецистит: 58 человек (23,77%). Критериями отбора больных в эту группу служили: жалобы на боли в правом подреберье; тошноту, рвоту; защитное напряжение мышц живота и положительные симптомы раздражения брюшины; повышение температуры тела до 38-39 °С., а также высеивание из выпота брюшной полости патогенных бактерий.

Распределение больных острым холециститом по гендерному признаку представлено в табл. 3.2 и на рис. 3.5.

Таблица 3.2.

Количество обследованных пациентов с острым холециститом в 2008-2012 гг. с разделением их по гендерному признаку

Диагноз	Отчетный период, год					Итого пациентов
	2008	2009	2010	2011	2012	
Острый холецистит	8 3м+5ж	15 8м+7ж	9 5м+4ж	11 6м+5ж	15 7м+8ж	58 29м-50%, 29ж- 50%

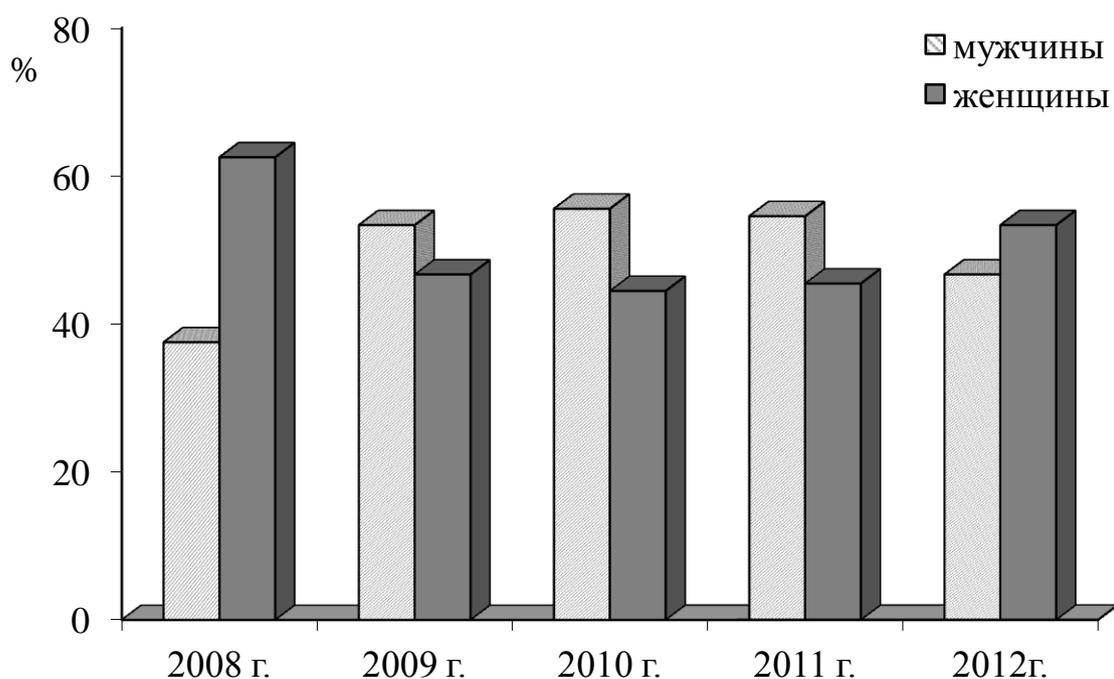


Рис. 3.5. Процентное соотношение больных острым холециститом по гендерному признаку

Группа больных острым холециститом характеризовалась приблизительно равным соотношением мужчин и женщин. Проведенный нами ретроспективный анализ показал, что в настоящее время частота острого холецистита у мужчин приблизилась к частоте данной патологии у женщин. Результаты наших исследований согласуются с результатами работ других отечественных авторов [21].

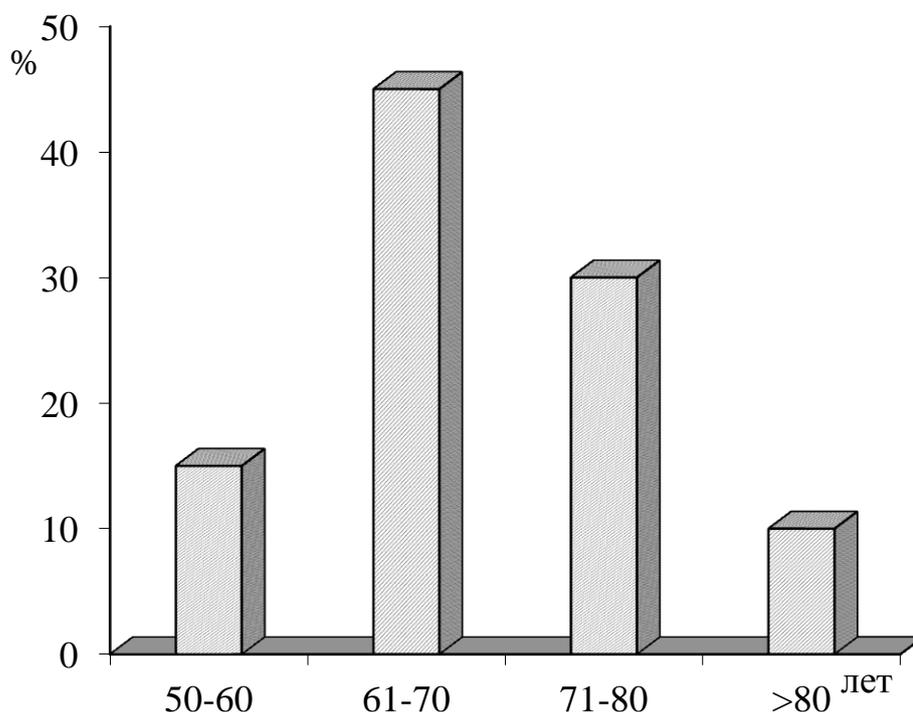


Рис. 3.6. Распределение больных острым холециститом по возрасту. Суммированы данные с 2008 по 2012 годы (n=58)

Распределение больных острым холециститом по возрасту представлено на рис. 3.6.

Анализ полученных результатов показал, что наиболее часто острый холецистит с осложнениями (гнойным выпотом) встречается в возрасте 61-70 лет, что согласуется с данными литературы [13].

Особое значение имеет о время поступления пациента в стационар (рис. 3.7).

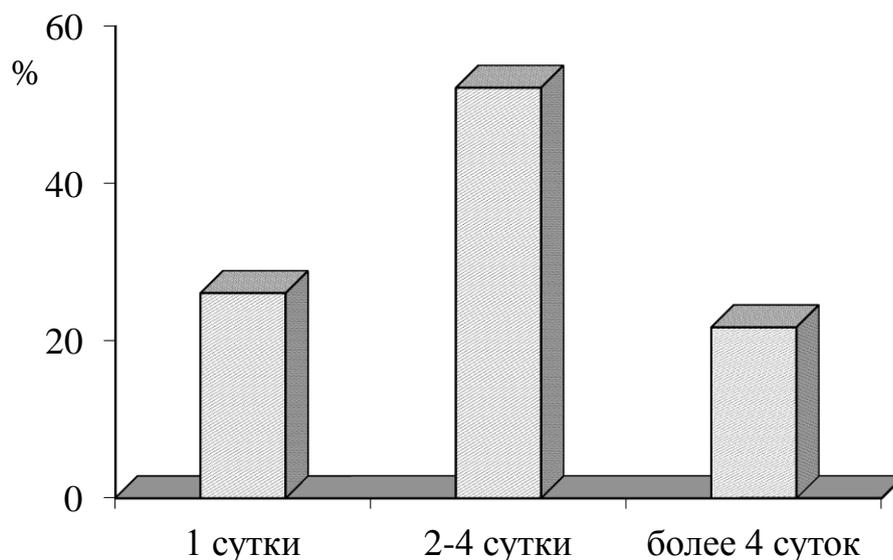


Рис. 3.7. Распределение больных острым холециститом по срокам поступления в стационар (n=23).
Суммированы данные за 2008 и 2012 годы

Анализ результатов, представленных на рис. 3.7 показал, что в первые сутки заболевания за помощью в стационар обратилось 26,1% пациентов, на 2-4 сутки – 52,2% пациентов. Это обусловлено тем, что периодически возникающие обострения у пациентов при желчнокаменной болезни имеют схожую клиническую картину с острым холециститом.

В третью группу вошли пациенты с диагнозом острый панкреатит, характеризующийся сочетанием клинических симптомов, характерных для поражения поджелудочной железы: сильными болями в верхней половине живота, в надчревной области, правом и левом подреберьях; иррадиация болей в поясницу, по типу опоясывающей боли, а также в загрудинную область и в левую ключицу. Часто боль локализовалась в области пупка, однако, она была наиболее выражена в проекции поджелудочной железы. Больные предъявляли также жалобы на выраженный метеоризм, задержку стула, рвоту. Обязательным условием для подтверждения развития перитонита являлось выделение патогенной культуры в посевах выпота из брюшной полости.

Результаты распределения пациентов с диагнозом острый панкреатит по гендерному признаку за период 2008-2012 гг. представлены в табл. 3.3.

**Количество обследованных больных с острым панкреатитом в 2008-2012 гг.
с разделением их по гендерному признаку**

Диагноз	Отчетный период, год					Итого пациентов
	2008	2009	2010	2011	2012	
Острый панкреа тит	4 3м+1ж	5 4м+1ж	7 5м+2ж	9 6м+3ж	12 9м+3ж	37 27м-72,97% 10ж- 23,02%

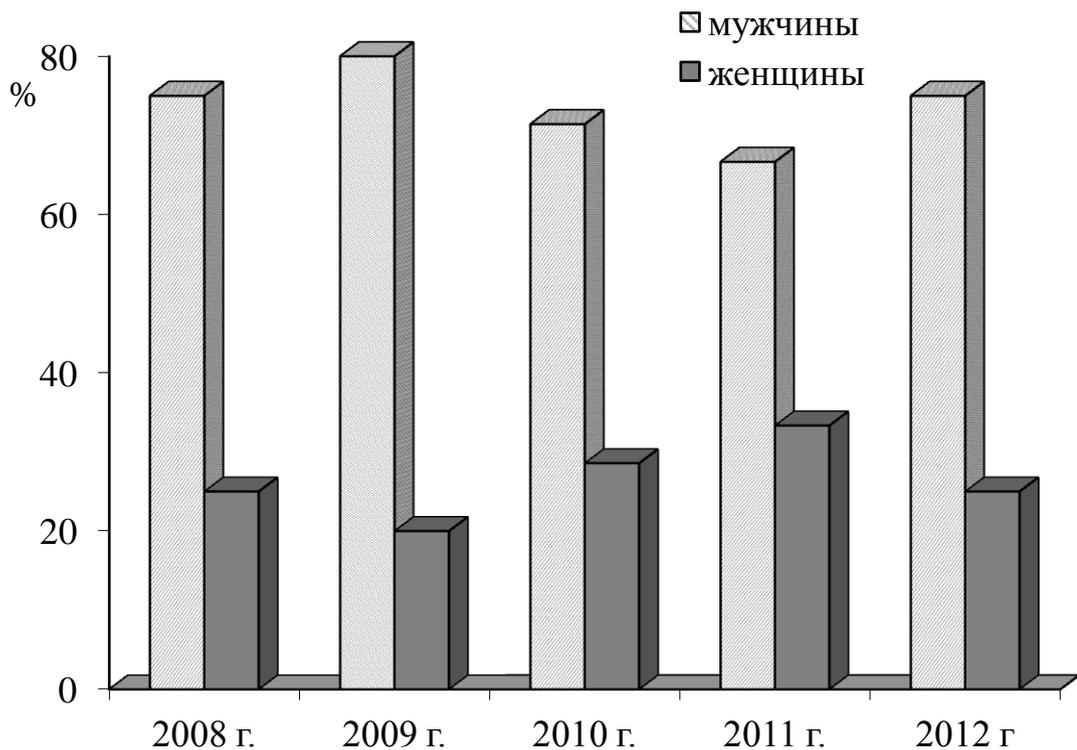


Рис. 3.8. Процентное соотношение больных острым панкреатитом по гендерному признаку

В данную группу вошли 37 пациентов: 10 женщин – 27,0% и 27 мужчины – 73,0%.

Распределение больных острым панкреатитом по гендерному признаку представлено на рис. 3.8. Среди больных острым панкреатитом мужчины составили 70,3%, женщины – 29,7%.

Распределение больных острым панкреатитом по возрасту представлено по материалам 2008 г. и 2012г. (рис. 3.9).

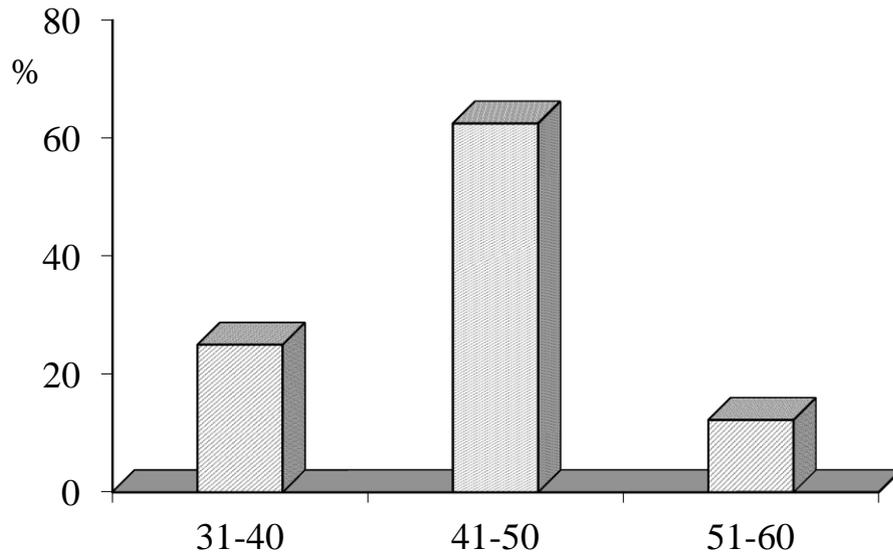


Рис. 3.9. Распределение больных острым панкреатитом по возрасту – за 2008 г. и 2012 г. (n=16)

Проблема острого панкреатита – одна из самых сложных в абдоминальной хирургии, в связи с высокой летальностью при остром деструктивном процессе в поджелудочной железе и большим числом неудовлетворительных результатов консервативного и хирургического лечения. Чаще острым панкреатитом болеют мужчины в возрасте от 41 до 50 лет. У женщин острый панкреатит встречается в 1,5-2,0 раза реже, чем у мужчин. В настоящее время наблюдается неуклонное увеличение данной патологии у мужчин, что, в первую очередь, связано с образом питания и употреблением алкоголя, судя по анамнезу заболевания [36] и согласуется с полученными нами результатами.

Сроки поступления больных в хирургические отделения варьировали в пределах от одних суток от начала заболевания до двух недель (рис. 3.10). Так как симптомы острого панкреатита схожи по характеру с симптомами обострения хронического панкреатита, большинство пациентов, принимая ранее назначенные медикаменты, рассчитывали, что последние принесут им облегчение и в стационар не обращались.

Следующим этапом исследования явился анализ особенностей клинического течения острого аппендицита, острого холецистита и острого панкреатита у наблюдаемых больных.

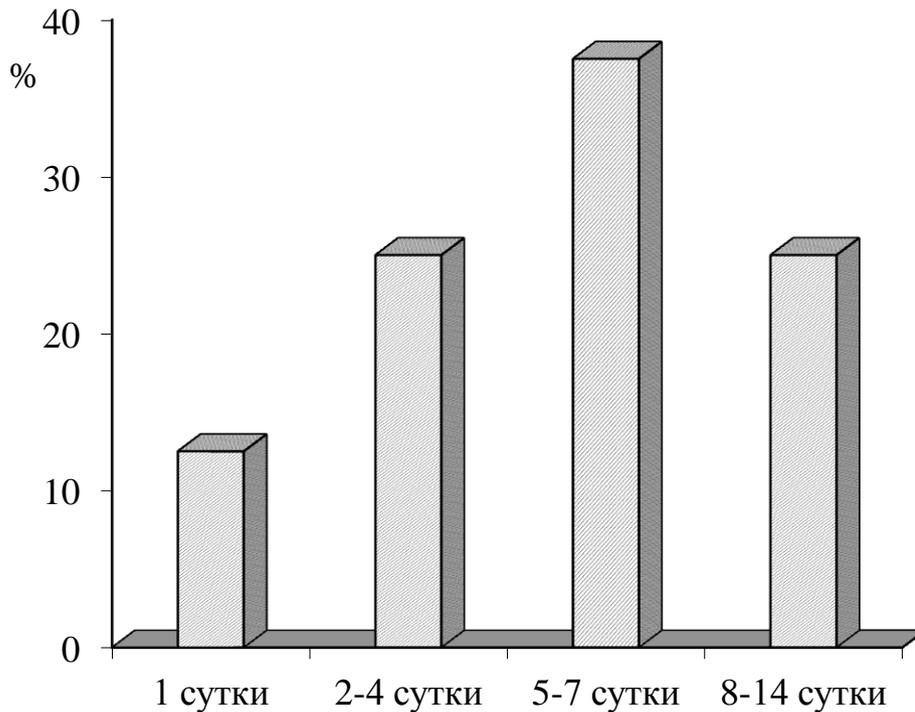


Рис 3.10. Суммарное распределение больных острым панкреатитом по срокам поступления в стационар в 2008 г. и 2012 г. (n=16)

Основные жалобы у больных острым аппендицитом представлены в табл. 3.4.

Таблица 3.4.

**Симптомы у больных острым аппендицитом
(2008 г. - n=11, 2012 г. - n=38)**

Симптом	Число больных	Доля от общего числа больных абдоминальной инфекцией, %
Боли в животе	49	100,0
Тошнота	31	63,26
Рвота	3	6,12
Повышение температуры	9	18,36
Слабость	26	53,06
Сухость во рту	11	22,44
Жидкий стул	6	12,24
Положительные местные симптомы	47	95,91

Как следует из таб. 3.4, у больных острым аппендицитом отмечались боли в животе – у 100% пациентов, тошнота – у 63,26%, слабость – у 53,06%, менее

часто – сухость во рту – 22,44%, повышение температуры – у 18,36%, жидкий стул – у 12,24% и рвота – у 6,12%. Из местных симптомов обращали на себя внимание положительные симптомы Ровзинга, Ситковского, Бортемье-Михельсона, Воскресенского, Щеткина-Блюмберга и др.

У больных острым холециститом ведущими в клинической картине были боли в животе – у 95,65% пациентов, тошнота – у 86,95%, сухость во рту – у 56,52%, слабость – у 47,82% и повышение температуры – у 17,39%. Рвота и желтушность кожных покровов и склер отмечали в 13,04% случаев (табл. 3.5).

Таблица 3.5.

**Симптомы у больных острым холециститом
(2008 г. - n=8, 2012 г. - n=15)**

Симптом	Число больных	Доля от общего числа больных абдоминальной инфекцией, %
Боли в животе	22	95,65
Тошнота	20	86,95
Рвота	3	13,04
Повышение температуры	4	17,39
Слабость	11	47,82
Сухость во рту	13	56,52
Положительные местные симптомы	23	100
Желтушность кожи и склер	3	13,04

Среди местных симптомов острого холецистита положительными были симптомы Ортнера, Кера, Мерфи, Мюсси-Георгиевского, Щеткина-Блюмберга и др.

В качестве преобладающих симптомов у больных с острым панкреатитом (табл.3.6) фигурировали боли в животе – у 100%, положительные местные симптомы – у 100%, слабость – у 46,6%, тошнота – у 42,0%, рвота – у 33,3% и сухость во рту – у 13,3%.

Из местных симптомов острого панкреатита анализировали симптомы Мондора, Грея-Тернера, Грюнвальда, Мейо-Робсона, Керте, Воскресенского,

Щеткина-Блюмберга и др., которые соответствовали симптоматики данного заболевания.

Таблица 3.6.

**Симптомы у больных с острым панкреатитом
(n=15), 2008г. - 2012г.**

Симптом	Число больных	Доля от общего числа больных абдоминальной инфекцией, %
Боли в животе	15	100,0
Положительные местные симптомы	15	100,0
Тошнота	6	40
Рвота	5	33,33
Слабость	7	46,66
Сухость во рту	2	13,33

Анализ клинико-anamнестических данных у наблюдаемых пациентов показал, что острым аппендицитом и острым холециститом приблизительно одинаково часто страдают и мужчины, и женщины. Острым панкреатитом мужчины болеют в два раза чаще, чем женщины. Острая форма аппендицита наиболее часто встречается в возрасте – 16-30 лет, острого холецистита – 60-70 лет, а острого панкреатита – 40-50 лет.

В клинике абдоминальных хирургических инфекций определяющими являются локализация болей и объективные симптомы заболевания.

3.2. Результаты лабораторных исследований

С целью лабораторной диагностики инфекций при абдоминальной патологии всем наблюдаемым пациентам было проведено клиническое лабораторное исследование, включающие клинический и биохимический анализы крови.

Известно, по результатам клинического и биохимического анализов крови судят о характере ответной реакции организма на воспаление. При изучении общего анализа крови у исследуемых пациентов мы обращали пристальное внимание на ускорение СОЭ, наличие лейкоцитоза периферической крови и сдвига лейкоцитарной формулы влево, а также на уровень гемоглобина.

При изучении лейкоцитоза периферической крови пациентов за верхнюю границу нормального количества лейкоцитов принимали показатель от $9,0 \cdot 10^9 / \text{л}$.

Согласно полученным результатам, в 2008 году лейкоцитоз до лечения выявлен у 81,81% (9 из 11) пациентов с острым аппендицитом, а после лечения лейкоцитоз сохранялся у 9,09% (1 из 11) пациентов. В абсолютных цифрах: содержание лейкоцитов до лечения равнялось $11,7 \pm 0,65 \times 10^9 / \text{л}$, после лечения – $6,9 \pm 0,42 \times 10^9 / \text{л}$ ($p < 0,05$). В 2012 году до лечения лейкоцитоз обнаруживался у 97,36% пациентов с острым аппендицитом (37 из 38), а после лечения он выявлен у 2 из 38 пациентов (рис. 3.11).

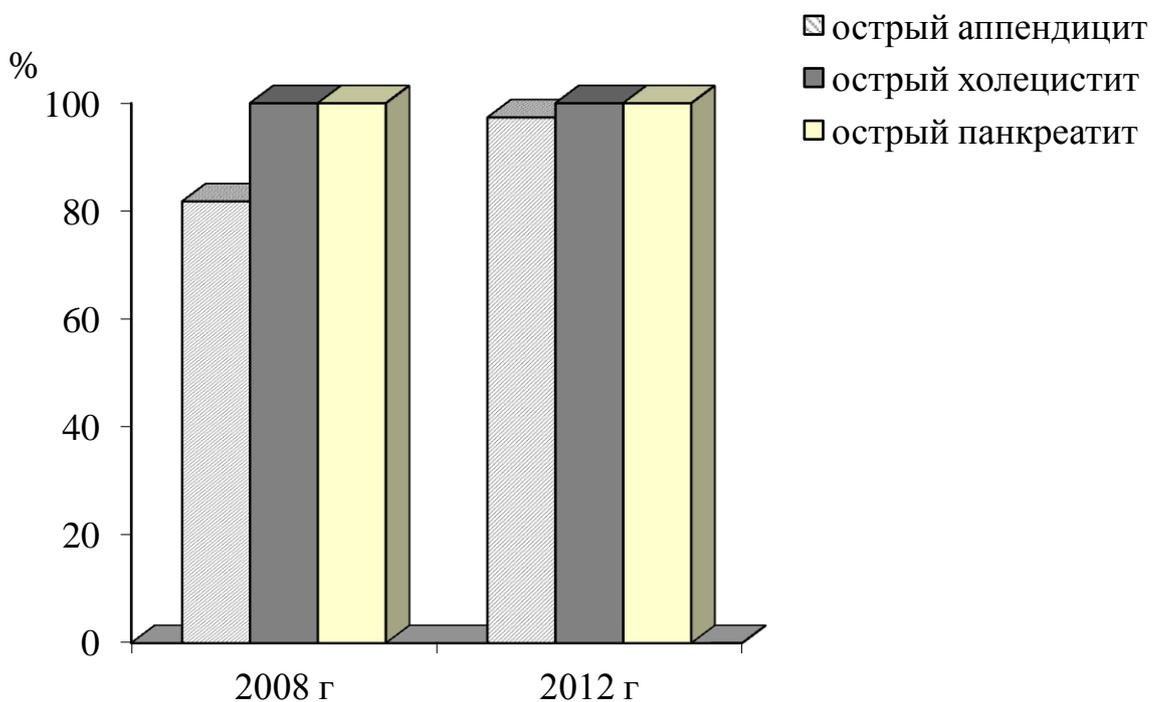


Рис. 3.11. Доля больных, имеющих лейкоцитоз периферической крови до лечения (по группам диагноза)

В 2008 и 2012 гг. в группах больных острым холециститом и острым панкреатитом лейкоцитоз до лечения был выявлен у 100% пациентов, после лечения лейкоцитоз не отмечался (содержание лейкоцитов было менее $8,0 \times 10^9 / \text{л}$).

За лейкоцитарный сдвиг принимали увеличение содержания палочкоядерных форм нейтрофилов выше 5 % – эта ситуация была выявлена во всех группах (рис 3.12-3.13), при этом, различия между группами были недостоверными.

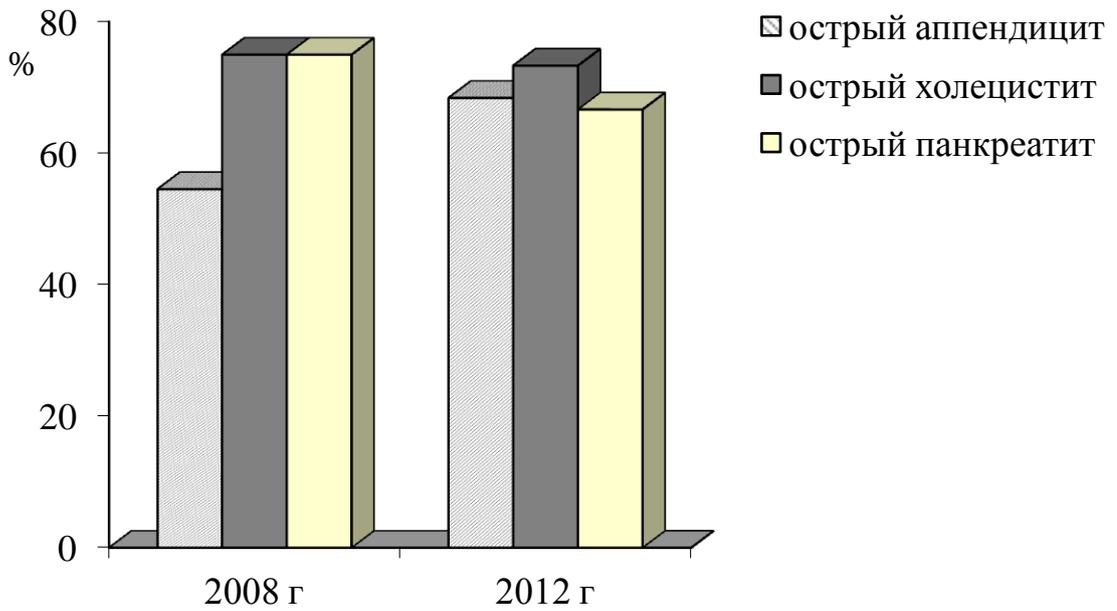


Рис. 3.12. Доля больных, имевших лейкоцитарный сдвиг в формуле влево (по группам диагноза). Раздельно по годам

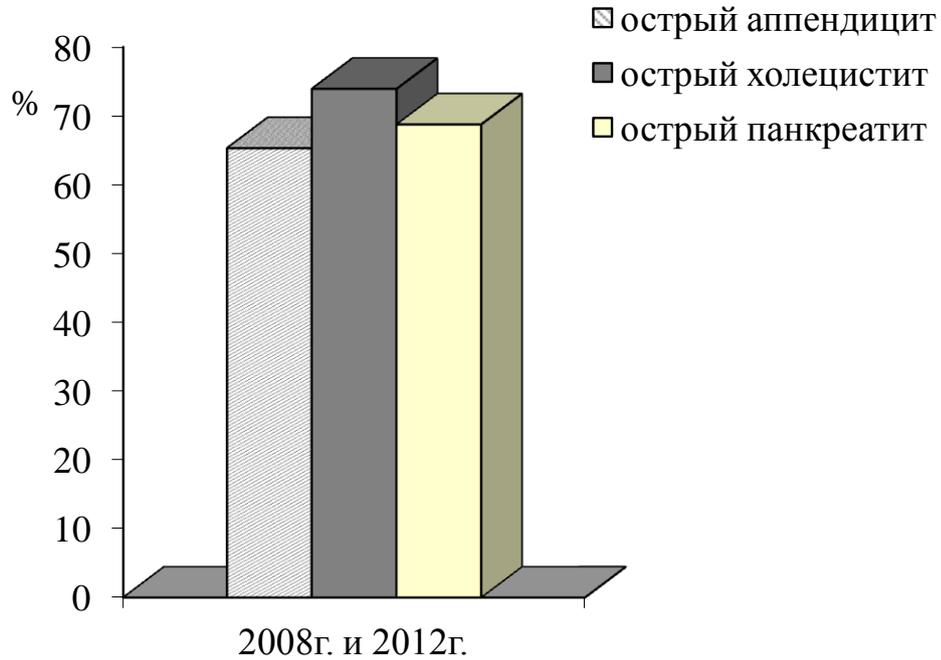


Рис. 3.13. Доля больных, имеющих лейкоцитарный сдвиг влево (по группам диагноза), суммарно

Доля пациентов, имевших увеличенную СОЭ

Показатели	2008 год		2012 год	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Острый аппендицит				
СОЭ > 20 мм/ч	18,18% (2 из 11)	63,63% (7из 11)	13,15% (5 из 38)	60,52% (23 из 38)
СОЭ > 30 мм/ч	45,45% (5 из 11)	27,27% (3из 11)	55,26% (21 из 38)	36,84% (14 из 38)
СОЭ > 40 мм/ч	36,36% (4 из 11)	9,09% (1из 11)	31,57% (12 из 38)	2,63 (1 из 38)
Острый холецистит				
СОЭ > 20 мм/ч	12,5% (1 из 8)	62,5% (5 из 8)	20,00% (3 из 15)	60,00% (9 из 15)
СОЭ > 30 мм/ч	62,5% (5 из 8)	25,0% (2 из 8)	46,66% (7 из 15)	20,00% (3 из 15)
СОЭ > 40 мм/ч	25,0% (2 из 8)	12,5% (1 из 8)	33,33% (5 из 15)	20,00% (3 из 15)
Острый панкреатит				
СОЭ > 20 мм/ч	0,0% (0 из 4)	50,0% (2 из 4)	8,33% (1 из 12)	75,00 (9 из 12)
СОЭ > 30 мм/ч	50,0% (2 из 4)	50,0% (2 из 4)	33,33% (4 из 12)	16,60% (2 из 12)
СОЭ > 40 мм/ч	50,0% (2 из 4)	0,0% (0 из 4)	58,33% (7 из 12)	8,33% (1 из 12)

Как следует из таблицы 3.7., у больных с острым аппендицитом данный показатель (увеличение СОЭ до 30 мм/ч) встречалась в 45,45% случаях в 2008 г. и в 55,26% – в 2012 г., при остром холецистите – 62,5% случаев в 2008 г. и в 46,66% – в 2012 г., при остром панкреатите – 50,0% случаев в 2008г. и в 33,33% – в 2012 г. Значительным увеличением СОЭ рассматривается при ее значениях от 40-50 мм/час. В наших наблюдениях эти показатели встречались у больных с острым аппендицитом в 36,36% случаев в 2008 г. и 31,57% – в 2012 г., с острым холециститом – 25,0% в 2008 г. и в 33,33% – в 2012 г., а с острым панкреатитом, соответственно, – 50,0% в 2008 г. и 58,33% – в 2012 г.

Относительно уровня эритроцитов и гемоглобина в периферической крови больных нами не было установлено никакой определенной зависимости (табл. 3.8).

**Показатели уровня гемоглобина и эритроцитов
(по группам диагноза)**

Показатели	2008 год		2012 год	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Острый аппендицит				
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,61 \pm 0,63	4,50 \pm 0,59	4,59 \pm 0,58	4,57 \pm 0,65
Гемоглобин, г/л	133,64 \pm 11,82	129,95 \pm 14,57	134,08 \pm 14,23	133,27 \pm 13,85
Острый холецистит				
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,52 \pm 0,37	4,47 \pm 0,41	4,49 \pm 0,62	4,31 \pm 0,73
Гемоглобин, г/л	138,2 \pm 10,21	135,72 \pm 14,57	128,9 \pm 16,47	127,1 \pm 17,91
Острый панкреатит				
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,45 \pm 0,46	4,41 \pm 0,68	4,45 \pm 0,58	4,42 \pm 0,73
Гемоглобин, г/л	132,2 \pm 13,27	131,95 \pm 12,98	132,45 \pm 13,49	130,88 \pm 12,75

Острые хирургические заболевания не оказывают выраженного влияние на уровень общего белка. При анализе сравниваемых групп пациентов средние величины уровня общего белка сыворотки крови были, практически, одинаковы и соответствовали нормальным показателям (табл.3.9).

В сыворотке крови у наблюдаемых нами больных при остром холецистите отмечалось повышение креатинина – до 122,6 \pm 12,62 мкмоль/л, – до АлАТ 56,4 \pm 13,93 Ед/л. и билирубина – до 26,6 \pm 6,15 мкмоль/л. При остром панкреатите наблюдалась повышение фермента поджелудочной железы – амилазы до 213,5 \pm 39,47 Ед/л.и глюкозы – до 6,9 \pm 2,14 ммоль/л. У больных с острым аппендицитом не выявлено выраженных изменений биохимических показателей.

Таким образом, общая реакция организма на воспаление у больных характеризуется, прежде всего, изменениями в периферической крови (лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, повышение СОЭ), а также изменениями биохимических показателей (амилаза, креатинин, АлАТ).

Сравнительный анализ биохимических показателей крови при различной патологии за 2008 и 2012гг.

Показатели	Острый аппендицит		Острый холецистит		Острый панкреатит	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
АсАТ, Ед/л	34,6±7,45	32,1±5,17	46,9±16,35	30,3±4,56	29,4±4,83	28,7±2,57
АлАТ, Ед/л	23,9±4,65	22,8±4,12	56,4±13,93	23,9±5,20*	24,7±5,62	21,49±3,62
Белок, г/л	68,5±4,55	67,8±3,20	68,2±2,69	68,1±3,42	65,3±5,49	66,5±4,43
Глюкоза, ммоль/л	5,1±0,45	4,9±0,54	6,6±1,10	5,2±0,26	6,9±2,14	4,9±1,25
Билирубин, мкмоль/л	10,4±5,75	9,7±4,18	26,6±6,15	12,6±3,56*	12,7±4,34	9,9±3,87*
Амилаза, Ед/л	93,9±10,92	79,8±7,50*	133,5±21,43	106,7±16,21*	213,5±39,47	92,7±26,83*
Креатинин, мкмоль/л	87,0±6,48	76,5±4,56*	122,6±12,62	95,1±14,74*	93,9±11,62	87,3±9,72

Примечание: * различие достоверно ($p < 0,05$)

3.3. Данные инструментальных исследований

Для повышения информативности, снижения количества диагностических ошибок и уменьшения количества необоснованных оперативных вмешательств некоторым пациентам на госпитальном этапе выполнялись экстренные ультразвуковые исследования (УЗИ) и диагностическая лапароскопия [85, 168].

УЗИ желчного пузыря позволяет оценить размеры органа, обнаружить утолщение стенок желчного пузыря (более 3 мм), его деформацию, инфильтрацию околопузырной ткани, наличие перетяжек, застойной желчи, холестероза, камней, опухолей в желчном пузыре (табл.3.10).

Таблица 3.10

Результаты ультразвукового обследования желчного пузыря у больных острым холециститом (n=58)

Выявленные патологические изменения	(n=58)	
	Абс.	%
Утолщение стенки желчного пузыря	57	98,27
Деформация желчного пузыря	49	84,48
Инфильтрация околопузырной ткани	51	87,93
Застойной желчи	41	70,68
Наличие конкрементов	47	81,03

Ультразвуковое исследование желчного пузыря – это одно из самых информативных и простых методов оценки состояния желчевыводящей системы человека. Данное исследование обладает важным преимуществом перед другими методами диагностики, в частности, при нем нет лучевой нагрузки на пациента, как при рентгенологических методах. Представленные результаты говорят о наличии холецистита у обследованных нами пациентов. Так, общее утолщение стенок желчного пузыря, обнаружено в 98,3% случаях, а его деформация – у 84,5% пациентов.

Информативность УЗИ при остром панкреатите составила 93,32%. Компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ) применены для уточнения диагноза или распространенности патологического процесса у 9 (15,5%) больных острым холециститом и у 19 (51,4%) больных острым панкреатитом. Информативность КТ и МРТ была практически равной 100%.

При изученных патологиях в период 2008 – 2012 гг. наблюдаемым пациентам для уточнения диагноза была проведена диагностическая лапароскопия (рис.3.14).

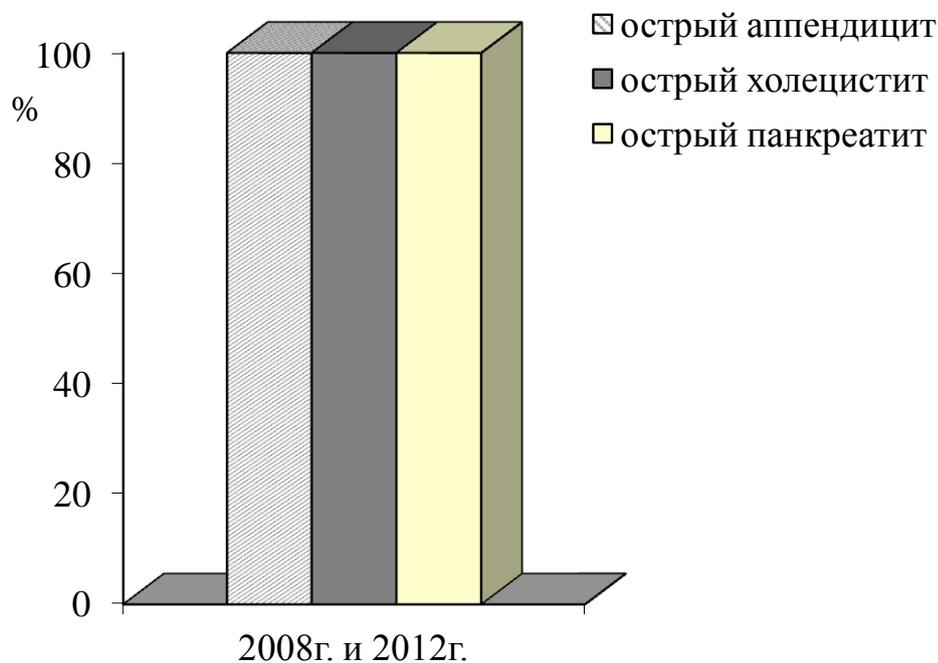


Рис. 3. 14. Результаты диагностической лапароскопии при абдоминальной хирургии (аппендицит n =28, холецистит n = 15, панкреатит n = 11)

Из представленных результатов следует, что информативность диагностической лапароскопии при абдоминальной патологии является абсолютной. Однако необходимо учитывать возможность возникновения осложнений при данном исследовании, так как лапароскопия является инвазивным методом исследования и при его проведении возможно возникновение самых разнообразных осложнений, что определяет необходимость строгой оценки целесообразности этой процедуры [82, 175].

Глава 4. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АБДОМИНАЛЬНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

4.1. Микробиологическая оценка экссудатов у наблюдаемых больных

Основным критерием наличия абдоминальной инфекции является положительный результат микробиологического исследования экссудатов [141]. В этой связи были проведены исследования 244 пациентов в возрасте от 16 до 89 лет, из абдоминальных экссудатов которых в диагностических титрах выделены микроорганизмы родов *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella* и *Proteus*, а также *Pseudomonas aeruginosae*.

Исходя из формулировок клинического диагноза, больные были распределены следующим образом: острый аппендицит – 149, острый холецистит – 58, острый панкреатит – 37 человек.



Рис. 4.1. Распределение больных острым аппендицитом по количеству выделенных микроорганизмов (n = 149)

Анализируя спектр выделяемой микрофлоры от наблюдаемых больных, нами была предпринята попытка установления взаимосвязи между нозологической формой заболевания и таксономической принадлежностью выделенных возбудителей.

На рис. 4.1 наглядно показана частота встречаемости микроорганизмов у пациентов. Монокультура выявлена в 53,02% случаев (79 пациентов). Среднее количество высеваемых микроорганизмов у одного больного достигало 1,67, из числа лиц, у которых выявлен рост микроорганизмов.

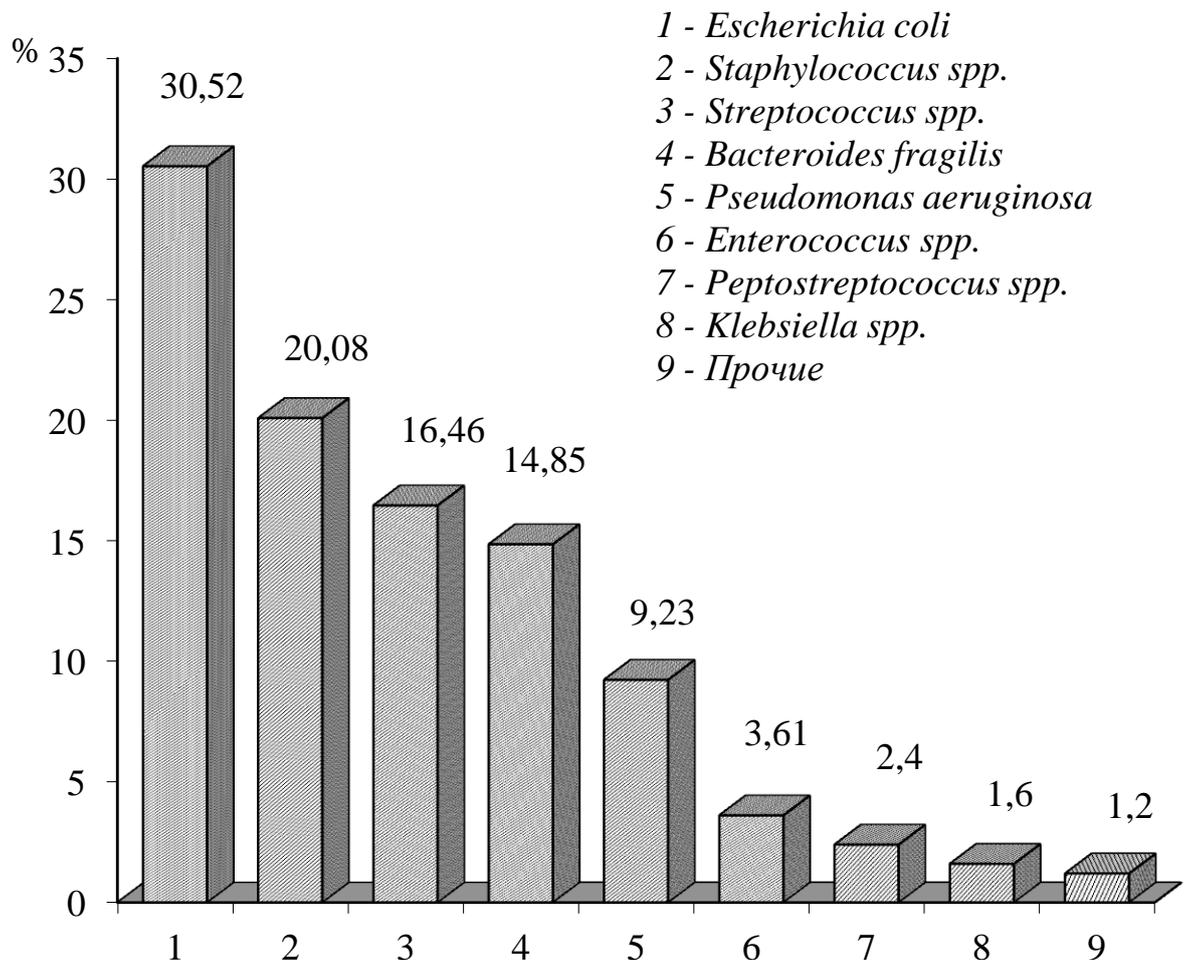


Рис. 4.2. Распределение микрофлоры при остром аппендиците (n = 249)

В процессе исследования микрофлоры пациентов при остром аппендиците было высеяно 249 штаммов различных бактерий. На рис. 4.2 показана таксономическая принадлежность штаммов, выделенных из посевов экссудатов при остром аппендиците. Они представлены, в основном, штаммами *E. coli* – 30,52%, *Staphylococcus* – 20,08%, *Streptococcus* – 16,46%, *B. fragilis* – 14,85%,

Pseudomonas aeruginosae – 9,23%, и др. Частота выявления смешанных инфекций составила – 46,98%.

Согласно данным литературы, в настоящее время еще не выработано твердого представления об этиологии и патогенезе острого аппендицита. Несомненно, важную роль в возникновении данной патологии играет вегетирующая в кишечнике микрофлора (рода *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pneumococcus*, анаэробы), причем ведущее место занимает *E. coli* [97, 124]. Полученные нами результаты согласуются с литературными данными, в которых существенную роль в развитии острого аппендицита отводят кишечной палочке. Причины внезапного превращения сапрофитной флоры в патогенную, как и сам механизм ее действия на слизистую оболочку аппендикса, остаются невыясненными.



Рис. 4.3. Распределение больных острым холециститом по количеству выделенных микроорганизмов (n = 58)

Диагноз острого холецистита был поставлен 58 пациентам, из них только у 29 выявлена монокультура (рис. 4.3). Частота выявления монокультуры составила 50,0%, смешанной инфекции – 50,0%. При остром холецистите было выделено

106 штаммов микроорганизмов. Среднее количество высеваемых культур на одного больного составляло 1,82.

На рис. 4.4 представлены результаты анализа микрофлоры при остром холецистите. Ведущее место среди возбудителей занимали микроорганизмы вида *Escherichia coli* (53,77%), *Streptococcus spp.* – (17,92%), *Staphylococcus spp.* – (16,98%), *Bacteroides fragilis* – (4,71%) и другие.

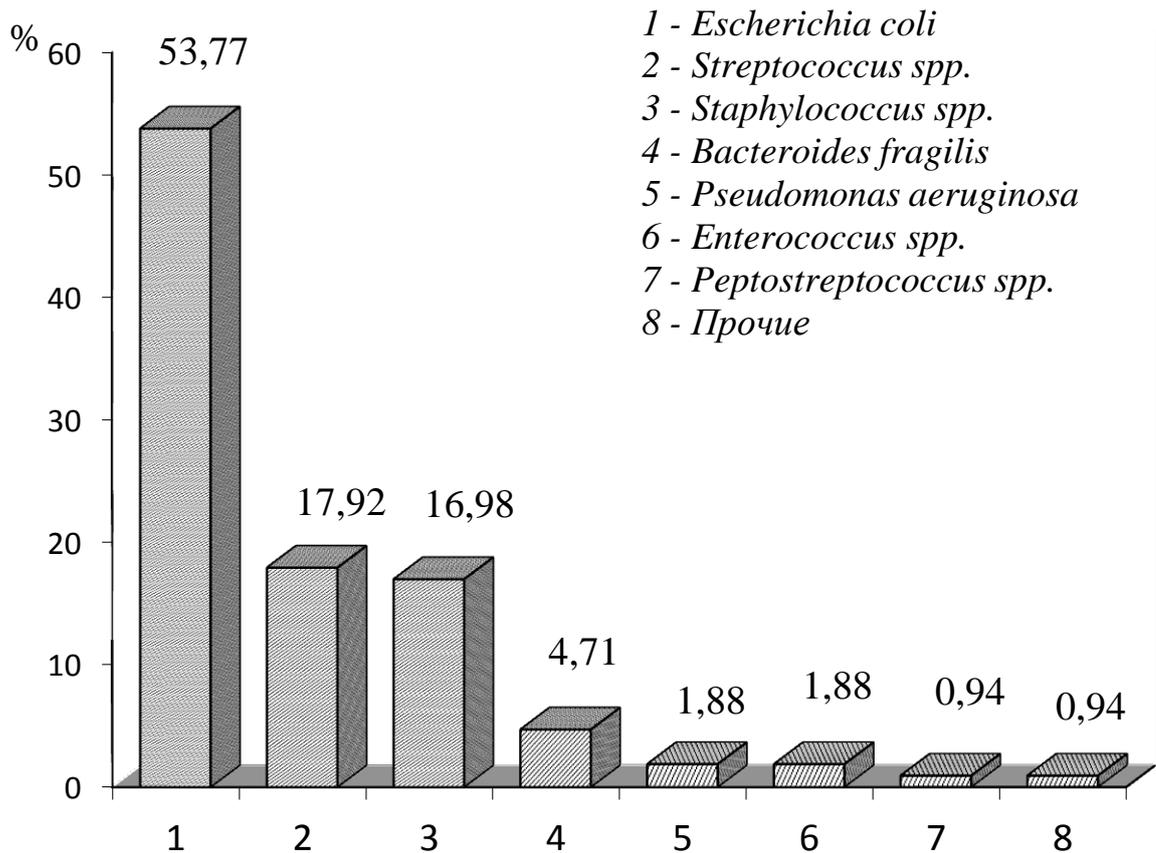


Рис. 4.4. Распределение микрофлоры при остром холецистите (n = 106)

При анализе распределения микрофлоры у больных острым панкреатитом было установлено, что среди 37 пациентов наблюдалось выделение монокультуры у 19, что составило 51,35% (рис. 4.5). Процент выделенной смешанной инфекции равнялся 48,65. При остром панкреатите было высеяно 63 штамма микроорганизмов. Среднее количество высеваемых культур на одного больного составляло 1,70.

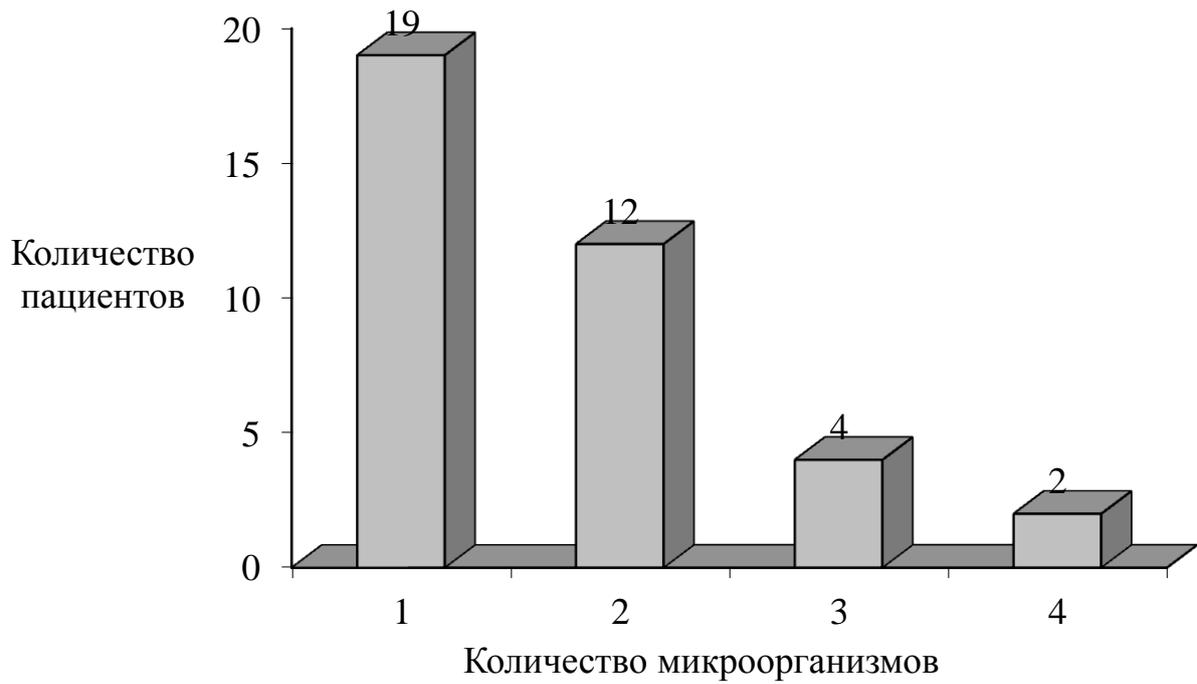


Рис. 4.5. Распределение больных острым панкреатитом по количеству выделенных микроорганизмов (n = 37)

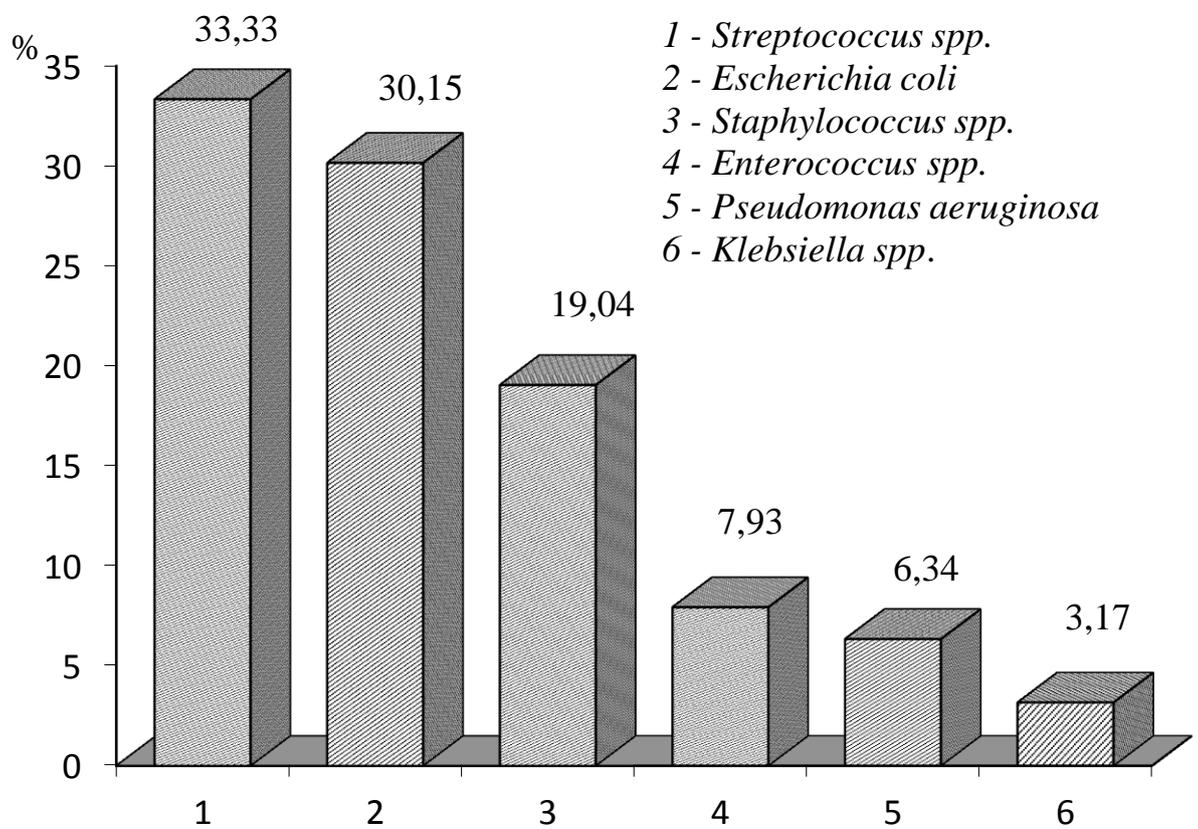


Рис. 4.6. Распределение микрофлоры при остром панкреатите (n= 63)

Выявлены следующие микроорганизмы: *Streptococcus spp.* – (33,33%), *E. coli* – (30,15%), *Staphylococcus spp.* – (19,04%) и др. (рис. 4.6).

Значение бактериального фактора в развитии воспалительного процесса у больных острым панкреатитом было показано многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями.

Таблица 4.1.

**Частота выявления микроорганизмов, %
(расчет из числа пациентов, у которых выявлен рост микроорганизмов)**

Диагноз	Частота выявления монокультуры, %	Частота выявления смешанной инфекции, %	Среднее количество высеваемых культур у одного больного
Острый аппендицит	53,02%	46,98%	1,67
Острый холецистит	50,0%	50,0%	1,82
Острый панкреатит	51,35%	48,65%	1,70

В патогенезе развития острого панкреатита важное значение имеют: микроорганизмы, находящиеся в экссудате; бактериемия; интоксикация бактериальными токсинами; как правило, инфекционный процесс вызывается, одним возбудителем-группой кишечной палочки [35, 101], а не полимикробной флорой, среди возбудителей отсутствуют анаэробные микроорганизмы, что согласуется с результатами наших исследований (табл. 4.1).

Проведен сравнительный анализ частоты выделения микроорганизмов у больных с острым течением воспалительного процесса при абдоминальной инфекции по различным нозологическим формам, из расчета числа пациентов, у которых выявлен рост микроорганизмов (табл. 4.2).

**Распределение микрофлоры по группам больных с острым течением
воспалительного процесса**

Микроорганизм	Острый аппендицит (n=249)		Острый холецистит (n=106)		Острый панкреатит, (n=63)		Общее количество микрофлоры (n=418)
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	%
<i>Escherichia coli</i>	76	30,52	57	53,77	19	30,15	36,36
<i>Staphylococcus spp.</i>	50	20,08	18	16,98	12	19,04	19,13
<i>Streptococcus spp.</i>	41	16,46	19	17,92	21	33,33	19,37
<i>Bacteroides fragilis</i>	37	14,85	5	4,71	0	0	10,04
<i>Pseudomonas Aeruginosae</i>	23	9,23	2	1,88	4	6,34	6,93
Итого	227	91,14	101	95,26	56	88,86	91,83

Результаты сравнительного анализа распределения микроорганизмов у групп больных с диагнозами острый аппендицит и острый холецистит показали, что этиологически значимым для данных заболеваний является *Escherichia coli* – 30,52% и 53,77 % соответственно. При остром течении панкреатита наиболее часто выделяли *Streptococcus spp.*– до 33,33%.

Таким образом, проведенный анализ показывает, что самым часто выделяемым из экссудатов больных абдоминальной инфекцией микроорганизмом остается *Escherichia coli*, ее доля в структуре абдоминальных микроорганизмов составляет не менее 36,36% [26]. Значимыми в этиологическом плане являются

также микроорганизмы родов *Streptococcus spp.* (19,37%) и *Staphylococcus* (19,13%).

4.2. Исследование чувствительности штаммов бактерий, изолированных из операционного поля пациентов с абдоминальной инфекцией, к традиционно применяемым антибиотикам

Устойчивость бактерий к антибиотикам – серьезное препятствие для использования их в терапевтических целях. Поэтому определение спектра чувствительности микроорганизмов является основой правильного применения противомикробных препаратов в медицине.

Для изучения чувствительности бактерий к противомикробным препаратам в настоящее время используют две основные группы методов: методы разведений и методы диффузии. Для клинических целей наиболее приемлемым считается диффузионный метод с использованием пропитанных антибиотиками дисков из фильтровальной бумаги, помещенных на поверхность зараженной среды в чашке Петри [105].

В нашем исследовании чувствительность клинических изолятов к антибактериальным препаратам была исследована дискодиффузионным методом на среде АГВ с применением стандартных бумажных дисков, пропитанных раствором антибиотика, и интерпретацией результатов в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Выбор антибактериальных препаратов, по отношению к которым определялась чувствительность микроорганизмов, был осуществлен в соответствии с рекомендациями [100]: в работе использовали диски импрегнированные амикацином, амоксиклавом, гентамицином, цефоперазон-сульбактом, цефотаксимом, цефтазидимом, ципрофлоксацином, ампициллином, линкомицином, эритромицином, ванкомицином, оксациллином, левомицетином и левофлоксацином.

С целью изучения изменения чувствительности штаммов при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите, осложненных перитонитом, была проанализирована чувствительность бактерий к антибиотическим препаратам за 2008 г. и 2012 г. и проведено их сравнение. Всего

было изучено 123 штамма бактерий, выделенных из абдоминальных экссудатов наблюдаемых больных: 52 штамма принадлежали виду *Escherichia coli*, 35 – *Staphylococcus spp.* и 36 – *Streptococcus spp.*

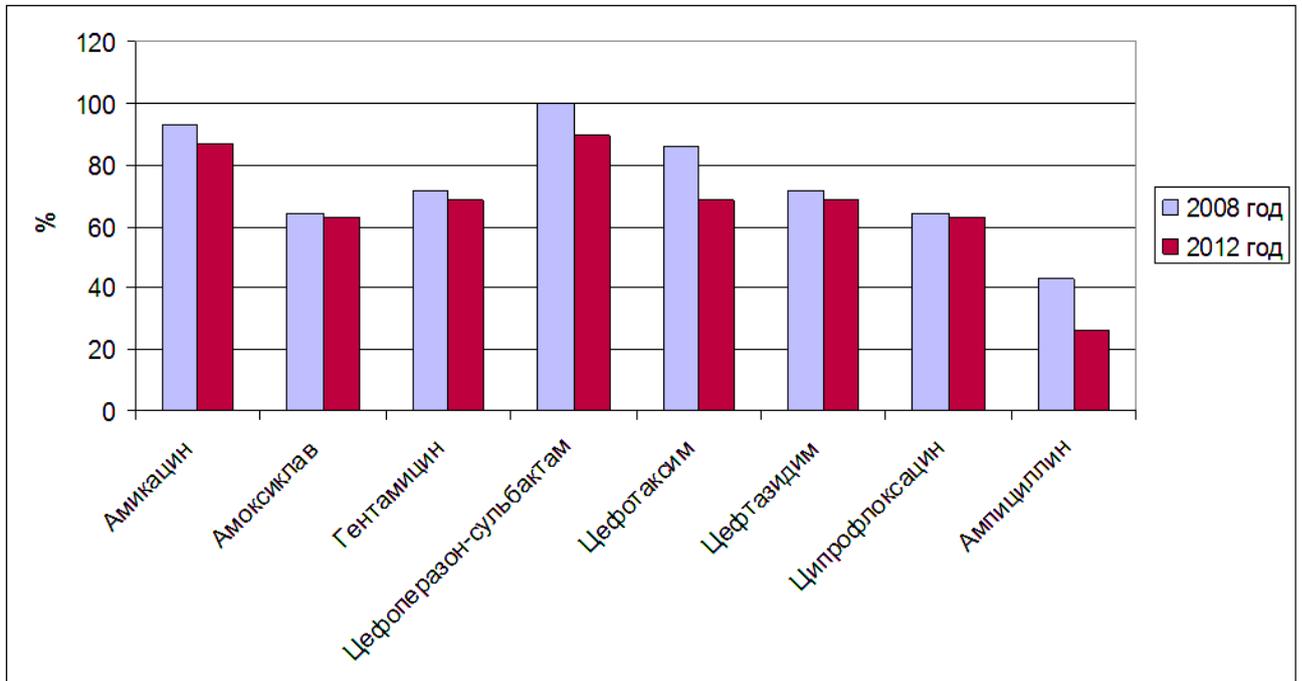


Рис. 4.7. Суммарная антибиотикочувствительность бактерий рода *Escherichia coli* при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите в 2008 г. и 2012 г.

На рис. 4.7 и табл. 4.3 представлено изменение чувствительности выделенных бактерий *Escherichia coli* к антибиотикам. Показано, что по сравнению с 2008 годом в 2012 году наблюдалось снижение чувствительности, в среднем, на 7,32%. Наибольшее снижение чувствительности наблюдается к цефотаксиму – 17,29%. Наименьшее снижение чувствительности выявлено по отношению к амоксиклаву и ципрофлоксацину – 1,15%. Наибольшая чувствительность в 2012 г. наблюдалась к антибиотикам цефоперазон-сульбактам – 89,47% и амикацин – 86,84%.

На рис. 4.8 и табл. 4.4 представлена чувствительность *Staphylococcus spp.* к антибиотикам. Показано, что по сравнению с 2008 годам, в 2012 году наблюдалось снижение антибиотикочувствительности бактерий в среднем, на 14,37%. а наибольшее снижение чувствительности отмечено к эритромицину – 24,71%, наименьшее – к ципрофлоксацину – 1,15%. Наибольшая чувствительность в 2012 году наблюдалась к ванкомицину – 93,10%.

**Динамика антибиотикочувствительности *Escherichia coli*
при суммарной оценке заболеваний: острым аппендиците, острым
холецистите и острым панкреатите за 2008 и 2012 гг.**

	За 2008 год (n=14)		За 2012 год (n=38)		Процент снижения чувствительност и %
	Абс.	%	Абс.	%	
Амикацин	13	92,85	33	86,84	6,01
Амоксиклав	9	64,28	24	63,15	1,13
Гентамицин	10	71,42	26	68,42	3
Цефоперазон- сульбактам	14	100,0	34	89,47	10,53
Цефотаксим	12	85,71	26	68,42	17,29
Цефтазидим	10	71,42	26	68,42	3
Ципрофлоксацин	9	64,28	24	63,15	1,13
Ампициллин	6	42,85	10	26,31	16,54

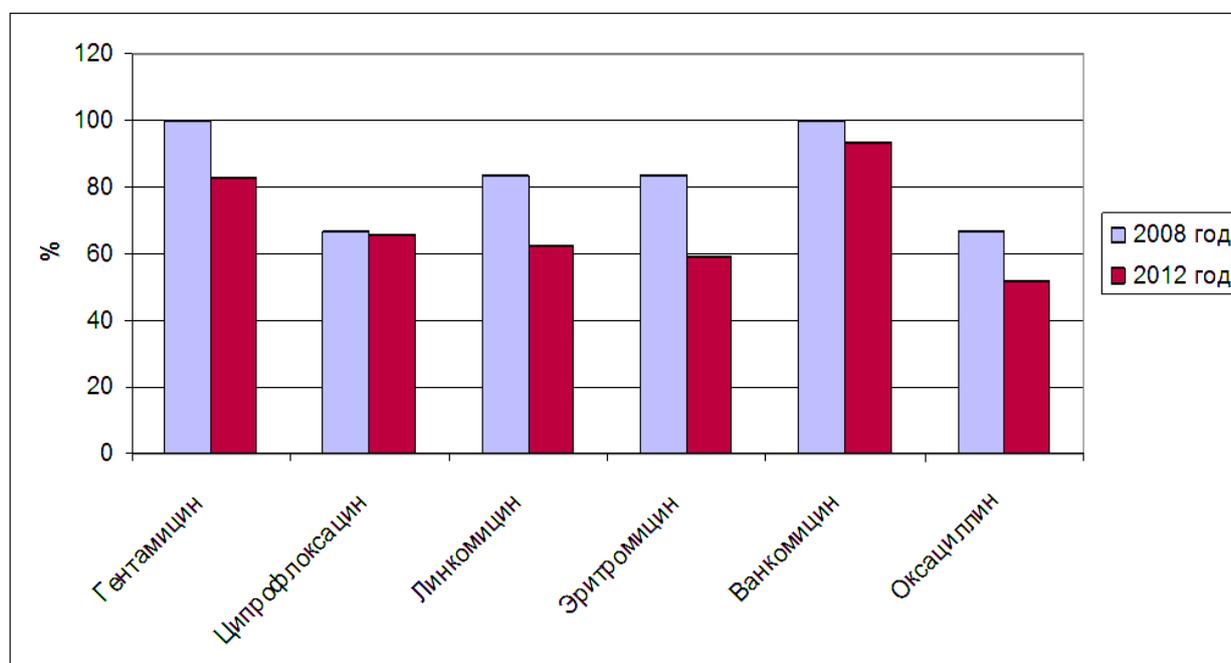


Рис. 4.8. Суммарная антибиотикочувствительность бактерий рода *Staphylococcus spp.* при острым аппендиците, острым холецистите и острым панкреатите в 2008 г. и 2012г.

Динамика антибиотикочувствительности *Staphylococcus spp.* при суммарной оценке заболеваний: острым аппендиците, острым холецистите и острым панкреатите за 2008 и 2012 гг.

	За 2008 год (n=6)		За 2012 год (n=29)		Процент снижения чувствительности и
	абс.	%	абс.	%	
Гентамицин	6	100,0	24	82,75	17,25
Ципрофлоксацин	4	66,66	19	65,51	1,15
Линкомицин	5	83,33	18	62,02	21,31
Эритромицин	5	83,33	17	58,62	24,71
Ванкомицин	6	100,0	27	93,10	6,9
Оксациллин	4	66,66	15	51,72	14,94

Следующим этапом исследования явилась оценка эффективности антибиотиков при высеивании патогенных штаммов *Escherichia coli* и *Staphylococcus spp.* (рис.4.9). Анализ полученных результатов показал, наибольшая чувствительность *Escherichia coli* отмечается к цефоперазон-сульбактам – 89,47-100% и амикацину – 86,84-92,85%. В то время как *Staphylococcus spp.* был чувствителен к гентамицину – 82,75-100 % наблюдений и ванкомицину – 93,10-100%.

В табл. 4.5 представлено изменение чувствительности бактерий *Streptococcus spp.* к антибиотикам за те же годы. Показано, что по сравнению с 2008 годом, в 2012 году наблюдается снижение чувствительности в среднем на 26,23%.

Наибольшее снижение чувствительности наблюдалось к линкомицину 33,99%, а наименьшее – к левомицетину 16,25%. Наибольшая чувствительность в 2012 году наблюдалась к левофлоксацину – 72,41%

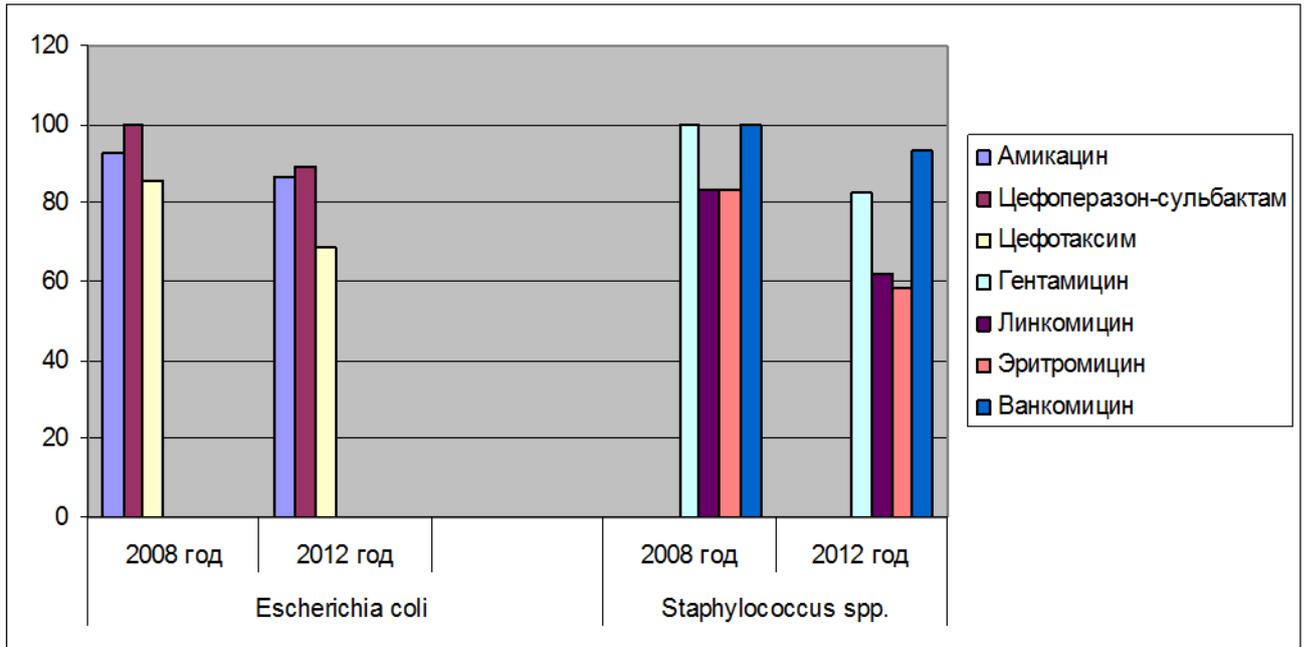


Рис. 4.9. Сравнительная оценка эффективности антибиотикотерапии на патогенные штаммы *Escherichia coli* и *Staphylococcus spp.*

Таблица 4.5.

Динамика антибиотикочувствительности *Streptococcus spp.* при суммарной оценке заболеваний: острым аппендиците, острым холецистите и острым панкреатите за 2008 и 2012 гг.

	За 2008 год (n=7)		За 2012 год (n=29)		Процент снижения чувствительности и
	Абс.	%	Абс.	%	
Эритромицин	6	85,71	17	58,62	27,09
Левомецетин	5	71,42	16	55,17	16,25
Левифлоксацин	7	100,0	21	72,41	27,59
Линкомицин	6	85,71	15	51,72	33,99

Таким образом, определение антибиотикочувствительности выделенных штаммов показало, что в настоящее время подобрать «универсальный» антибиотик, который бы мог служить уникальным средством антимикробной терапии абдоминальной инфекции, крайне сложно. Так *Escherichia coli*, наиболее чувствительна к цефоперазон-сульбактаму и амикацину, а *Staphylococcus spp.* к

гентамицину и ванкомицину. Поэтому проблема поиска новых эффективных и нетоксичных антибактериальных препаратов для лечения инфекций при абдоминальной патологии стоит достаточно остро.

Глава 5. ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЖИВОТНЫХ

5.1. Оценка антибактериального действия лейкоцитарного низкомолекулярного пептидного комплекса на культуры микроорганизмов, выделенных от больных абдоминальной хирургической инфекцией

В настоящее время быстрое снижение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам существенно затрудняет лечение заболеваний инфекционной природы [162, 188]. При этом, многие антибактериальные препараты, несмотря на быстрый лечебный эффект, оказывают нежелательное побочное действие на отдельные органы и даже на организм в целом (аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, кандидозы и др.). Кроме того, частое и неправильное применение антибиотиков приводит к выработке у возбудителей инфекций антибиотикорезистентных свойств [148]. Учитывая современные представления о качестве лекарств и их адаптированности к человеческому организму, наиболее предпочтительными средствами лечения являются препараты, содержащие естественные компоненты организма с известной биологической активностью [144].

В связи с представленным выше, нами проведено изучение чувствительности к комплексу антибактериальных пептидов (АБПК), синтезируемых лейкоцитами человека в процессе интерферогенеза, штаммов микроорганизмов, выделенных из абдоминальных экссудатов больных при острых формах аппендицита, холецистита и панкреатита.

Антибактериальное действие АБПК исследовано на 499 абдоминальных бактериальных штаммах (328 штаммов выделено из экссудатов больных аппендицитом, 108 – из экссудатов больных при острым холецистите и 63 – при острым панкреатите. Микроорганизмы, принадлежащие всем тестируемым группам (бактерии родов *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella* и *Proteus*), оказались чувствительны к пептидному комплексу (таб. 5.1).

Чувствительность бактерий клинических штаммов, выделенных от больных абдоминальной инфекцией к лейкоцитарному пептидному комплексу, %

Название Микроорганизма	Степень антибактериальной активности АБПК, УЕ/мл						
	8000	4000	2000	1000	500	250	125
<i>Escherichia coli</i>	73	71	64	31	18	11	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	100	100	75	50	7
<i>Streptococcus spp.</i>	25	21	10	4	0	0	0
<i>Klebsiella spp.</i>	31	14	0	0	0	0	0
<i>Proteus spp.</i>	5	5	2	0	7	4	0

На первом этапе исследований нами была проведена оценка чувствительности вышеперечисленных штаммов к АБПК при содержании 1×10^6 микроб. клеток в мл.

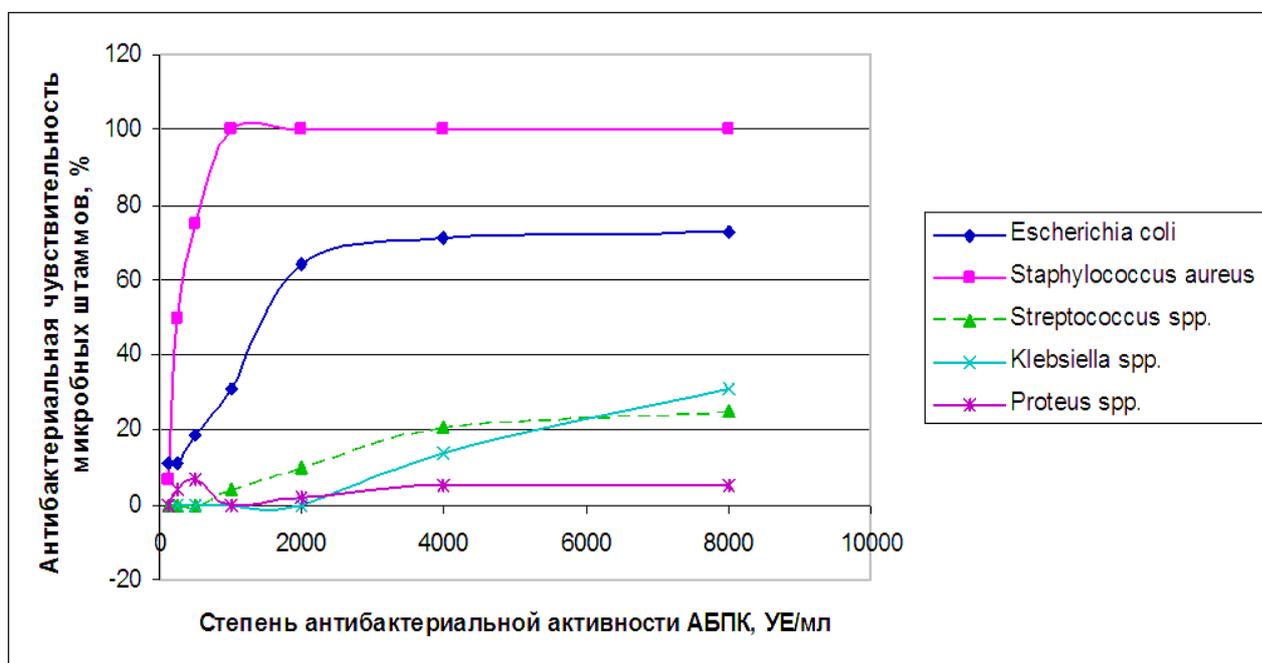


Рис. 5.1. Антибактериальная чувствительность микробных штаммов при содержании 1×10^6 микроб. клеток в мл, выделенных от больных абдоминальной инфекцией к антибактериальному пептидному комплексу, %

Как представлено на рис.5.1, к антибактериальному действию пептидного комплекса оказалось чувствительно большинство протестированных штаммов микроорганизмов. Характерно, что для ингибирования роста большинства исследованных бактериальных штаммов достаточно действия АБПК в концентрации 2000 УЕ/мл. Наибольшая чувствительность всех выделенных бактерий отмечается к компонентам пептидного комплекса в проявлении его концентрации 8000 УЕ/мл. Доказано, что катионные антибактериальные пептиды сильнее активны в отношении грамположительной, нежели грамотрицательной микрофлоры [67]. В наших исследованиях этой закономерности не выявлено (рис. 5.1).

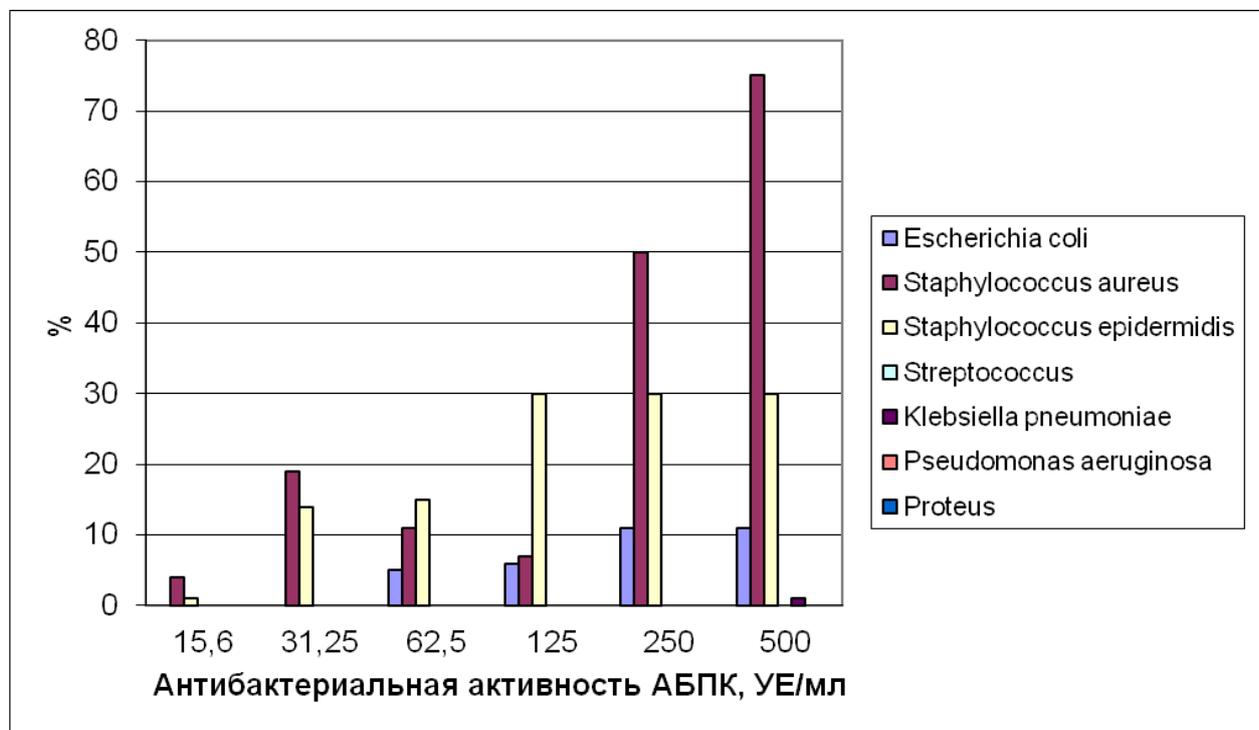


Рис. 5.2. Распределение антибактериальной активности грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, выделенных у больных абдоминальной инфекцией, к антибактериальному пептидному комплексу, %

Более глубокий анализ антибактериальной активности тестируемого пептидного комплекса в отношении грамположительной (*Streptococcus*, *Staphylococcus*) и грамотрицательной микрофлоры *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* (рис.5.2), показал, что АБПК в концентрации 62,5 УЕ/мл проявлял свою активность по отношению как к *S.aureus* и *S. Epidermidis*, так и *E. Coli*.

Относительно чувствительности родов *Klebsiella* и *Proteus* необходимо отметить, что изучаемый нами АБПК не проявлял своих антибактериальных свойств.

Учитывая, что для создания моделей перитонита культуры бактерий используются в количестве 1×10^9 микроб. клеток на 100 г веса животного и выше, нами также была изучена эффективность АБПК в данной концентрации (рис. 5.3).

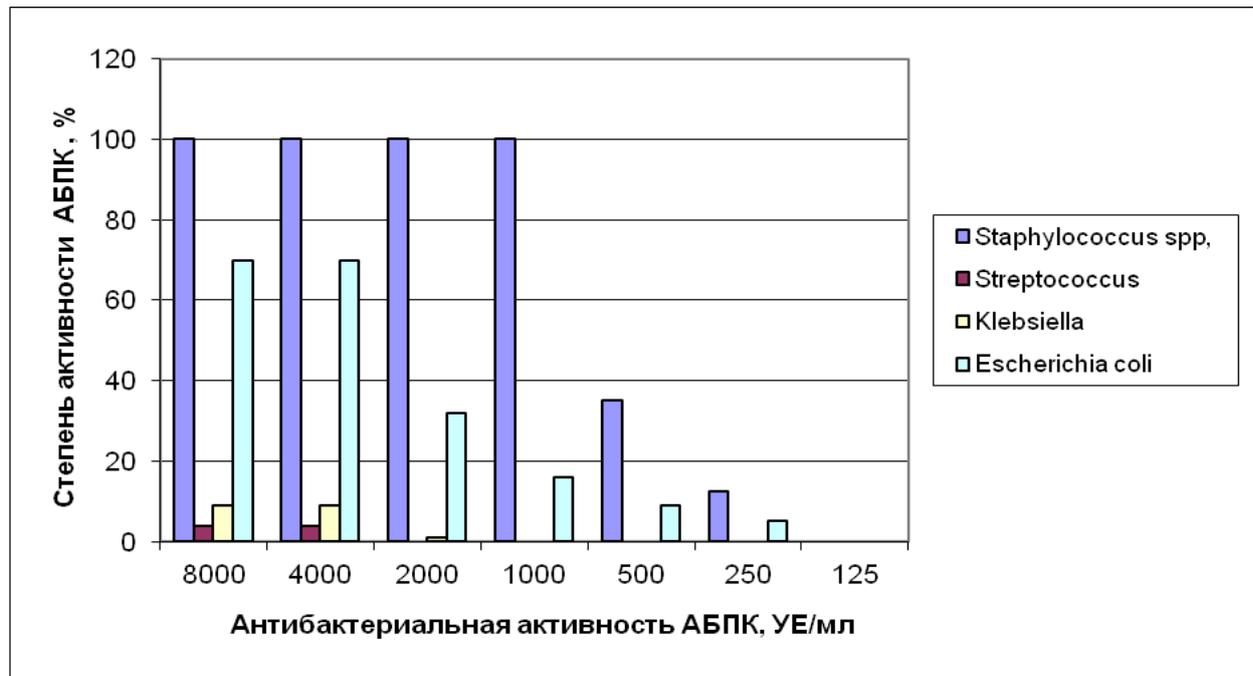


Рис. 5.3. Ингибирующее действие АБПК при высоком (1×10^9) содержании в среде бактериальных клеток

Нами проведена оценка чувствительности микроорганизмов родов *Staphylococcus* и *Escherichia coli* в различных концентрациях: 1×10^6 и 1×10^9 микроб. клеток/мл (рис. 5.4).

Полученные нами результаты показали, что только микроорганизмы родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella* и *Escherichia* в концентрациях 1×10^9 бактериальных клеток мл чувствительны к АБПК в концентрации от 4000 УЕ/мл. При этом необходимо учесть, что только патогенные штаммы *Staphylococcus* и *Escherichia* чувствительны к АБПК в более чем 50% случаев.

Таким образом, при концентрации пептидного комплекса 4 000 УЕ/мл для всех исследованных штаммов рода *Staphylococcus* отмечалось ингибирование роста в мясо-пептонном бульоне. Резистентными к действию пептидного комплекса оказались 19,6% штаммов грамотрицательных бактерий.

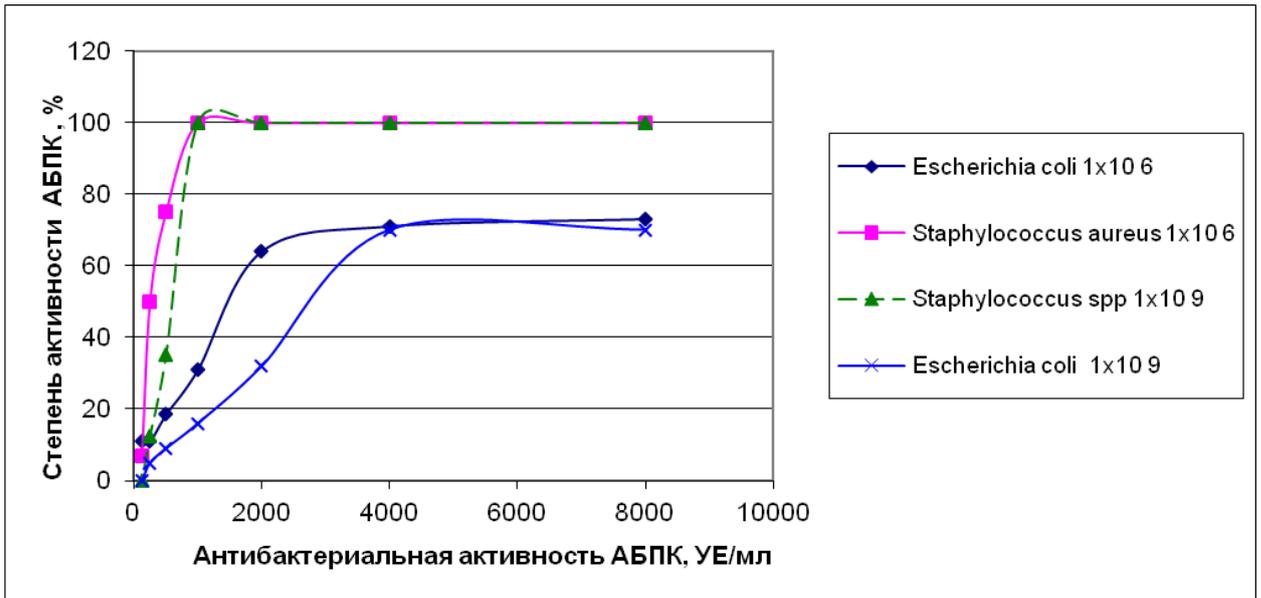


Рис. 5.4. Сравнительный анализ чувствительности к АБПК бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia coli* при концентрациях 1×10^6 и 1×10^9 микробных клеток/мл

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод о том, что грамположительные микроорганизмы в большей степени чувствительны к действию АБПК, нежели грамотрицательные бактерии, что подтверждает данные литературы относительно того, что антибактериальное действие катионных пептидов, в первую очередь, реализуется в отношении грамположительной микрофлоры [63].

Большинство исследованных штаммов *Escherichia coli*, выделенных при абдоминальных инфекциях, оказались менее чувствительны к пептидному комплексу при его концентрациях 4000-8000 УЕ/мл. и эта резистентность не зависела от использованных в наших экспериментах его концентраций (рис. 5.4).

Очевидно, что для полного (100%) подавления роста микроорганизмов, выделенных из экссудатов больных с абдоминальной хирургической инфекцией, обусловленной *Staphylococcus spp.*, необходимы концентрации пептидного комплекса более 1000 УЕ/мл, в то время, как частичное осложнение инфекции, вызванной *Escherichia coli* в концентрации 1×10^9 микробных клеток в 1 мл, по-видимому, может быть достигнуто при значительно больших концентрациях

пептидного препарата – 4000 УЕ/мл. В отношении инфекции, вызванной *Streptococcus spp.* в концентрации 1×10^9 микробных клеток в 1 мл, антибактериальный пептидный комплекс не активен.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что наиболее часто встречающиеся представители патогенной микрофлоры при абдоминальной инфекции, такие как *Escherichia coli* и *Staphylococcus spp.*, являются чувствительными к катионному пептидному комплексу в 100% случаев, но различаются степенью ее проявления.

5.2. Создание модели острого перитонита с учетом микробного пейзажа абдоминальной инфекции

Доклиническое изучение и апробация новых методов оценки эффективности разрабатываемых антибактериальных препаратов в настоящее время является одной из весьма актуальных проблем. Согласно данным литературы, существует несколько моделей острого перитонита, обусловленного введением в брюшную полость экспериментальных животных вирулентных бактериальных штаммов [3, 37, 57, 83]. Наиболее известны нижеперечисленные варианты воспроизведения в эксперименте острого перитонита.

Пункционное введение в брюшную полость беспородных собак комбинированной взвеси микробных тел, представленной стафилококками, кишечной палочкой, псевдомонадами и пептококками в равных соотношениях, с помощью предварительно проведенных через пункционные отверстия в передней брюшной стенке катетеров, установленных в правом и левом поддиафрагмальных пространствах, правом и левом боковых каналах живота, малом тазу и центральной части брюшной полости. Указанная взвесь вводится через 24 час после предварительного введения в брюшную полость через указанные катетеры аутокрови в суммарном объеме 7-10 мл/кг массы тела экспериментального животного в три этапа: на первом этапе водится взвесь микроорганизмов в объеме 50-55 млрд./кг; на втором и третьем – 20-25 млрд./кг через 6 часовые промежутки [37]. Существенным недостатком данного способа является большая травматичность, ведущая к преждевременной гибели животных.

Способ моделирования острого гнойного перитонита у собак путем введения через лапаротомный разрез смеси культур – *S.aureus* 209, *E.coli* O-111 и *C.perfringens* Киев-235. В целях раздражения брюшины перед введением смеси культур в брюшную полость вводят мясной бульон [47, 114]. Существенным недостатком данного способа является то, что введение в брюшную полость смешанного микробного инокулята, даже после предварительной провокации брюшины, у части животных не обеспечивает развития четко выраженного перитонита, т.к. микробная взвесь быстро резорбируется из брюшной полости и реакция организма проявляется в виде острого сепсиса, не соответствующего характерной клинической ситуации.

Наиболее близким к нашим исследованиям является способ моделирования экспериментального перитонита у крыс путем инъекции в брюшную полость бактериальной культуры *E. coli* «O-111» в количестве 14 млрд. микробных тел на 100 г массы крысы в 2 мл 20% раствора маннитола, осуществляемой следующим образом: беспородным белым крысам в брюшную полость инъекционно вводятся бактерии *E. coli* «O-111» в количестве 14 млрд. микр. тел/100 г массы животного в 2 мл 20% раствора маннитола. Животных помещали в клетку и наблюдали за их состоянием. Через 7 суток обычно констатировали гибель крыс от острого разлитого перитонита [94]. Основным недостатком данного способа является использование одного вида бактерий, которое, как правило, не характерно для клиники перитонита у людей.

По этой причине задачей настоящего исследования явилась создание экспериментальной модели острого распространенного перитонита с использованием компонентов микробного пейзажа, выделенных при абдоминальной инфекции у хирургических больных многопрофильного стационара. Предлагаемая модель по клиническому течению, лабораторными показателями и морфологической картине, практически, идентична воспалительному процессу при абдоминальной хирургической инфекции и не сопровождается нанесением животным обширной операционной травмы.

Для проведения исследований нами разработан способ моделирования

острого перитонита, воспроизводимый без технических трудностей, который по этиопатогенезу, клиническому течению, лабораторным показателям и микробиологической картине идентичен воспалительному процессу в брюшной полости, наблюдаемому в клинике, без нанесения животному операционной травмы.

Учитывая, что наиболее частой причиной развития перитонита является острый аппендицит, в экспериментах были использованы штаммы микроорганизмов, выделенные у больных острым аппендицитом. Наиболее часто высеваемыми бактериями при аппендиците явились *Escherichia coli* – 30,79% и *Staphylococcus spp.* – 19,81% всех случаев. Учитывая вышепредставленное и для упрощения расчета, нами была использована смесь микроорганизмов в следующем соотношении: *Escherichia coli* – 60%, *Staphylococcus spp.* – 40%. При этом, согласно литературным данным, суммарное количество микроорганизмов при создании модели острого перитонита должно составлять 2-15 млрд. на 100 г веса животного [37].

День введения суспензии в брюшную полость животных считали нулевым днем эксперимента. Участвующие животные в эксперименте были распределены по 8 групп по 12 животных в каждой. Первая группа – контрольная, с животными не проводили никаких манипуляций. Второй группе животных вводили смесь бактериальных культур в суммарной дозе – 2 млрд. микр. тел на 100 г массы животных в 1,0 мл; третьей группе – 3×10^9 бактерий смеси культур; четвертой группе – 4×10^9 смеси бактерий культур; пятой группе – 5×10^9 бактерий смеси культур; шестой группе – 6×10^9 микр. тел смеси бактериальных культур; седьмой группе – 7×10^9 микр. тел смеси бактериальных культур; восьмой группе – 8×10^9 микр. тел смеси бактериальных культур (табл. 5.2).

Группы экспериментальных животных и количество смеси бактериальных культур

Номер группы экспериментальных животных	Количество микр. тел смеси бактериальных культур
I (контроль)	0
II	2×10^9
III	3×10^9
IV	4×10^9
V	5×10^9
VI	6×10^9
VII	7×10^9
VIII	8×10^9

Моделирование перитонита осуществляли следующим образом. Животному под легким эфирным наркозом однократно интраперитонеально вводили свежеприготовленную бульонную взвесь бактерий *Escherichia coli* – 75%, в количестве по 2,0 мл на 100 г веса животного и *Staphylococcus spp.* – 25%, изолированных из брюшной полости пациентов с клинической картиной перитонита, подтвержденного лабораторными данными. С целью создания оптимальных условий для развития бактерий внутрибрюшинно дополнительно вводили питательную среду, на которой проводили культивирование культуры микроорганизмов из расчета суммарного объема до 20 мл на 1 кг массы животного.

Бактериальные взвеси получали путем смешивания препаратов различных культур, оптическую плотность препаратов определяли с помощью ФЭК и не позднее 60 мин после приготовления вводили экспериментальным животным в полость брюшины. При моделировании перитонита использовали половозрелых крыс-самцов линии Wistar без признаков заболеваний, прошедших карантин и содержащихся на стандартном пищевом и питьевом рационе в условиях вивария.

При введении микробной взвеси в брюшную полость, животных располагали вертикально, каудальным концом вверх, переднюю брюшную стенку оттягивали и с соблюдением методов асептики аккуратно вводили исследуемую бактериальную смесь.

Наблюдение за животными проводилось ежедневно и состояло из регистрации поведения, физического состояния и внешнего вида. Перед началом эксперимента и после его завершения у животных исследовали показатели периферической крови: количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, количество лейкоцитов, а также определяли лейкоцитарную формулу. На 2, 4, 6, 8 сутки проведения экспериментов животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом и с соблюдением правил эвтаназии - осуществляли забор материала для последующих бактериологического и гистологического исследований.

Таблица 5.3

Летальность животных при экспериментальном перитоните в зависимости от уровня бактериальной нагрузки

Время наблюдения, сут.	Летальность животных %, в зависимости от количества микроорганизмов в инокулятах бактериальных взвесей, (млрд.микр. тел/ на 100 массы тела животного по экспериментальным группам)							
	Кон.-I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1-е	0	0	0	0	0	0	0	0
2-е	0	0	0	0	0	0	25	50
3-е	0	0	0	0	0	0	50	50
4-е	0	0	0	0	0	0	25	
5-е	0	0	0	0	0	0		
6-е	0	0	0	0	0	0		
7-е	0	0	0	0	0	0		
8-е	0	0	0	0	0	100		

При проведении эксперимента проводилась оценка клинического состояния и макроскопических изменений в органах брюшной полости у животных с ОЭП. На первые сутки после введения бактериальной взвеси у экспериментальных животных наблюдались первые признаки проявления клинической симптоматики, характерные для перитонита: заторможенность, вялость, животные «сбивались» в одном из углов клетки, взъерошенность шерсти, учащенное дыхание, одышка, отказ от еды, жидкий стул и вздутие живота. На вторые сутки отмечалась гибель 25% и 50% от общего числа животных 7 и 8 групп соответственно. К 3-м суткам клиническая картина усиливалась – погибали все оставшиеся животные 8 группы и 50% животных из 7 группы. Все экспериментальные животные 6-й группы проявляли клинические симптомы острого перитонита, при этом все животные с 1-й по 5-ю группу чувствовали себя удовлетворительно. После длительной болезни летальность с ОЭП 6 группы животных проявилась на 8-е сутки, что согласуется с летальностью животных при создании ОЭП по методике Лазаренко В.А. и соавт [74] (таб.5.3).

При вскрытии брюшной полости у животных отмечали наличие от 2 до 8 мл воспалительного экссудата серозного и гнойного характера, иногда, с геморрагическим компонентом.

Брюшная стенка выглядела тусклой, гиперемированной, с гнойно-фибринозными наложениями на брюшине и капсуле печени. На органах брюшной полости выявлялись рыхлые фибриновые спайки в виде «паутинки». На брыжейке кишечника отмечались отдельные мелкоочаговые кровоизлияния. Петли кишок часто были раздуты и заполнены массами темного цвета, в некоторых местах кишечника был отечен с усиленным сосудистым рисунком кишечной стенки.

При гистологическом исследовании брюшной полости была выявлена картина фибринозно-гнойного перитонита с выраженной нейтрофильной инфильтрацией, отеком и полнокровием стромы (рис. 5.5), в то время как у животных контрольной группы при морфологическом исследовании отёка и инфильтрации не было, мезотелий и подлежащая соединительная ткань были не измененными (рис. 5.7). У животных, зараженных смесью бактериальных культур

в количестве 5×10^9 микр. тел., морфологически выявлена умеренная нейтрофильная инфильтрация брюшины (рис. 5.6).

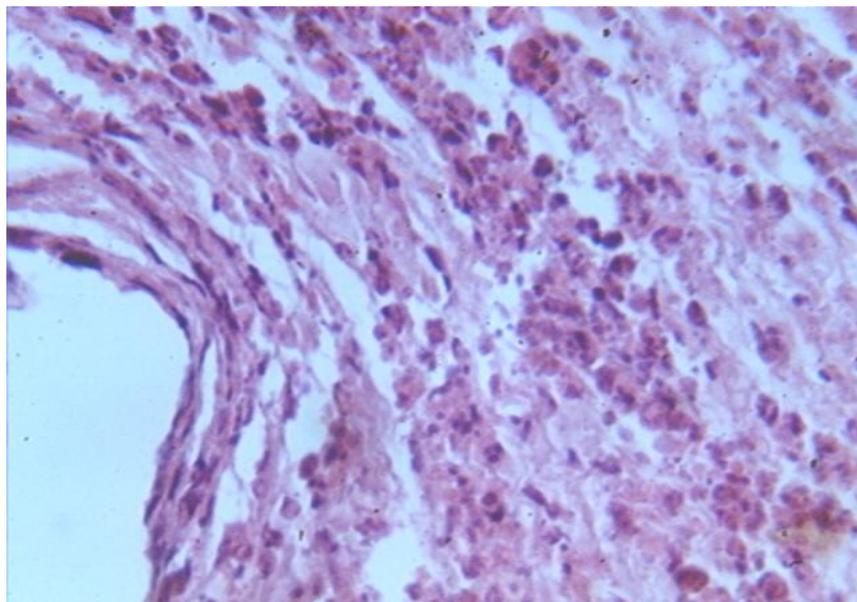


Рис. 5.5. Фрагмент передней брюшной стенки с брюшиной животного, инфицированного смесью бактериальных культур в количестве 6×10^9 микр. тел (выраженная нейтрофильная инфильтрация и отек брюшины, окраска гематоксилином и эозином $\times 600$)

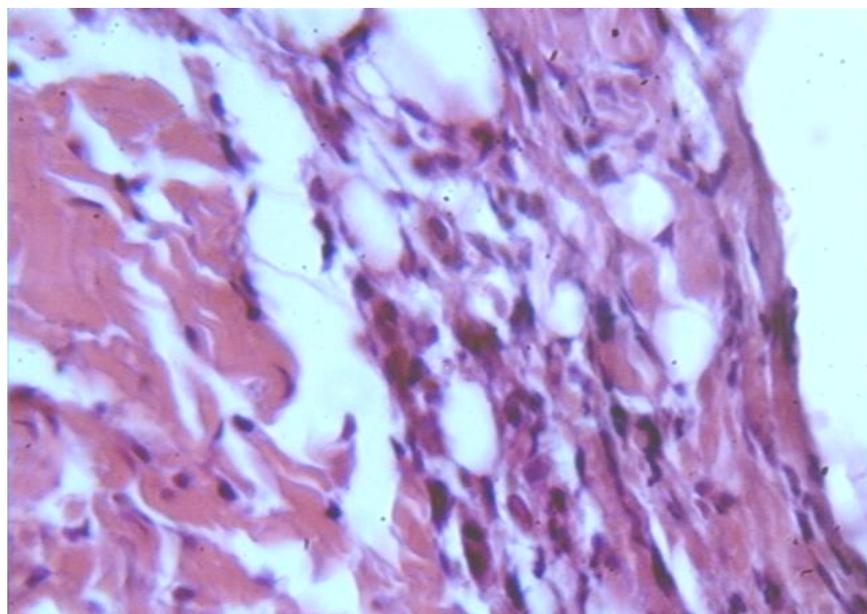


Рис. 5.6. Фрагмент передней брюшной стенки с брюшиной животного, зараженного смесью бактериальных культур в количестве 5×10^9 микр. тел. (умеренная нейтрофильная инфильтрация брюшины. Окраска гематоксилином и эозином $\times 600$)

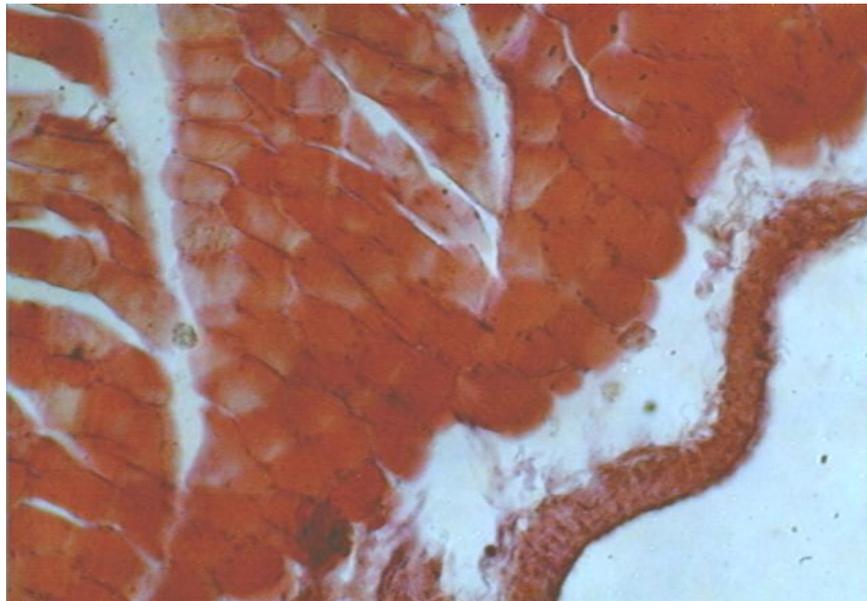


Рис. 5.7. Фрагмент передней брюшной стенки с брюшиной животного контрольной группы (отека и инфильтрации нет, мезотелий и подлежащая соединительная ткань не изменены. Окраска гематоксилином и эозином x 150)

При проведении анализа показателей периферической крови животных было выявлено, что ни в одной из экспериментальных групп, включая представленную интактными животными, на протяжении эксперимента не отмечалось статистически достоверного изменения количества эритроцитов и концентрации гемоглобина. Установленные отличия являлись незначимыми, а средние значения находились в пределах нормальных величин.

Во время исследования содержания лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных было выяснено, что у интактных животных количество лейкоцитов периферической крови к окончанию эксперимента не отличалось от исходных показателей.

У крыс контрольной группы (I группа) в течение всего эксперимента общее количество лейкоцитов крови, в среднем, составляло $7,5 \pm 0,98 \times 10^9$ /л и варьировало от $6,6$ до $8,1 \times 10^9$ /л. Необходимо отметить, что перитонит у животных со II по V группы ярко не проявлялся. Животные на вторые сутки были вялыми, однако, уже на 4 сут. их поведение, внешний вид и аппетит не отличались от показателей контрольной группы, как и количество лейкоцитов крови (табл. 5.4).

Сравнительный анализ количества лейкоцитов в крови животных экспериментальных групп

Номер группы	Количество лейкоцитов в начале эксперимента, 10^9 / л	Количество лейкоцитов в конце эксперимента на 8 сутки, 10^9 /л
I (контроль)	7,3±1,50	7,6±0,76
II	7,5±0,80	8,7±1,74
III	6,3±0,75	8,59±1,80
IV	6,7±0,46	8,7±1,30
V	6,8±0,98	8,8±0,80
VI	7,2±1,34	16,2±0,45*
VII	6,5±0,70	18,8±1,50*
VIII	6,9±0,92	19,7±1,40*

Примечание. * $p < 0,001$ - по отношению к результатам контрольной группы

В динамике развития острого перитонита количество лейкоцитов в крови крыс (II-VIII группы) значительно возрастало до максимальных значений к 6 сут. наблюдения и сохранялось на этом уровне до 8 сут. Наиболее ярко клиника острого перитонита проявилась у животных VI экспериментальной группы, в которой инфицирующая доза бактерий составила 6 млрд. смеси микроб. клеток на 100 г массы животных в 1,0 мл. Оценка количества лейкоцитов в динамике всего эксперимента представлена в табл. 5.5.

Так, на вторые сутки после инфицирования общее количество лейкоцитов крови крыс составило, в среднем, $12,6 \pm 0,6 \times 10^9$ /л, что в 1,72 раза выше показателей животных контрольной группы. К 4 сут. наблюдения количество лейкоцитов крови возрастало до $13,7 \pm 0,8 \times 10^9$ /л, а к 6 сут.- до $15,2 \pm 0,14 \times 10^9$ /л, что, соответственно, в 1,89 и 2,05 раза превышало показатели крыс контрольной группы (табл. 5.5). К концу эксперимента (8 сут.) количество лейкоцитов было статистически значимо выше, чем у животных контрольной группы.

Сравнительный анализ количества лейкоцитов у животных, инфицированных смесью микробных клеток в концентрации 6 млрд. на 100 г массы тела животного

№ группы	Количество лейкоцитов в динамике наблюдения, 10^9 /л				
	Исходный фон	2сут.	4сут.	6сут.	8сут.
I	7,3±1,5	7,4±0,3	7,3±0,38	7,3±0,38	7,6±0,76
VI	7,2±1,34	12,6±0,61*	13,7±0,81*	15,2±0,14*	15,9±0,23*

Примечание. * $p < 0,05$ - по отношению к результатам контрольной группы

Обнаруженные нами незначимые отличия между группами до начала эксперимента по количеству лейкоцитов и лейкоцитарной формуле у экспериментальных группах не противоречат современным представлениям о нормальных показателях периферической крови крыс.

«Золотым стандартом» диагностики перитонита считается методика определения возбудителей инфекционного процесса с использованием посева асцитической жидкости на питательные среды для выявления роста микроорганизмов с последующей идентификацией их в чистой культуре. В связи с низкой чувствительностью культурального метода, не превышающего 25-42% [8, 9], отрицательные результаты посева не могут гарантировать отсутствия бактериемии. Кроме того, длительные сроки исполнения настолько большие, что лишают исследование смысла.

Следующим этапом исследований являлась оценка результатов бактериологического исследования аутопсийного материала, полученного от экспериментальных животных, зараженных абдоминальными культурами патогенных бактерий.

С этой целью по окончании эксперимента в асептических условиях, осуществляли забор аутопсийного материала для бактериологического исследования. Пробы биоматериала, взятые от животных контрольной группы

(интактных), были стерильны. При проведении бактериологического исследования аутопсийного материала культура *S. aureus* была изолирована также из ткани селезенки и печени животных, которым внутрибрюшинно вводили микскультуру патогенных штаммов.

По результатам проведенных исследований было установлено, что чистые культуры *S. aureus*, выделенные из органов экспериментальных животных, по своим биохимическим свойствам были идентичны штаммам, использованным для моделирования перитонита.

Для проведения бактериологических исследований аутопсийного материала культура *E. coli* была изолирована из ткани селезенки и печени животных, которым внутрибрюшинно вводили бактериальную смесь в концентрации 6×10^9 микр. тел на 100 гр веса животного. Идентификацию выделенных чистых культур *E. coli* проводили при помощи системы однократного использования для дифференциации микроорганизмов семейства энтеробактерий «ЭНТЕРОтест 24» (производство PLIVA-Lachema Diagnostica s.r.o., Чехия). В результате проведенных исследований установлено, что чистые культуры *E. coli*, выделенные из органов экспериментальных животных, по своим биохимическим свойствам были идентичны штамму, использованному для моделирования перитонита.

По окончании эксперимента осуществляли забор внутренних органов с целью их гистологического исследования, при этом были взяты органы, морфологические и функциональные изменения которых имеют важное значение при моделировании экспериментального перитонита – прежде всего, кишечник, печень, селезенка (с целью оценки генерализации инфекционно-воспалительного процесса).

При проведении бактериологического исследования аутопсийного материала из образцов печени и селезенки животных, зараженных микробной смесью внутрибрюшинно, были выделены *E. coli* и *S. aureus*, во всех случаях в концентрациях, превышающих 10^7 - 10^9 КОЕ/г, что свидетельствовало о наличии у экспериментальных животных бактериемии.

Полученные результаты показывают, что разработанная нами модель острого разлитого перитонита у крыс путем инфицирования брюшины введением в брюшную полость взвеси микробных культур *E. coli* (75%) и *Staphylococcus spp.* (25%), выделенных от больных с острым аппендицитом, отличающаяся тем, что в брюшную полость вводят микроорганизмы родов *E. coli* – $4,5 \times 10^9$ микробных тел и *Staphylococcus spp.* $1,5-10 \times 10^9$ микробных тел на 100 г массы крысы до 3,0 мл с последующим введением культуральной питательной среды в количестве не более 2,0 мл может быть использована для оценки клинической эффективности исследуемого препарата.

5.3. Оценка эффективности противомикробного действия пептидного комплекса при экспериментальном перитоните

Проблема эффективного лечения гнойного перитонита на протяжении длительного времени сохраняет свою актуальность [121]. При распространенных формах перитонита возникают выраженные нарушения в состоянии основных защитных систем организма человека: иммунитета, гемостаза и неспецифической резистентности [32]. Важно отметить, что быстрое формирование резистентности бактерий к антибиотикам определяет экстренную необходимость поиска новых соединений не только среди продуктов химического синтеза, но и функционирующих в природных живых системах [49, 112]. Особое внимание исследователей привлекают низкомолекулярные катионные пептиды, обеспечивающие эффективную защиту про- и эукариотических организмов от бактериального окружения [63]. Антибактериальные пептиды, как правило, подавляют бактерии, невосприимчивые к распространенным в клинической практике антибиотикам. В последние годы успех в лечении многих заболеваний связан с терапией, основанной на применении лекарственных препаратов, являющихся естественными продуктами жизнедеятельности клеток и тканей процессов живых организмов.

В Пермском НПО «Биомед» получен антибактериальный комплекс низкомолекулярных пептидов лейкоцитов, ассоциированный с процессом интерфероногенеза [27, 156]. Проведенные исследования *in vitro* по эффективности действия АБПК на микроорганизмы, выделенные из мочи детей с уроренальными

инфекциями [67], а также его влияния на иммунную систему организма экспериментальных животных [80], свидетельствуют о необходимости дальнейшего широкого экспериментального изучения антибактериальных эффектов АБПК.

Создание нами модели экспериментального перитонита на животных и определение концентрации смеси бактериальных культур, наиболее ярко проявляющих картину развития перитонита, было учтено при дальнейшем экспериментальном изучении лечебных эффектов препарата на основе комплекса антибактериальных полипептидов, выделяемых лейкоцитами в процессе в процессе интерфероногенеза. Для заражения животных была использована смесь культур бактерий *E. coli* (10 штаммов) и *Staphylococcus spp.* (5 штаммов), выделенных из экссудатов больных с перитонитом в концентрации 10^5 КОЕ/мл.

Использовано 4 экспериментальные группы животных по 10 в каждой: I – крысы с моделированным перитонитом, «лечение» которых проводили введением 0,9% раствором NaCl внутривентрально; II – моделирование перитонита с экспериментальной терапией АБПК внутримышечно 4000 МЕ; III – моделирование перитонита, введение АБПК внутримышечно в сочетании с внутривентральным введением этого препарата 4000 МЕ; IV – введение препарата животным с перитонитом только внутривентрально в дозе 4000 МЕ АБПК. Лечение начинали на вторые сутки после подтверждения диагноза перитонита, на вскрытии у выводимых из эксперимента крыс. Для исключения возможности повреждения внутренних органов при введении в брюшную полость препарата животных располагали вертикально, каудальным концом вверх. Наблюдение за животными осуществляли на протяжении 12 суток. Экспериментальную терапию проводили, начиная со вторых суток, в течение 10 суток. Вскрытие двух животных каждой группы проводили через каждые 48 часов.

Влияние АБПК на динамику массы тела опытных и экспериментальных животных представлено в табл. 5.6. На вторые сутки после инфицирования состояние всех экспериментальных животных ухудшалось: животные были вялыми, лежали, плохо пили воду из поилок, шерсть у отдельных животных

становилась тусклой. При взвешивании у всех животных отмечалось снижение массы тела по сравнению с исходными данными. У животных в I-ой группе отмечалось статистически достоверное снижение массы тела в ходе всего эксперимента.

Таблица 5.6

Влияние АБПК на изменение массы тела крыс с экспериментальным перитонитом

№ группы	Исходные показатели массы крыс, г	Масса тела экспериментальных животных, г			
		2 сут.	4 сут.	6 сут.	8 сут.
I	228,6±3,80	196,9±1,27 ^{**}	188,5±1,44 ^{**}	176,6±3,10 ^{**}	Гибель
II	229,5±3,80	199,2±3,11 [*]	211,6±4,12 [*]	217,9±3,51	226,7±3,81 [#]
III	228,9±3,41	200,5±3,11	219,3±2,91	225,7±3,20 ^{**}	230,5±2,81
IV	228,2±2,40	198,4±2,51	211,1±3,41 ^{*,**}	219,6±4,31	227,3±3,10 [#]

Примечание: * – различие достоверно ($p < 0,05$) относительно данных I – ой группы;

** – различие достоверно ($p < 0,05$) внутри каждой группы относительно исходных данных;

– различие достоверно ($p < 0,05$) относительно данных III – ей группы

После введения АБПК в дозе 4000 УЕ/мл не зависимо от способа его введения отмечалось улучшение общего самочувствия, все животные стали подвижны, активно принимают корм. Масса тела у крыс II-IV групп постепенно начинала возвращаться к исходным величинам. У крыс III-ей группы в конце эксперимента отмечалось статистически достоверное увеличение массы тела от животных II и IV групп. Приведенные в табл.5.6.данные указывают на то, что все животные, которым вводили АБПК хорошо переносили его введение.

Учитывая, что лейкоцитоз является одним из главных определяющих факторов реакций воспаления, у всех животных этих групп была проведена оценка общего количества лейкоцитов в ходе эксперимента. Полученные результаты представлены в табл. 5.7.

После внутрибрюшинного инфицирования всех животных смесью бактериальных культур – *E. coli* и *Staphylococcus spp.*, изолированных от больных с абдоминальными инфекциями, у всех животных отмечалось значительное увеличение количества лейкоцитов уже на вторые сутки моделирования экспериментального перитонита от $12,5 \times 10^9$ /л в начале эксперимента до $13,6 \times 10^9$ /л у инфицированных, что свидетельствовало о развитии воспалительной реакции.

Таблица 5.7

Содержание лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных (M ± m)

Группы экспериментальных животных	Количество лейкоцитов у животных в течение всего эксперимента, 10^9 /л			
	I	II	III	IV
Исходные данные до начала эксперимента	7,7 ± 0,61	7,9 ± 0,53	7,4 ± 0,73	7,2 ± 0,46
2 сутки эксп.	13,6 ± 0,77	12,8 ± 0,63**	12,5 ± 0,61**	12,6 ± 0,66#
4 сутки эксп.	15,1 ± 0,73	12,2 ± 0,14*,**	11,4 ± 0,47*,#	11,9 ± 1,56*,**
6 сутки эксп.	16,1 ± 0,69	11,7 ± 0,46#	11,1 ± 0,38*,#	11,1 ± 0,37#
8 сутки эксп.	гибель	9,0 ± 0,88	8,3 ± 0,45	9,1 ± 0,24

Примечание: * – различие достоверно ($p < 0,05$) с исходными данными внутри группы

** – различие достоверности ($p < 0,05$) с контрольной группой

– различие достоверности ($p < 0,005$) с контрольной группой

В динамике лечения АБПК у всех экспериментальных крыс общее количество лейкоцитов закономерно снижалось. Так, с момента инфицирования количество лейкоцитов крови крыс у животных I группы увеличилось с $13,6 \pm 0,77 \times 10^9$ /л до $16,1 \pm 0,69 \times 10^9$ /л. В тоже время, начиная с 4-х сут. наблюдения, у крыс III группы количество лейкоцитов снизилось до $11,4 \pm 0,47 \times 10^9$ /л, а к 8 сут до $8,3 \pm 0,45 \times 10^9$ /л. На всех сроках наблюдения, общее количество лейкоцитов в группах крови всех крыс леченых крыс было статистически значимо (табл. 5.7).

На четвертые сутки от начала лечения АБПК у животных отмечали улучшение общего самочувствия – они становились более активными, по сравнению с их состоянием на вторые сутки эксперимента. На восьмые сутки от начала эксперимента у всех животных, которым проводилась терапия АБПК, наблюдали значительное улучшение общего самочувствия, нормальную двигательную активность и возрастания потребления жидкости. При этом у животных получавших комбинированное введение АБПК динамика общего состояния была более ярко выражена.

При проведении аутопсии животных контрольной группы, которым АБПК не вводился, на 4 сутки эксперимента отмечали, что париетальная и висцеральная брюшина характеризовались тусклостью, гиперемией и отложением сгустков фибрина. Во всех отделах брюшной полости выявлялся мутный серозно-гнойный выпот объемом до 8 мл. Гистологически в париетальной брюшине находили выраженное воспаление гнойного характера. Визуально петли кишечника были вздуты и склеены между собой фибрином. Все эти факты свидетельствовали о состоянии выраженного перитонита. На 6 сутки исследований забор органов не проводили из-за высокой летальности животных. Этот показатель в контрольной группе на 5 сутки составил – 41,66%, на 6 сутки – 91,66% и на 7 сутки – 100%.

При вскрытии животных II, III и IV групп, подвергшихся лечению АБПК, на 6 сутки отмечали, что париетальная и висцеральная брюшина были гладкими, блестящими, а наличия отложений фибрина, спаек и выпота не определялось. У части животных (12,6%) при проведении гистологического исследования выявлялось умеренно выраженное воспаление гнойного характера (инфильтрация париетальной брюшины нейтрофилами), у остальных животных (87,4 %) воспалительных нарушений брюшины не отмечалось, а петли кишечника имели розовую окраску. В третьей группе, начиная с 4 суток, определялся стерильный выпот. Во второй и четверной группах стерильный выпот выявлялся, начиная с 6 суток. В группах животных, которым проводилось лечение АБП, летальность отсутствовала. При проведении гистологического исследования признаки гнойного воспаления в брюшине отсутствовали.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования продемонстрировали выраженную терапевтическую эффективность комплекса низкомолекулярных пептидов, синтезируемых лейкоцитами человека в процессе интерфероногенеза, при лечении экспериментального перитонита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериальные хирургические инфекции, несомненно, являются одной из самых актуальных проблем госпитальной хирургии. Наиболее часто (в 80% случаев) абдоминальные инфекции связаны с поражениями дистального отдела пищевода, инфицированными формами панкреонекроза, прободением органов желудочно-кишечного тракта, травматическими повреждениями органов брюшной полости, перитонитом различной этиологии [149]. К большому огорчению, смертность при этих патологических процессах не имеет тенденции к снижению и варьирует, по данным последних лет, от 19% до 70%. Эффективность лечения данных заболеваний зависит от своевременной диагностики и эффективного хирургического вмешательства, а при развитии абдоминальной инфекции – от правильно избранной и своевременно начатой антибактериальной терапии, значение которой нельзя недооценивать [136, 183].

В последние годы главное место в этиологии инфекционных заболеваний занимает грамположительная микрофлора, в том числе, бактерии рода *Staphylococcus*.

Несмотря на обширный перечень средств, используемых для лечения абдоминальных инфекций, одной из причин низкой эффективности современных курсов антибактериальной терапии является полиэтиологичность возбудителей. Также остро стоит проблема проявления побочных явлений антибактериальной терапии, а также развития резистентности бактерий к современным антибактериальным средствам и их токсичности [10, 52, 59, 66, 155, 165].

Таким образом, особенно важными является разработка и внедрение в медицинскую практику новых препаратов, обладающих, антибактериальной активностью.

Все вышесказанное определило поиск нового эффективного антибактериального препарата, не имеющего побочных действий, свойственных антибиотикам, обладающего иммунокорректирующей активностью и предназначенного для терапии ургентных инфекций. Исходя из физико-химических характеристик полученного на базе филиала ФГУП МЗ РФ НПО

«Микроген» «Пермское НПО Биомед» ассоциированного с интерферогенезом пептидного комплекса лейкоцитов и проведенными углубленными исследованиями его антибактериальных свойств [27, 28, 156], нами была предпринята попытка его более детального экспериментального изучения, что послужило основой для настоящего исследования.

Целью исследования явилась оценка возможностей повышения эффективности методов лечения абдоминальных хирургических инфекций путем использования препарата комплекса антибактериальных пептидов, синтезируемых и выделяемых лейкоцитами человека в среду, в процессе интерферогенеза.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи: а – изучить особенности микробного пейзажа больных с абдоминальной хирургической инфекцией в условиях многопрофильного стационара; б – определить уровень антибиотикочувствительности штаммов, выделенных у больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом; в – исследовать *in vitro* антибактериальное действие комплекса низкомолекулярных пептидов лейкоцитов на штаммы микроорганизмов, выделенных у больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом; г – разработать модель экспериментального перитонита с учетом особенностей микробного пейзажа при остром аппендиците, остром холецистите и остром панкреатите; д – провести оценку эффективности использования лейкоцитарного антибактериального пептидного комплекса, ассоциированного с процессом интерферогенеза, для подавления развития экспериментального перитонита у белых крыс.

Для решения поставленных задач было проведено обследование 244 больных с абдоминальной хирургической инфекцией, из которых больных острым аппендицитом было 149, острым холециститом – 58 и острым панкреатитом – 37.

Диагноз каждой патологии был поставлен на основании анамнеза (острое начало заболевания, выраженная интоксикация, боль в зоне пораженного органа,

диспепсические расстройства – тошнота, слабость, сухость во рту, повышение температуры тела, жидкий стул и рвота), объективных методов исследования, с использованием лабораторных и инструментальных способов.

Набор больных проводился методом случайной выборки по мере поступления. Всем пациентам назначалась базисная терапия: постельный режим на период лихорадки, диета, оральная или парентеральная детоксикация, антигистаминные и жаропонижающие препараты, витамины и антибактериальные средства.

Обследуемые пациенты были разделены на три нозологические группы:

1 группа – больные с острым аппендицитом;

2 группа – больные с острым панкреатитом;

3 группа – больные с острым холециститом.

Учитывая, что в клинике абдоминальных инфекций определяющими являются локализация болей и характерные симптомы, нами проведен их скрининг при исследуемых патологиях. Показано, что больные острым аппендицитом отмечали боли в животе в 100% наблюдений, тошноту – в 63,26%, и слабость – в 53,06%. Менее часто они отмечали сухость во рту – 22,44%, повышение температуры – в 18,36%, жидкий стул – в 12,24% и рвоту – в 6,12%. Определяли положительные симптомы Ровзинга, Ситковского, Бортемье-Михельсона, Воскресенского, Щеткина-Блюмберга и др.

У больных острым холециститом ведущими в клинической картине были боли в животе, которые встречались у 95,65% пациентов, тошнота – у 86,95%, сухость во рту – у 56,52%, слабость – у 47,82% и повышение температуры – у 17,39%. Рвота и желтушность кожи и склер встречались с одинаковой частотой, составлявшей 13,04%. При данной патологии отмечены положительные симптомы Ортнера, Кера, Мерфи, Мюсси-Георгиевского, Щеткина-Блюмберга и др.

Преобладающими симптомами у больных с острым панкреатитом были боли в животе – в 100% наблюдений, слабость – в 46,66%, тошнота – в 42%, рвота – в 33,33% и сухость во рту в 13,33%. Острый панкреатит характеризовали

местные симптомы Мондора, Грея-Тернера, Грюнвальда, Мейо-Робсона, Керте, Воскресенского, Щеткина-Блюмберга и др.

Анализ клинико-анамнестических данных наблюдаемых больных позволил сделать вывод о том, что острым аппендицитом и острым холециститом приблизительно одинаково часто страдают и мужчины и женщины, острым панкреатитом мужчины болеют в два раза чаще, чем женщины. Острый аппендицит чаще встречается в возрасте – 16-30 лет, холецистит – 60-70 лет, а панкреатит – 40-50 лет, что согласуется с имеющимися литературными данными [13].

Общую реакцию организма на воспаление у больных абдоминальными инфекциями характеризуют изменения в периферической крови (лейкоцитоз, ускоренное СОЭ). Эти изменения наиболее наглядны и чаще наблюдаются при экстренной хирургической патологии.

Нами проведен ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований больных этими заболеваниями за 2008 г. и 2012 г. Согласно полученным результатам, в 2008 году лейкоцитоз до лечения выявлен у 81,81% (9 из 11) пациентов с аппендицитом, после лечения лейкоцитоз сохранялся у 9,09% (1 из 11) пациентов. В абсолютных цифрах: содержание лейкоцитов до лечения – $11,7 \pm 0,65 \times 10^9/\text{л}$, после лечения – $6,9 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$). В 2012 году до лечения лейкоцитоз выявлен у 97,36% пациентов с аппендицитом (37 из 38), после лечения – у 2 из 38 пациентов.

В группе больных острым холециститом и острым панкреатитом лейкоцитоз до лечения выявлен у 100% пациентов, после лечения лейкоцитоз не отмечался, так как составлял менее $8,0 \times 10^9/\text{л}$.

Значительное ускорение СОЭ считается от 40-50 мм/час, в наших наблюдениях эти данные выявлены у больных с острым аппендицитом – 36,36% в 2008 г. и 31,57% в 2012 г., с острым холециститом – 25,0% в 2008 г. и 33,33% в 2012 г., а с острым панкреатитом – 50,0% в 2008 г. и 58,33% в 2012 г.

С целью подтверждения диагноза, снижения количества диагностических ошибок и уменьшения необоснованных операций некоторым пациентам на

госпитальном этапе проводилось экстренное ультразвуковое исследование (УЗИ) и диагностическая лапароскопия.

Информативность диагностической лапароскопии при абдоминальной патологии составляла 100%. Однако необходимо учитывать возможность возникновения осложнения при данном исследовании. Лапароскопия – это инвазивный метод исследования и при его проведении возможно появление самых разнообразных осложнений, что требует всесторонней оценки целесообразности и безопасности этой процедуры.

При подборе оптимальной схемы лечения особое внимание уделялось наличию положительных результатов микробиологических исследований экссудатов брюшной полости. Анализ бактериального спектра микроорганизмов при остром аппендиците показал, что наиболее часто высеивались бактерии рода *E. coli* – 30,52% и *Staphylococcus* – 20,08%. Частота выявления смешанной инфекции составляла 46,98% от общего числа обследованных больных.

Частота выявления монокультур и смешанной инфекции при остром холецистите была одинакова и составляла 50% в обоих вариантах. Всего было выявлено 106 различных штаммов, что позволило выявить среднее количество высеиваемых культур на одного больного – 1,82. Наиболее часто при остром холецистите высеивались штаммы *E. coli* – 53,77%.

Анализом распределения патогенной микрофлоры в группе больных острым панкреатитом обнаружено, что среди 37 пациентов наблюдалось преимущественно выделение бактериальных монокультур в 51,35% случаев, при этом частота смешанной инфекции составляла 48,65%. При остром панкреатите было высеяно 63 бактериальных штамма, а среднее количество высеиваемых культур на одного больного составило – 1,7.

Следующим этапом настоящего исследования была оценка распределения микрофлоры у больных с острым течением воспалительного процесса при абдоминальной инфекции по различным нозологическим формам, из расчета числа пациентов, в образцах выпота брюшной полости, в которых выявлен рост микроорганизмов.

Результаты сравнительного анализа распределения микроорганизмов больных острым аппендицитом и острым холециститом показали, что этиологически значимыми для данных заболеваний являются бактерии *E. coli*, выделяемые в 30,52% и 53,77 % соответственно. При остром панкреатите наиболее часто выделялись бактерии *Streptococcus spp.* – до 33,33%.

Проведенный микробиологический анализ показывает, что наиболее часто из экссудатов больных абдоминальной инфекцией высеваются бактерии рода *E. Coli*. Доля этих бактерий в структуре абдоминальных микроорганизмов составляет не менее 36,36% [26]. Значимыми в этиологическом плане являются также бактерии родов *Streptococcus spp.* (19,37%) и *Staphylococcus* (19,13%).

Следующим этапом исследования было сравнительное изучение чувствительности штаммов бактерий, изолированных в 2008 г. и 2012 г. из операционного поля пациентов с абдоминальной инфекцией, к традиционно применяемым антибиотикам: амикацину, амоксиклаву, гентамицину, цефоперазон-сульбактаму, цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину, ампициллину, линкомицину, эритромицину, ванкомицину, оксациллину, левомицетину и левофлоксацину. Всего было изучено 123 штамма, выделенных из абдоминальных экссудатов наблюдаемых больных: 52 штамма, относящихся к роду *Escherichia coli*, 35 – *Staphylococcus spp.* и 36 – *Streptococcus spp.*

Определение антибиотикочувствительности выделенных штаммов показало, что в настоящее время подобрать «универсальный» антибиотик, который бы мог служить уникальным средством антимикробной терапии абдоминальной инфекции, крайне сложно. Так, бактерии рода *Escherichia coli*, наиболее чувствительны к цефоперазон-сульбактаму и амикацину, а рода *Staphylococcus spp.* – к гентамицину и ванкомицину. Эти данные свидетельствуют о том, что проблема поиска новых эффективных и нетоксичных антибактериальных препаратов для лечения инфекций при абдоминальной патологии является весьма актуальной.

Следующим этапом исследований явилась оценка антимикробного действия АБПК на рост культур микроорганизмов, изолированных от больных абдоминальной хирургической инфекцией.

Полученные результаты показали, что для полного подавления роста микроорганизмов, выделенных из экссудатов больных с абдоминальной хирургической инфекцией, обусловленной *Staphylococcus spp.* при исходной концентрации 1×10^9 микробных клеток в 1 мл, необходимы концентрации пептидного комплекса, равной 1000 УЕ/мл, в то время, как частичное осложнение инфекции, вызванной *Escherichia coli* в концентрации 1×10^9 микробных клеток в 1 мл, по-видимому, может быть достигнуто при значительно больших концентрациях пептидного комплекса – 4000 УЕ/мл.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что наиболее часто встречающиеся представители микрофлоры – бактерии рода *Escherichia* и *Staphylococcus* являются чувствительными к действию комплекса катионных пептидов, в среднем, в 100% случаев.

Доклиническое изучение и апробация новых методов оценки эффективности разрабатываемых антибактериальных препаратов актуальна в настоящее время. На основании изучения литературы, описывающей модели острого перитонита, обусловленного введением в брюшную полость экспериментальных животных вирулентных штаммов микробов, нами была предпринята попытка создания модели экспериментального перитонита на основе смеси бактерий, полученных от больных абдоминальной инфекцией. В наших экспериментах день введения бактериальных суспензии в брюшную полость считали нулевым днем эксперимента. Животные были разделены на 8 групп по 12 животных в каждой. В первой группе – контрольной, не проводилось никаких манипуляций. Животным со второй – восьмой групп вводили 2,0 мл смеси бактериальных культур в суммарной дозе от 2 млрд. микр. тел до 8 млрд. микр. тел на 100 г массы животных.

Моделирование перитонита проводили по следующей методике. Лабораторному животному однократно под легким эфирным наркозом

интраперитонеально вводили свежеприготовленную бульонную смесь бактериальных культур *Escherichia coli* (75%) и *Staphylococcus spp.*(25%), изолированных из брюшной полости пациентов с клинической картиной перитонита, подтвержденного лабораторными данными. Одновременно с этим вводили питательную среду, на которой культивировали эти бактерии из расчета суммарного объема 20 мл на 1 кг массы животного.

Результаты исследований показали, что разработанная нами модель острого разлитого перитонита у крыс путем инфицирования брюшины введением взвеси микробных культур *Escherichia coli* (75%), *Staphylococcus spp.*(25%), выделенных от больных с острым аппендицитом, отличающаяся тем, что через иглу в брюшную полость вводят микроорганизмы родов *Escherichia* – $4,5 \times 10^9$ микробных тел / мл., *Staphylococcus* – $1,5-10 \times 10^9$ микробных тел на 100 г. массы крысы в объеме 1,0-3,0 мл с одновременным введением культуральной питательной среды в количестве не более 2,0 мл, может быть использована для оценки клинической эффективности исследуемого антибактериального препарата.

Заключая этот раздел исследований, необходимо отметить, что нами разработан новый способ моделирования острого перитонита на экспериментальных животных с использованием взвесей микробных культур, выделяемых от больных острым аппендицитом и оформлена заявка на Патент РФ № 2015111066 от 26.03.2015г. [54].

Изучение клинической эффективности АБПК на модели экспериментальных инфекций у животных являлось основной целью выполнения работы. Для изучения эффективности АБПК в дозе 4000 МЕ *in vivo* было проведено сравнение нескольких способов его введения – внутримышечного, внутриабдоминального и комплексного (внутримышечного и внутриабдоминального). Лечение начинали на вторые сутки после подтверждения диагноза перитонита.

Изучено влияние АБПК на динамику массы тела экспериментальных животных. На вторые сутки после инфицирования состояние всех экспериментальных животных ухудшалось: животные лежали, были вялыми,

плохо пили воду и отмечалась тусклость шерсти у отдельных животных. При взвешивании у всех животных отмечалось снижение массы тела в сравнении с исходными величинами. У I-ой группы животных исходный вес составил $228,6 \pm 3,80$ г, на вторые сутки $196,9 \pm 1,27$ г; во II-ой и III-ей группах он аналогично был $229,5 \pm 3,80$ г и $199,2 \pm 3,11$ г; $228,9 \pm 3,41$ г и $200,5 \pm 3,11$ г.

Не зависимо от способа введения АБПК на четвертые сутки эксперимента у животных отмечали улучшение общего самочувствия, все животные стали подвижны, активно поедали корм. Масса тела у крыс II-IV групп постепенно возвращалась к исходным величинам. В ходе исследований было также установлено, что животные, которым вводили АБПК, хорошо переносили препарат.

Учитывая, что лейкоцитоз является одним из главных определяющих признаков воспаления, нами была проведено изучение динамики общего количества лейкоцитов в ходе эксперимента. В процессе лечения АБПК у всех экспериментальных крыс общее количество лейкоцитов закономерно снижалось. Так, с момента инфицирования количество лейкоцитов крови крыс у животных I группы увеличилось с $13,6 \pm 0,77 \times 10^9$ /л до $16,1 \pm 0,69 \times 10^9$ /л. В тоже время, начиная с 4 суток наблюдения, количество лейкоцитов у крыс III группы снизилось до $11,4 \pm 0,53 \times 10^9$ /л, а к 8 сут. – до $8,3 \pm 0,45 \times 10^9$ /л. Во все сроки наблюдения общее количество лейкоцитов в крови крыс III группы было статистически значимо ниже, чем у животных II и IV групп.

Проведенных экспериментальных исследований показали возможность уменьшения тяжести перитонита после введения лейкоцитарного пептидного комплекса. По результатам исследования оформлена заявка на патент РФ № 2015150010 от 20.11.2015 г. [55].

С определенной долей вероятности можно предполагать, что полученный из лейкоцитов человека, катионный пептидный комплекс, обладает выраженным иммуномодулирующим действием, потому, что многие противомикробные пептиды являются многофункциональными иммуномодуляторами [136, 181].

ВЫВОДЫ

1. Превалирующими в микробном пейзаже больных абдоминальной хирургической инфекцией в условиях многопрофильного стационара являются бактерии родов *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.*, доля которых в структуре микроорганизмов, выделяемых из брюшной полости при этих состояниях, составляет не менее 36,36%, 19,37 и 19,13% соответственно.

2. Показано, что с 2008 г. по 2012 г. произошло снижение чувствительности к антибиотикам *Escherichia coli* на 7,32%, *Staphylococcus spp.* – на 14,37% и *Streptococcus spp.* – на 26,23%.

3. Установлена антибактериальная чувствительность комплекса низкомолекулярных лейкоцитарных пептидов в отношении родов *Escherichia* и *Staphylococcus*, выделенных из экссудатов больных с острым аппендицитом, острым холециститом и острым панкреатитом.

4. Разработанная оригинальная экспериментальная модель острого разлитого перитонита позволяет проводить оценку эффективности различных антимикробных препаратов.

5. Препарат комплекса низкомолекулярных антибактериальных пептидов лейкоцитов человека обладает высокой антимикробной активностью и клинической эффективностью, проявляющейся в снижении симптомов интоксикации и летальности при экспериментальном перитоните.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для эффективного лечения острых хирургических заболеваний органов брюшной полости необходима идентификация микроорганизмов из экссудата очага воспаления и определение их чувствительности к антибиотикам.
2. При назначении антибиотикотерапии следует учитывать, что бактериальные монокультуры выделяются у 51,35%, а смешанная микрофлора – у 48,65% пациентов.
3. Для оценки эффективности способов лечения перитонита в эксперименте мы рекомендуем простую модель воспроизводства патологического процесса с использованием взвеси микробных культур, выделяемых из экссудата больных перитонитом.
4. Низкомолекулярные пептидные соединения, выделяемые лейкоцитами в процессе интерферогенеза, обладают выраженной терапевтической эффективностью при экспериментальном перитоните и могут быть рекомендованы для разработки рекомендаций по их клиническому использованию.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акжигитов Г.Н. Острый аппендицит / Г.Н. Акжигитов, И. Белов // Медицинская газета. – 2004. – № 73. – С. 6 – 7.
2. Антонов Д.В. Комплексное лечение гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей с использованием полисорба, стафилококкового бактериофага и озона в газовой среде (экспериментально-клиническое исследование). Автореф. диссертационного соискания канд. мед. наук. – Пермь, 1999. – 20 с.
3. Ашурметов Р.И. Моделирование перитонита. / Р.И. Ашурметов, Ш.М. Сейдинов, Б.К. Жунисов и др. // Инновационные технологии в хирургии. 2010.
4. Бактериофаготерапия урологических инфекций. Метод. рек. № 96/53. – М. Минздравмедпром РФ, 1996. – С. 7.
5. Бараев Т.М. Роль лапароскопии в реализации бережливой тактики при остром аппендиците. / Т.М. Бараев // Эндоскопическая хирургия. – 2000. – №3. – С.8 – 10.
6. Батыршин И.М. Принципы оптимизации антибактериальной и иммунокорректирующей терапии у больных с вторичным и третичным перитонитом. Автореф. канд. мед. наук, Санкт–Петербург, 2015. – 23 с.
7. Бебезов Х.С. Клиника и осложнения острого аппендицита. / Х.С. Бебезов, Н.И. Ахунбаева, Б.Х. Бебезов, С.Б.Боронбаев // Учебно–методическое пособие. Бишкек, 2005. – 26с.
8. Белобородова Н.В. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с хозяином. / Н.В. Белобородова, Г.А. Осипов // Вестник РАМН. – 1999. – Т. 7, № 16 – С. 25 – 31.
9. Белобородова Н.В., Попов Д.А. Поиск идеального биомаркера бактериальных инфекций. / Н.В. Белобородова, Д.А. Попов // Клиническая анестезиология и реаниматология 2006. – № 3. – С.30 – 39.
10. Богомолова Н.С. Перспективы использования нового цефалоспоринового антибиотика IV поколения в хирургии / Н.С. Богомолова, Т.Д. Орешкина, Л.В. Большаков // Антибиотики и химиотерапия. 2003. – Т. 48, № 7. – С. 20 – 23.

11. Богомякова Т.М. Хирургическое лечение больных третичным перитонитом, осложненным тяжелым абдоминальным сепсисом / Т.М. Богомякова // Автореф. канд. мед. наук, Екатеринбург, 2011. – 25 с.
12. Боровкова Н.В. Методологические основы количественной оценки иммунного статуса у больных хирургического профиля с синдромом системной воспалительной реакции / Н.В. Боровкова, В.Б. Хватов // Вестник службы крови крови. – 2007. – № 3. – С.9 – 14.
13. Бородач В.А. Хирургическое лечение деструктивных форм острого холецистита у больных старше 80 лет / В.А. Бородач, С.Г. Штофин, Д.Н. Бобохидзе и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2013. – Т. 18, № 4. – С. 78 – 82.
14. Бугаев С.А. Спонтанный бактериальный асцит-перитонит у больных циррозом печени. Автореф. канд. мед. наук, Санкт-Петербург, 1997. – 22 с.
15. Будашев В.П. Моделирование перитонита в условиях эксперимента. / В.П. Будашев, Е.Г. Григорьев, Е.Н. Цыбиков, С.А. Лепехова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 6 (58). – С.143 – 147.
16. Бухарин О.В. Роль тромбоцитарного катионного белка (бета-лизина) в противоинфекционной защите / О.В. Бухарин, К.Г. Сулейманов // Микробиология. – 1995. – Т. 64, №2. – С. 279 – 284.
17. Бухарин О.В. Роль тромбоцитарного катионного белка (бета-лизина) в проинфекционной защите / О.В. Бухарин, К.Г. Сулейманов // Журнал микроб. эпидем. и иммунолог. – 1997. – № 1. – С. 3 – 6.
18. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий // О.В. Бухарин. – М.: Медицина, 1999. – 367 с.
19. Бухарин О.В. Влияние *in vitro* препарата лейкоцитарного катионного белка «Интерцид» на *Escherichia coli* / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – № 1. – С. 16 – 20.
20. Буянов В.М. Экспериментальная модель острого гнойного перитонита / В.М. Буянов, Г.В. Роман, Г.Г. Белоус // Хирургия. – 1997. – № 1. – С. 72 – 73.

21. Быков А.В. Острый холецистит у мужчин: актуальность проблемы. / А.В. Быков, А.Ю. Орешкин // Современные проблемы науки и образования // 2013. – № 2. – С. 1 – 8.
22. Веслополова Е.Ф. Микрометод определения численности колониеобразующих микроорганизмов / Е.Ф. Веслополова // Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 2. – С. 279 – 284.
23. Винницкая Е.В. Спонтанный бактериальный перитонит у больных циррозом печени. Автореф. док. мед. наук. – Москва, 2009. – 37 с.
24. Власов В.В. Ложное ущемление грыжи белой линии живота с флегмоной грыжевого мешка, обусловленное острым гангренозным аппендицитом / В.В. Власов, С.В. Калиновский // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2014. – Т. 173, № 5. – С. 80 – 82.
25. Власов А.П. Аппендицит / А.П. Власов, В.В. Сараев // Мордов. ун-та, 2005. – 304с.
26. Волков А.Г. Микробный пейзаж абдоминальных хирургических инфекций у больных многопрофильного стационара / А.Г. Волков, М.Ф. Заривчацкий // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т 31, № 1. – С. 53 – 57.
27. Волкова Л.В. Теоретическое обоснование антибактериального действия пептидного комплекса, ассоциированного с процессом интерферогенеза / Л.В. Волкова, П.В. Косарева, Л.А. Платова и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2004. – Т. 19, № 3. – С. 82 – 85.
28. Волкова Л.В. Антибактериальная активность пептидного комплекса, выделенного из препаратов лейкоцитарного интерферона / Л.В. Волкова, П.В. Косарева, В.Ф. Попов и др. // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2005. – № 5. – С. 54 – 57.
29. Воробей А.В. Выбор метода хирургического лечения хронического панкреатита / А.В. Воробей, А.Ч. Шулейко, Ю.Н. Орловский и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова – 2014. – Т. 173, № 5. – С. 36 – 43.
30. Габриэлян Н.И. Чувствительность нозокомиальной микрофлоры, циркулирующей в трансплантационной клинике, к лечебным бактериофагам / Н.И. Габриэлян, Е.М. Горская,

Т.С. Спирина и др. // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2004. – № 6. – С. 6 – 10.

31. Гаин Ю.М. Экспериментальное и клиническое обоснование современных принципов лечения перитонита. Дис. д-ра мед. наук. – Мн, 1999. – 288 с.

32. Гаин Ю.М. Иммунный статус при перитоните и пути его патогенетической коррекции / Ю.М. Гаин. // Минск: Юнипресса, 2001. – 255 с.

33. Гельфанд Б.Р. Антибактериальная терапия при отдельных формах абдоминальной хирургической инфекции. / Б.Г. Гельфанд, В.А. Гологорский, С.З. Бурневич и др. // – Ж. Consilium medicum. – 2000. – № 4. – С. 21 – 26.

34. Гельфанд Б.Р. Селективная деконтаминация желудочно-кишечного тракта при панкреонекрозе / Б.Р. Гельфанд, С.З. Бурневич, А.Н. Брюхов и др. // Вестник интенсивной терапии. – 2001. – №1. – С. 20 – 24.

35. Гельфанд Е.Б. Абдоминальный сепсис при перитоните: клиническая характеристика и эффективность антибактериальной терапии. Автореф. канд. мед. наук. М. 1999. – 45 с.

36. Глушкина В. М. Острый панкреатит. – Л.: «Медицина», 1972. – 207 с.

37. Глухов А.А. Способ моделирования острого перитонита / А.А. Глухов, И.Н. Банин // Патент РФ №2151427, дата публикации 20.06.2000. – 3 с.

38. Глухов А.А. Влияние температурного режима санации брюшной полости на течение синдрома постсанационной интоксикации при остром распространенном перитоните // Вест. Хирургии им. Грекова. – 2006. – Т. 165, № 3. – С. 98 – 102.

39. Гольцов В.Р. Гнойно-некротический парапанкреатит: эволюция взглядов на тактику лечения / В.З. Гольцов, В.Е. Савелло, А.М. Бакунов и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. – Т. 20, № 3. – С. 75 – 83.

40. Горлов А.В. Оптимизация лечебно-диагностической тактики у больных острым аппендицитом с применением видеоэндоскопических технологий. Автореф. канд. мед. наук., Воронеж. – 2008. – 21 с.

41. Гостищев В.К. Панкреонекроз и его осложнения, основные принципы хирургической тактики / В.К. Гостищев, В.А. Глушко // Хирургия. – 2003. – № 3. – С. 50 – 54.

42. Гриценко В.А. Устойчивость *Escherichia coli* к лейкоцитарному катионному белку «интерциду» / В.А. Гриценко, М.Г. Шухман // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунол. – 2000. – № 4. – С. 71 – 76.

43. Грищук В.В. Комплексное лечение панкреонекроза с применением рациональной хирургической тактики, секстафага и энтеральной нутритивной поддержки / В.В. Грищук, С.А. Блинов // Пермский медицинский журнал. – 2009. – Т. 26, – № 3. – С. 15 – 18.

44. Деллинджер Э.П. Инфекционные осложнения панкреатита / Э.П. Деллинджер // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Том 5, – № 2. – С. 108 – 118.

45. Диагностика и лечение острого панкреатита (Российские клинические рекомендации) г. Санкт-Петербург, 30 октября 2014 г. – 32с.

46. Домникова Н.П. Частота выделения и антибиотикочувствительность грамотрицательной микрофлоры у пациентов с гемобластозами / Н.П. Домникова, Е.В. Брякотнина, В.Н. Ильина // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2004. – № 3. – С. 3 – 6.

47. Доронина Н.К. Состояние гемодинамики, газообмена и дыхательной функции крови при заболевании острым гнойным перитонитом: Автореф. дисс. докт. мед. наук. Львов, 1962. – 16 с.

48. Д'Эррелем. Бактериофаг / Д'Эрелль // – Гос. Изд., 1926. – 222 с.

49. Енсебаев Е.Ж. Применение антибактериального препарата Бализ-2 при лечении разлитых форм перитонита (Экспериментально-клиническое исследование). Автореф. дис. канд. биол. Наук Омск, 1992. – 15с.

50. Ефименко Н.А. Антимикробная терапия интраабдоминальных инфекций (По материалам рекомендаций Североамериканского общества по хирургическим инфекциям) / Н.А. Ефименко, А.С. Базаров // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – № 2, Том 5. – С.153 – 166.

51. Желудева И.В. Обоснование выбора бактериофагов для лечения воспалительных заболеваний пародонта / И.В. Желудева, Е.Л. Жиленков, Л.Н. Максимовская и др. // Пародонтология. – 2002. – № 1 – 2. – С. 46 – 50.

52. Зайцев А.А. Новые возможности антибактериальной терапии инфекций в

хирургической практике / А.А. Зайцев, О. И. Карпов, А. Ю. Стрекачев // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – Т. 48. – С. 5.

53. Заривчацкий М.Ф. Бактериофаги в комплексном лечении больных с гнойно-септическими заболеваниями в хирургии / М.Ф. Заривчацкий, Л.П. Механошина, И.Н. Мугатаров // Terra Медика Нора. – 1999. – №1. – С. 13 – 14.

54. Заривчацкий М.Ф. Способ моделирования острого перитонита у крыс / М.Ф. Заривчацкий, А.Г. Волков, Л.В. Волкова и др. // Заявка на патент РФ № 2015111066 от 26.03.2015. – 5 с.

55. Заривчацкий М.Ф. Способ профилактики спонтанно возникающего острого перитонита у экспериментальных животных / М.Ф. Заривчацкий, А.Г. Волков, Л.В. Волкова и др. // Заявка на патент РФ № 2015150010 от 20.11.2015. – 6 с.

56. Илларионова О.С. О профилактике и лечении острого разлитого перитонита новым отечественным антибиотиком - биомицином. Автореф. канд. дисс., Л., 1955.

57. Исмагилов Ф.А. Способ моделирования острого перитонита. Патент РФ 2383058. – опубликован 27.02.2010.

58. Канорский И.Д. Течение раневого процесса на фоне фаготерапии хронического остеомиелита / И.Д. Канорский, А.Г. Ханин, З.Ф. Василькова и др. // Хирургия. – 1977. – №1. – С. 61 – 65.

59. Кеворков Н.Н. иммунотерапия в комплексном лечении хронического воспалительного процесса различной локализации / Н.Н. Кеворков, Б.А. Бахметьев, В.А. Черешнев // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 321.

60. Ким И.А. Место и возможности длительной внутриартериальной и внутриворотальной катетерной терапии в комплексном лечении острых разлитых перитонитов: (Клин. – эксперим. исслед.). Автореф. дис канд. мед. наук. – Ташкент. 1992. – 15 с.

61. Кишкун А.А. Современные методы диагностики и оценки эффективности лечения инфекции, вызванной *Helicobacter pylori* (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2002. – № 8. – С. 41 – 46.

62. Козлова Ю.Н. Строение печени, селезенки и лимфатических узлов при введении специфического бактериофага для коррекции пневмонии, вызванной

PSEUDOMONAS AERUGINOSA. Автореф. диссертации на соискание учен. степени канд. биол. наук. – Новосибирск, 2014. – 22 с.

63. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения / В.Н. Кокряков // СПб: Наука. 1999. – 162 с.

64. Коробов В.П. Изучение антибактериального действия препаратов интерферона / В.П. Коробов, Л.И. Малеева, В.П. Трутко и др. // Естественные науки на службе здравоохранения. Сб. статей. – Пермь, 1985. С. 28 – 29.

65. Коробов В.П. Изменение антибиотикочувствительности стафилококков под действием препаратов интерферона / В.П. Коробов, А.А. Еремина, В.П. Кузнецов // Физиология и биохимия микроорганизмов: Сб. статей. – Екатеринбург, 1992. – С. 92 – 96.

66. Коробов В.П. Изменение антибиотикочувствительности стафилококков в условиях реализации эффекта пептидного антибактериального фактора / В.П. Коробов, А.В. Титова, Л.М. Лемкина, И.И. Механошина // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. – Т. 47, № 2. – С. 11 – 15.

67. Косарева П.В. Клинико-микробиологические аспекты инфекций мочевой системы у детей и действие низкомолекулярного пептидного комплекса на выделенные от больных урокультуры. Автореф. диссертации на соискание учен. степени канд. мед. наук. – Пермь, 2004. – 24 с.

68. Кост, Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. / Е.А. Кост // – М.: Медицина, 1975. – 360 с.

69. Красильников И.В. Применение бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития. / И.В. Красильников, К.А. Лыско, А.К. Лобастова // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – №2. – С. 33 – 37.

70. Кривецкий В.В., Кругляк А.А., Малеванная Е.П. и др. Способ моделирования перитонита. Патент РФ 1545243.

71. Кузнецов В.П. Антистафилококковая активность в препаратах интерферона / В.П. Кузнецов, В.С. Зуева, О.А. Митренко и др. // Антибиотики и химиотерапия. — 1982. – № 7. – С. 50 – 53.

72. Кукош М.В. Острый холецистит / М.В. Кукош, А.П. Власов // М. Наука, 2009. – 308 с.

73. Лазарева Е.Б. Бактериофаги для лечения и профилактики инфекционных заболеваний / Е.Б. Лазарева // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – 48. – № 1. – С. 36 – 40.

74. Лазаренко В.А. Экспериментальная модель распространенного калового перитонита / В.А. Лазаренко, В.А. Липатов, Ю.Ю. Блинков, Д.В. Скориков // Курск. науч. - практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2008. – № 4. – С. 128 – 132.

75. Лахно В.М. Применение поливалентного пиобактериофага при хирургическом лечении нагноения операционных ран в экстренной хирургии / В.Н. Лахно, В.Н. Бородуновский // III Нац. Конгресс по профилактической медицине и валеологии. – СПб. – 1996. – С. 92 – 93.

76. Лахно В.М. Применение фаготерапии в хирургической практике / В.Н. Лахно, В.Н. Бородуновский // Вестник хирургии. – 2001. – №1. – С. 122 – 125.

77. Меладзе Г.Д. Эффективность стафилококкового бактериофага при лечении гнойных заболеваний легких и плевры / Г.Д. Меладзе, М.К. Мебуке, Н.Ш. Ихетия и др. // Грудная хирургия. – 1982. – № 1. – С. 53 – 56.

78. Малеева Л.И. Нарушение метаболизма бактерий под действием интерферона / Л.И. Малеева, В.П. Коробов, С.А. Печеркина // Регуляция микробного метаболизма факторами внешней среды: Сб. статей. – 1982. – С. 78 – 79.

79. Малеева Л.И. Влияние препарата интерферона на повышение чувствительности бактерий к антибиотикам / Л.И. Малеева, В.В.Сергеев, С.А. Печеркина и др. // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – №11. – С. 920 – 923.

80. Мелехин С.В. Влияние антибактериального пептидного комплекса на морфометрические параметры и клеточный состав органов иммунной системы у лабораторных животных / С.В. Мелехин, Н.И. Гуляева, Е.А. Березина, Л.В. Волкова // Материалы Международной научно-практической телеконференции «Актуальные проблемы современной науки» – Томск, 2012. – Т. I, № 1. – С. 34 – 36.

81. Мельникова О.А. Современные препараты для лечения ОРВИ и гриппа /О.А. Мельникова, Л.В.Аверкиева // Лечащий врач. 2004. – № 8. – С. 40 – 44.

82. Мизгирев Д.В. Осложнения и летальность при миниинвазивном лечении острого некротического панкреатита / Д.В. Мизгирев, Б.Л. Дуберман, А.М. Эпштейн и др. // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 66 – 71.

83. Мирошниченко А.Г. Влияние некоторых антиоксидантов на течение экспериментального перитонита / А.Г. Мирошниченко, В.М. Брюханов, Л.Ю. Бутакова и др. // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9 (часть 6). – С. 1057 – 1060.

84. Михайлова Е.Г. Применение препаратов с бактериофагами при лечении воспалительных заболеваний пародонта / Е.Г. Михайлова, И.С. Копецкий // *Здоровье и образование в XXI веке*. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 265.

85. Михайлусов С.В. Миниинвазивные вмешательства под контролем УЗИ при панкреонекрозе / С.В. Михайлусов, Е.В. Моисеевкова, Р.Ю. Тронин // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 72 – 78.

86. Мустафин Р.Р. Хирургический алгоритм лечебной программы вторичного распространенного гнойного перитонита / Р.Р. Мустафин, А.А. Иванович, А.Ю. Анисимов // *Вестник современной клинической медицины*. – 2013. – Т. 6, № 5. – С. 53 – 57.

87. Мороз В.В. Сепсис: Клинико-патофизиологические аспекты интенсивной терапии: рук-во для врачей. / В.В. Мороз, В.Н. Лукач, Е.М. Шифман и др. // Петрозаводск: Интелтек, 2004. – 291 с.

88. Морозов П.Н. Патоморфология экспериментального перитонита. В кн.: *Актуальные вопросы экспериментальных и клинических исследований*. М., 1983, с. 67 – 69.

89. Никонов В.М. Местная детоксикация в комплексном лечении разлитого аппендикулярного перитонита у детей. Автореф. канд. диссертации, М., 1988. – 19 с.

90. Олифирова О.С. Диагностические и тактические ошибки при остром аппендиците / О.С. Олифирова // *Учебное пособие для интернов*, Благовещенск, 2010. – с. 23.

91. Парфенюк Р.Л. Микробиологические основы пероральной фаготерапии гнойно-воспалительных заболеваний. Автореф. дис. канд. биол. наук / Р.Л. Парфенюк. – Москва, 2004. – 24 с.

92. Печеркина С.А. Антибактериальное действие препарата интерферона, спектр действия / С.А. Печеркина, Л.И. Малеева // Журн. микроб. эпидем. и иммунолог. – 1982. – № 10. – С. 77 – 79.

93. Приказ МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждениях.

94. Рейс А.Б., Рейс Б.А. Способ моделирования острого разлитого перитонита у крыс. – Приоритет от 26.02.2010. – Патент РФ 2427925.

95. Ременник С.С. К вопросу о создании экспериментальной модели перитонита / С.С. Ременник // Здравоохр. Туркменистана. 1965. – № 7. – С. 21 – 25.

96. Савельев В.С. Абдоминальная хирургическая инфекция: клиника, диагностика, антимикробная терапия / В.С. Савельев, Б.Г. Гельфанд // Практическое руководство. – М.: Литтерра, 2006. – 168 с.

97. Сажин А.В. Клиничко-морфологические аспекты хронического аппендицита / А.В. Сажин, С.В. Мосин // Хирургия. – 2007. – №12. – С. 50 – 62.

98. Семенюк А.А., Новосельцев А.В., Чумаков П.А. и др. Способ моделирования перитонита у крыс. – Приоритет 2008. – Патент РФ 2376648.

99. Сидоренко С.В. Результаты многоцентрового исследования чувствительности стафилококков к антибиотикам в Москве и Санкт-Петербурге / С.В. Сидоренко, С.П. резван. С.А. Грудинина и др. // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т. 43, № 7. – С. 15 – 25.

100. Скала Л.З. Практические аспекты современной клинической микробиологии. / Л.З. Скала, С.В. Сидоренко, А.Г. Нехорошева //М.: Лабинформ, 1997. – 184 с.

101. Сковлев С.В. Абдоминальные инфекции: значение анаэробной микрофлоры в обосновании режимов эмпирической абдоминальной терапии. / С.В. Сковлев // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 15. – С. 1066 – 1068.

102. Субботин А.В. Оценка фагочувствительности гноеродной микрофлоры при инфекционном панкреонекрозе / А.В. Субботин, М.У. Функлер, М.Г. Урман, Э.С. Горовиц и др. // Иммунология вчера, сегодня завтра: Материалы научно – практической конференции – Пермь, 2005. – С. 229 – 233.
103. Субботин А.В. Применение секстафага в комплексной антибактериальной терапии инфекционного панкреонекроза / А.В. Субботин, Е.В. Функлер, М.Г. Урман, Э.С. Горовиц и др. // Здоровье и образование: Материалы международной научно – практической конференции – Пермь, 2006. – С. 191 – 197.
104. Струкова А.И. Острый разлитой перитонит / А.И. Струкова, В.И. Петрова, В.С. Паукова / М.: Медицина, 1987. – С. 190 – 192.
105. Тиммерман У.А. Стандартизация методов определения чувствительности микробов / У.А. Тиммерман // Всемирная организация здравоохранения, серия технических докладов № 210; второе сообщение Комитета экспертов по антибиотикам. – Женева, 1961. – 28 с.
106. Томнюк Н.Д. Перитонит, как одна из основных причин летальных исходов / Н.Д. Томнюк, Е.П. Данилина, А.Н. Черных и др. // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 10. – С. 81 – 84.
107. Тульский В.С. Разработка фаговых препаратов для профилактики и лечения гингивита и пародонтита / В.С. Тульский, С.А. Чубатова, Г.В. Кузнецова и др. // Вакцинология, 2006. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней. Матер. Всеросс. научно – практич. конфер. – Москва, 2006. – С. 94.
108. Урман М.Г. Оптимизация антибактериальной терапии при инфицированном панкреонекрозе / М.Г. Урман, Э.С. Горовиц, А.В. Субботин и др. // Здоровье и образование: Матер. Междунар. научно - практ. конфер. – Пермь, 2006. – С. 191 – 197.
109. Фавстов, В.В. К вопросу о создании экспериментальной модели перитонита / В.В. Фавстов // Актуальные проблемы внутренней медицины и стоматологии. СПб., 1997. – С. 140.

110. Федосеев А.В. Фаговая терапия: Комплексный подход в антибиотикопрофилактике гнойных осложнений панкреонекроза / А.В. Федосеев, Д.В. Карапыш, А.Я. Сыпченко, Н.Е. Шугар // МХЖ. – 2008. – №3. – С. 56 – 59.
111. Федоров В.Д. Предоперационная антибиотикопрофилактика в абдоминальной хирургии / В.Д. Федоров, В.Г. Плешкова, Л.С. Страчунский // Пособие для врачей г. Москва. – 2004. – с. 3.
112. Филатова Л.Б. Антибактериальное действие катионного пептида варнерина опосредовано активацией аутолитических систем атакуемых бактерий / Л.Б. Филатова, Л.М. Лемкина, Л.И. Кононова, Т.В. Полюдова и др. // Вестник Пермского университета. – 2010. – №1. – С. 32 – 35.
113. Фирсова В.Г. Микробиологическая диагностика и выбор антимикробной терапии инфекции желчевыводящих путей / В.Г. Фирсова, В.В. Паршников, И.В. Чеботарь и др.// Анналы хирургической гепатологии. – 2013. – Т. 20, № 1. – С. 124 – 131.
114. Фишбейн А.В. Патоморфологические и некоторые функциональные изменения печени при разлитом микробном перитоните. Канд. дисс., Львов, 1964.
115. Хайруллин И.Н. Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике хирургических послеоперационных инфекций / И.Н.Хайруллин, О.К. Поздеев, Р.Ш. Шаймарданов // Казанский медицинский журнал. – 2002. – Т. 83, № 4. – С. 258 – 261.
116. Целукидзе А.П. К методике применения бактериофага в хирургической практике / А.П. Целукидзе // Вестник хирургии. – 1941. – № 6. – С. 679 – 685.
117. Чадаев А.П. Перитонит и внутрибрюшное давление, патогенетические аспекты / А.П.Чадаев, А.И.Хрипун // М., 2003. – 21с.
118. Чернов В.Н. Неотложная хирургия: диагностика и лечение острой хирургической патологии / В.Н. Чернов // 2007. – 350 с.
119. Чубатова С.А. Средство для лечения заболеваний парадонта бактериофагами / С.А. Чубатова, Е.Л. Жиленков, С.К. Панюшкин и др. // Приоритет от 24.04.2000. – Патент РФ № 2165766.

120. Шатобалов В.К. Аппендицит: этиология, патогенез, классификация, а также варианты его рецидивирующего и хронического течения. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2013. – № 4. – С. 87 – 91.
121. Шахрай С.В. Современные пути усиления эффективности антибактериальной терапии перитонита / С.В. Шахрай // Медицинские новости. – 2000. – № 10. – С. 3 – 6.
122. Шевелев Г.А. Комплексное применение антибиотико-, озono- и фаготерапии для лечения больных хроническим остеомиелитом. / Г.А.Шевелев, И.М. Ефремов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2013. – № 2 (26). – С. 104 – 113.
123. Яшина А.С. Использование эндовидеохирургической технологии и мембранного плазмафереза в комплексном лечении больных острыми заболеваниями органов брюшной полости в условиях многопрофильной городской больницы // Автореф. канд. мед. наук. – Великий Новгород. – 2010. – 23 с.
124. Abbas AR Mohammed, Nadeem Ahmad Bhat Acute appendicitis dilemma of diagnosis and management. The Internet Journal Surgery. – 2010. – V. 23, N. 2.
125. Andersson E. Isolation of human cationic antimicrobial protein-18 from seminal plasma and its association with prostasomes / E. Andersson, O.E. Sorensen, B. Frohm et al. // Human Reprod. – 2002. – 17 (10). – P. 2529 – 34.
126. Baron S. The protective role of endogenous interferon in viral, bacterial and protozoal infections / S. Baron, D. Weigeant, G. Stantion et al. // Antiviral. Res.Suppl – 1985. – 5, N. 1. – P. 173 – 183.
127. Barrow P.A. Bacteriophage therapy and prophylaxis: Rediscovery and renewed assessment of the potential / P.A. Barrow, J.S. Soothill // Trends Microbiol. – 1997. – Vol. 5, N 7. – P. 268 – 271.
128. Bonne R. C. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process / R. C. Bonne, C. J. Godzin, R. A. Balk // Clin. Chest Med. – 1997. – Vol. 20, N 6. – P. 235 – 243.

129. Brown C.V. Appendiceal abscess: Immediate operation or percutaneous drainage / C.V. Brown, M. Abrishami, M. Muller et al. // *American Surgeon*. – 2003. – Vol. 69, N 10. – P. 829 – 832.
130. Bradley F.L. 3rd. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the international symposium on acute pancreatitis, Atlanta, 1992. *Arch.Surg.* – 1993. – Vol. 128. – P. 586 – 590.
131. Ceppa E.P. Reducing surgical site infections in hepatopancreatobiliary surgery. / E.P. Ceppa, H.A. Pitt, M.G. House et al. // *HPB*. 2013. – Vol. 15, N 5. – P. 384 – 391.
132. Castro I. Characterization of multiresistant strains of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Nicaragua / I. Castro, V. Bergeron, S Chamberland // *Sex. Transm. Dis.* – 1993. – V. 20. – P. 314 – 320.
133. Clarke T. Drug companies snub antibiotics as pipeline threatens to run dry / T. Clarke // *Nature*. – 2003. – Vol. 425. – P. 225.
134. Cooper G.S. Intraabdominal infection: differences in presentation and outcome between younger patients and the elderly / G.S. Cooper, D.M. Shlaes, R.A. Salata // *Clin Infect Dis.* – 1994. – N 19. – P. 146 – 148.
135. Conner K. The antimicrobial peptide LL-37 is expressed by keratinocytes in condyloma acuminatum and verruca vulgaris / K. Conner, K. Nern, J. Rudisill et al. // *J. Am Acad Dermatol.* – 2002. – Sep(47 93). – P. 347 – 350.
136. Corfield L. Interval appendectomy after appendiceal mass or abscess in adults: what is "best practice" / L. Corfield // *Surgery today* – 2007. – N 37(1). – P. 1 – 4.
137. Crowder V.H. Perforation in cancer of the colon and rectum. / V.H. Crowder, I. Cohn // *Dis Colon Rectum* 1967. – N 10. – P. 415 – 420.
138. Cuncha B.A., Gill M.V. Antimicrobial therapy in sepsis. 1997. – N 483492.
139. Dogan S. Relation of demographic, clinic and biochemical parameters to peritoneal dialysis. / S. Dodan, S. Ekiz, L. Yugel et al. // *Journal of Renal Care*. – 2008. – N 34 (1). – P. 5 – 8.
140. Gale E.F. The molecular basis of antibiotic action / E.F. Gale, P.E. Reynolds, M.H. Richmond et al. // London-New York-Sydney-Toronto: A Wiley-Interscience Publication, 1972. – P. 499.

141. Gladman M.A. Intra-operative culture in appendicitis: traditional practice challenged. / M.A. Gladman, C.H. Knowles, L.J. Gladman et al. // *Annals of the Royal College of Surgeons of England* – 2004. – Vol. 86, N 3. – P. 196 – 201.
142. Gorski A. New insights into the possible role of bacteriophages in host defense and disease / A. Gorski, K. Dabrowska, K. Switala-Jelen et al. // *Med Immunol.* – 2003. – Vol. 14, N 2. – P. 2.
143. Hagiwara K. Mouse SWAMI and SWAM 2 are antibacterial proteins composed of a single whey acidi protein motif / K. Hagiwara, T. Kikuchi, Y. Endo et al. // *J. Immunol.* – 2003. – 170 (4). – P. 1973 – 1979.
144. Hancock R.E. Therapeutic potential of cationic peptides / R.E. Hancock // *Expert. Opin. Invest. Di.* – 1998. – V. 7 – P. 167 – 174.
145. Hawser S.P. Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with extended-spectrum beta-lactamases in community- and hospital-associated intra-abdominal infections in Europe: results of the 2008 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). / S.P. Hawser, S.K. Bouchillon, D.J. Hoban et al. // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2010. – 54(7):3043 – 3046.
146. Holzheimer R.G., Gathof B. Re-operation for complicated secondary peritonitis - how to indentify patients at risk for persistent sepsis./ R.G. Holzheimer, B. Gathof // *Eur J. Med. Res* 2003. – N 8 P. 125 – 134.
147. Horn T. Percutaneous cholecystostomy is an effective treatment option for acute calculous cholecystitis: a 10-year experience. / Horn T, Christensen SD, Kirkegård J et al. // *HPB (Oxfotd).* – 2015. – Vol. 17, N 4. – P. 326 – 331.
148. Hsueh P.R. Clonal dissemination of meticillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a Taiwanese hospital. / P.R. Hsueh, S.Y. Lee, C.L. Perng et al. // *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010. – Vol. 36, N. 4, P. 307 – 312.
149. Hutchins R.R. Relaparotomy for suspected intraperitoneal sepsis after abdominal surgery. / R.R. Hutchins , M.P. Gunning , D.N. Lucas,et al. // *World journal of surgery.* – 2004. – Vol. 28, N 2. – P. 137 – 141.

150. Huttner A. Therapeutic drug monitoring of the β -lactam antibiotics: what is the evidence and which patients should we be using it for / A.Huttner, St. Harbarth, W.W. Hoppe et al. // J. of Antimicrobial Chemotherapy. – 2015. – Vol. 70, N. 12. – P. 3175 – 3177.

151. Ivatury RaoR. Cheatham M.L. Malbrain M.L.N.G. Surgae M. Abdominal compartment syndrome. / RaoR Ivatury, M.L. Cheatham, Malbrain M.L.N.G. et al. //Landes Bioscience 2006. – P. 308.

152. John D. Pocket book of Pediatric Antimicrobial Therapy. / D. John, M.D. Nelson // Williams and Wilkins. A Waverly company. – Dallas, Texas. – 1996. – P. 312 – 314.

153. Kasman L.M. Overcoming the phage replication threshold: A mathematical model with implications for phage therapy / L.M. Kasman, A. Kasman, C. Westwater et al. // Journal of Virology. – 2002. – Vol. 76, N 11. – P. 5557 – 5564.

154. Kauffman CA Infections caused by fungi of the genus *Candida* yeast. / CA Kauffman, KA Marr, AR Thorner // Journal Problems of Medical Mycology. 2012

155. Kimura T. Detection of mackrolide resistanse in streptococcus pneumonia / T. Kimura, T. Horle, M. Morita et al. // Chemotherapy. – 2003. – 49 (1 - 2). – P. 56 – 61.

156. Korobov V.P. Antibacterial action of interferon preparations / V.P. Korobov, P.K.Akimenko, V.P. Kuznetsov et al. // FE MC Microbiol. Letter. – 1988. – Vol. 49, N. 2. P .157 – 162.

157. Lecrec R. Plasmid-mediated resistansce to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium* / R. Lecrec, E. Derlot, J. Duval et al. // N.Engl.J.Med.-1988. – V. 319. – P. 157 – 161.

158. Marshall J.C. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome / J.C.Marshall, D.J.Cook, N.V.Christou // Crit. Care Med. – 1995. – Vol.2. – P. 1638 – 1652.

159. Menichetti F. Definition and classification of intra-abdominal infections /F. Menichetti, G. Sganga // Journal of chemotherapy. – 2009. – N1. – P 3 – 4.

160. Montravers P. Clinical and microbiological profiles of community-acquired and nosocomial intra-abdominal infections: results of the French prospective, observational

EBIIA study. / P. Montravers, A. Lepape, L. Dubreuil et al. // The Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2009. – Vol. 63, N 4. – P. 85 – 94.

161. Mota-Meira M. MIC_s of mutacin B-Ny 266, nisin A, vancomycin, and oxacillin against bacterial pathogens / M. Mota-Meira, G.Lapointe, C. Lacroix et al. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2000. – V. 44. – P. 24 – 29.

162. Muthaiyan Transcriptional profiling reveals that daptomycin induces the *Staphylococcus aureus* cell wall stress stimulon and genes responsive to membrane depolarization. / Muthaiyan, J. A. Silverman, R. K. Jayaswal et al. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2008. – Vol. 52, N 3. – P. 980 – 990.

163. Murray B. Transferable β -lactamase: a new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis* / B. Murray, B.Vederski-Samaroj // J. Clin.Investig. – 1983. – Vol. 72. – P. 1168 – 1171.

164. Nathens A.B. II Hirurgiya. / A.B. Nathens, V.D. Fedorov, V.K. Gostichev et al. // – 1999. – N 4. – P. 5 S – 62.

165. Nathwani D. Impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections on key health economic outcomes: does reducing the length of hospital stay matter / D. Nathwani // Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2003. – 51, S 2. – P. 37 – 44.

166. Nicolas P. Peptides as weapons microorganisms in the chemical defense system of vertebrates / P. Nicolas, A. Mor // Annu. Rev. Microbiol. – 1995. – Vol. 49. – P. 277 – 304.

167. Payne R.J. Pharmacokinetic principles of bacteriophage therapy / R.J. Payne, V.A. Jansen // Clin. Pharmacokinet. 2003. – Vol. 42, N 4. – P. 315 – 325.

168. Pieracci F.M. Management of severe sepsis of abdominal origin. / F.M. Pieracci, P.S. Barie // Scandinavian journal of surgery : SJS : official organ for the Finnish Surgical Society and the Scandinavian Surgical Society – 2007. – Vol. 93, N. 3. – P. 184 – 196.

169. Przerwa A. Effects of bacteriophages on free radical production and phagocytic functions / A. Przerwa, M. Zimecki, K. Switala-Jelen et al. // Med. Microbiol. Immunol. – 2006. – Vol. 31, N 1. – P. 1 – 8.

170. Pupelis G., Focused open necrosectomy in necrotizing pancreatitis. / G. Pupelis, V. Fokin, K. Zeiza et al. // HPB. – 2013. – Vol. 15, N 7. – P. 535 – 540
171. Kayitsinga Reinders J.S. Laparoscopic cholecystectomy is more difficult after a previous endoscopic retrograde cholangiography. / J.S. Kayitsinga Reinders, D.J. Gouma, J. Heisterkamp et al. // HPB. – 2013. – Vol. 15, N3. – P. 230 – 234
172. Reinhart K. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis / K. Reinhart, O. Bayer, F. Brunkhorst et al. // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30, 5 suppl. – P. 302 – 213.
173. Rimola A, Garsia-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. J. Hepatol. 2000. – N 32. – P. 142 – 153.
174. Sartelli M. Complicated intra-abdominal infections in a worldwide context: an observational prospective study (CIAOW Study). / M. Sartelli, F. Catena, L. Ansaloni et al. // World journal of emergency surgery. – 2013. – Vol. 8(1). – P. 1.
175. Schafek M., Schneider M., Bbchler M.W. Acute appendicitis: standard treatment and the role of laparoscopic surgery. Acta Chir Austr 1997. – N 6. – P. 360363.
176. Severina E. Antibacterial efficacy of nisin against multidrug-resistant gram-positive pathogens / E. Severina, A. Severin, A. Tomasz // J. Antimicrob. Chemother. – 1998. – V. 41. – P. 341 – 347.
177. Shasha S.M. Bacteriophages as antibacterial agents / S.M. Shasha, N. Sharon, M. Inbar // Harefuah. – 2004. – Vol. 143, N 2. – P. 121 – 125.
178. Silver L. Discovery and development of new antibiotics: the problem of antibiotic resistance / L. Silver, K. Bostian // Antimicrob. Agents Chemother. – 1993. – V. 37. – P. 377 – 383.
179. Scott M.G. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses / M.G. Scott, D.J.Davinson, M.R. Gold et al. // J. Immunol. – 2002. – Oct 1; 169 (7). – H. 3883-91.
180. Sulakvelidze A. Phage therapy: an attractive option for dealing with antibiotic-resistant bacterial infections / A. Sulakvelidze // Drug Discov. Today – 2005. – Vol. 10, N 6. – P. 807 – 809.

181. Toprak U. Antimicrobial susceptibilities of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotamicron* strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota / U. Toprak, C. Celik, O. Cakici et al. // *Anaerobe*. – 2004. – Vol. 10, N 5. – P. 255 – 9.
182. Tytler E. Molecular basis for prokaryotic specificity of magainin-induced lysis / E. Tytler, D. Anantharamaiah, V. Walker et al. // *Biochemistry*. – 1995. – V. 34. – P. 4393 – 4401.
183. Van R.O. Comparison of on-demand vs planned relaparotomy strategy in patients with severe peritonitis : a randomized trial. / R.O. Van, C.W. Mahler, K.R. Boer et al. // *JAMA, the journal of the American Medical Association* – 2007. – Vol. 298, N 8. – P. 865 – 873.
184. Weber-Dabrowska B. Studies of bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy / B. Y. Weber-Dabrowska, M. Dubrowski, S. Store // *MArch. Immunol. Ther. Exp. (Warszawa)*. – 1987. – Vol. 35, N. 5. – P. 563 – 568.
185. Weber-Dabrowska B. Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our institute s experience / B. Weber-Dabrowska, M. Mulczyk, A. Gorski // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. – 2000. – Vol. 48, N 6. – P. 547 – 551.
186. Weber-Dabrowska B. Bacteriophages as an efficient therapy for antibiotic-resistant septicemia in man/ B. Weber-Dabrowska, M. Mulczyk, A. Gorski // *Transplant Proc.* – 2003. – Vol. 35, N 4. – P. 1385 – 1386.
187. Weld R. J. Models of phage growth and their applicability to phage therapy / R.J. Weld, C. Butts, J.A. Heinemann // *J. Theor. Biol.* – 2004. – Vol. 227, N 3. – P. 1 – 11.
188. Udekwu K. I. Functional relationship between bacterial cell density and the efficacy of antibiotics / K. I. Udekwu, N. Parrish, P. Ankomah et al. // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2009. – Vol. 63, N. 4. – P. 745 – 757.