

УДК 616.361-002.3-08:615.281

*Р.В. Бондарев, В.И. Бондарев, С.С. Селиванов, А.А. Орехов***ПРИМЕНЕНИЕ АДАПТИРОВАННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ГНОЙНЫМ ХОЛАНГИТОМ***Луганский государственный медицинский университет*

Проведено изучение бактериологического статуса желчи у 65 больных острым гнойным холангитом (ОГХ), в комплексном лечении которых для санации общего желчного протока (ОЖП) применяли раствор фурацилина с 1% диоксином (контрольная группа – 32 пациента), лечебные бактериофаги (основная группа – 33 пациента). Установлено, что при применении адаптированных бактериофагов отмечалось значительное и в ранние сроки уменьшение бактериоохолитии и степени контаминации желчи. Динамика видового состава имеет тенденцию к снижению микробных ассоциаций и росту монофлоры. Характер микробной флоры ОЖП в динамике указывает на целесообразность внутрипротокового локального воздействия на очаг воспаления лечебными бактериофагами. Сроки стационарного лечения сократились в 1,7 раза.

**Ключевые слова:** холангит, санация, бактериофаги.

Желчекаменная болезнь (ЖКБ) у 11-60% больных осложняется острым гнойным холангитом (ОГХ), который у 4,7-88% случаев является основной причиной послеоперационной летальности [1, 2, 3]. В развитии ОГХ ведущую роль играет обструкция желчевыводящих путей. Нарушение оттока желчи создает благоприятные условия для присоединения инфекции и распространению ее до мелких холангиол, а развивающаяся гипертензия приводит к образованию дефектов в защитном слое сурфактанта, клеточных мембран [3], к холангио-венозному рефлексу с массивным поступлением в системный кровоток бактериальных эндотоксинов, активных продуктов метаболизма с развитием билиарного сепсиса. Для борьбы с гнойно-воспалительными заболеваниями и осложнениями разрабатываются новые виды и классы антибиотиков. Однако это не спасает положение, потому что и к ним быстро развивается устойчивость, что способствует глобализации проблемы антибиотикорезистентности [5]. Токсичное действие антибиотиков, усугубляющих полиорганную недостаточность, развивающуюся при ОГХ, а также их относительная низкая концентрация в инфицированных тканях (желчных протоках) послужила основой поиска новых методов лечения, с помощью которых можно было бы улучшить результаты лечения больных с ОГХ.

В последнее время вновь появился интерес к лечебным бактериофагам. Отмечены положительные качества бактериофагов: отсутствие токсического действия на организм,

развития аллергических реакций, дисбактериозов. Противопоказаний к применению бактериофагов не установлено. В этой связи, применение бактериофагов, активных в отношении многих микроорганизмов, выделяемых у больных с гнойным холангитом, могут существенно повысить эффективность лечения пациентов указанной патологии.

**Цель исследования** – этиопатогенетическое обоснование повышения эффективности профилактики и лечения острого холангита с помощью бактериофагов.

**Материал и методы**

В основу работы легли клинические наблюдения и исследования у 65 больных гнойным холангитом. Мужчин было 21, женщин – 45, возраст варьировал от 35 до 89 лет. Причинами гнойного холангита в 47,7% наблюдений был холецистопанкреатит, у 10,8% – стеноз большого соска двенадцатиперстной кишки (БСДПК) и стриктура дистального отдела холедоха, у 30,7% – холедохолитиаз и стеноз БСДПК, у 10,8% – холедохолитиаз. Наиболее часто заболевание сочеталось с острым (21,5%) или хроническим (43,1%) холециститом, в 10,8% наблюдениях его развитие отмечали после выполнения холецистэктомии (в сроки от 2 до 4 лет). Продолжительность желтухи до поступления в клинику варьировала от 3 до 20 суток. Клинические проявления синдрома системной воспалительной реакции (ССРВ) отмечены у всех пациентов, а у 16,9% наблюдений диагностировал синдром

полиорганной недостаточности. Тяжесть состояния больных осуществляли по критериям, предложенных на согласительной конференции в Токио в 2006 году [6]. Легкая степень тяжести ОГХ выявлена у 23 пациентов, средняя степень тяжести у 24, тяжелая степень тяжести – у 17 больных.

Тяжесть состояния больных усугублялась наличием сопутствующих заболеваний, особенно у лиц пожилого и старческого возраста. К 60 годам более половины больных имели те или иные серьезные сопутствующие заболевания, к 75 годам они встречались практически у всех больных. Ведущее место среди них занимали заболевания сердечно-сосудистой системы, болезни органов дыхания, эндокринной системы.

Диагностическая программа включала исследование показателей тяжести ОГХ [6], инструментальные методы исследования (ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, компьютерная томография (КТ), контрастные исследования желчных путей – эндоскопическая ретроградная холангиография (ЭРПХГ), чрезкожная черезпеченочная холангиография (ЧЧХГ), в ряде наблюдений – магнитно-резонансная холангиопанкреатография (МРХПГ).

При поступлении у всех больных выявлено повышение уровня билирубина от 90 до 240 мкмоль/л. Разрешение механической желтухи приводило в кратчайшие сроки, время от поступления в клинику до оперативного вмешательства в среднем составило  $16,3 \pm 1,7$  ч. Среди наблюдаемых больных у 61,6% больных выполнены эндоскопические транспиллярные хирургические вмешательства (ЭТХВ), у 55,5% дополнены назобилиарным дренированием, открытые вмешательства на желчевыводящих путях осуществлены у 25 (38,4%) больных.

Комплексная терапия включала коррекцию жизненно-важных органов и систем организма, в том числе антибиотикотерапию. Препаратами выбора были цефалоспорины в комбинации с метронидазолом. Стартовым режимом служили карбопены. В послеоперационном периоде осуществляли санацию желчных путей используя раствор фурацилина и 1% раствор диоксидаина – 32 пациента (контрольная группа). Учитывая толерантность флоры к большинству применяемых антибио-

тиков и невозможность введения многих препаратов в протоки из-за образования осадка в смеси с желчью испытали и применили адаптированные бактериофаги, которые вводили через дренажную трубу общего желчного протока (ОЖП) (33 пациента – основная группа).

Использовали лечебные бактериофаги: коли-протейный – обладает способностью специфически лизировать распространенных энтеропатогенных эшерихий и протей (Pr. Mirabilis, Pr. Vulgaris); пио-бактериофаг поливалентный (сектафаг) – обладает способностью специфически лизировать стафилококк, стрептококк, эшерихии коли, протей, псевдомонас аэругиноза и клебсиелу пневмония; интенсти-бактериофаг – обладает способностью специфически лизировать ишгеллезные, сальмонеллезные, стафилококковые и энтерококковые бактерии, энтеропатогенную палочку, протей, псевдомонас аэругиноза.

Санацию желчных протоков осуществляли вначале с введения раствора фурацилина в объеме 20-30 мл со скоростью 2 мл в минуту. Затем после аспирации содержимого в течение 30 мин вводили один из бактериофагов в объеме 30 мл, спустя 8 часов вводился второй бактериофаг и спустя 8 ч третий бактериофаг в тех же объемах.

Выделение и идентификацию бактерий осуществляли по принятым бактериологическим методам. Посев желчи для культивирования микроорганизмов осуществляли на плотные и жидкие питательные среды. Качественный состав микробной флоры определяли с помощью биохимических тестов идентификации. Для численного определения степени микробной контаминации единицы объема использовали метод секторных посевов. Для определения чувствительности микрофлоры к антибактериальным препаратам использовали метод бумажных дисков.

Выполняли две серии исследований. В первой производили посев желчи, взятой интраоперационно для определения выбора антибактериальных препаратов в периоперационном периоде. Во второй среди использовали пробы желчи из дренажа ОЖП на 3-5-7 сутки для оценки проводимого лечения и его коррекции.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась при помощи програм-

мы Excel. В зависимости от вида распределения исходных данных определялись параметрические и непараметрические показатели и другие программы из пакета «Статистика».

### Результаты и обсуждение

При микробиологическом исследовании желчи всех больных ОГХ до проведения деконпрессии желчных путей обнаружен рост микрофлоры, а уровень микробной контаминации превышал нормальное значение в 2-2,5 раза независимо от характера микробной флоры. При легкой степени тяжести ОГХ в желчи чаще всего наблюдали монокультуру 67,7%.

При средней, тяжелой степени тяжести в 76,9-84,6% преобладали микробные ассоциации. Основными возбудителями являлись грамотрицательные аэробы и факультативные анаэробы: *Escherichia coli* (21,5-64,6%), *Klebsiella* spp. (9,2-15,4%), *Enterobacter* spp. (6,2-9,2%), *Pseudomonas aeruginosa* (3,0-33,8%), *Proteus Vulgaris* (3,1-6,2%), *Candidas* spp. (6,2%). Грамположительные аэробы и факультативные анаэробы: *Streptococcus* spp. (10,7-9,2%), *Enterococcus* spp. (6,2-24,6%), *Staphylococcus aureus* (1,5-9%). Немаловажное значение в развитии ОГХ имели анаэробная инфекция. Среди них *Bacteroides fragilis* (6,2-46,2%), *Bacteroides* (3,0-18,5%), *Fusobacterium* spp. (13,8-6,1%), *Peptococcus/streptococcus* spp. (4,6-6,1%). Обращает на себя тот факт, что качественный состав микрофлоры изменялся в зависимости тяжести ОГХ так, при сохранении ведущей роли в качестве возбудителей энтеробактерий, все же их вклад при прогрессировании воспалительного процесса уменьшался с 89,2% у больных легкой степенью тяжести до 36,9% у больных тяжелой степенью тяжести. В то же время возросла роль *Pseudomonas aeruginosa* с 3% у больных с легкой степенью тяжести до 33,8% больных с тяжелой степенью тяжести. Высокое число стрептококков (26,2%) у больных со средней степенью тяжести снижалось до 9,2% у больных с тяжелой степенью тяжести, в то же время количество представителей *Enterococcus* spp. выросло с 6,2% у больных с легкой степенью тяжести до 24,6% с тяжелой степенью тяжести. В микробиологической структуре больных с тяжелой степенью тяжести особое значение приобретали анаэробы, госпитальные штаммы возбудителей.

Чувствительность основных выделенных культур бактерий свидетельствовало, что в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий имеют широкий спектр антимикробного действия цефалоспорины III-IV поколения. Фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин) активны в отношении грамотрицательных бактерий, включая *Pseudomonas* spp. Вместе с тем их активность недостаточна в отношении грамположительной и анаэробной микрофлоры. В то же время комбинированные препараты активны в отношении грамположительной и анаэробной микрофлоры. Карбапенемы обладали широким спектром антимикробного действия (почти все этиологически значимые аэробные и анаэробные микроорганизмы).

В то же время обращает на себя внимание тот факт, что штаммы *E.coli*, которые у больных с легкой, средней степенями тяжести были чувствительны практически ко всем используемым антибиотикам (аминогликозиды, включая гентамицин, цефалоспорины III-IV поколения, фторхинолоны, карбапенемы, комбинированные препараты), у больных с тяжелой степенью тяжести отмечен низкий процент чувствительности к указанным препаратам, кроме карбапенемов (имепенем – 71,4%, меропенем – 86,2%). Подобную картину можно наблюдать к штаммам *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. у больных с легкой, средней степенями тяжести. Высокая чувствительность, сохранялась к амикацину, тетрациклину, цефтазидиму, цiproфлоксацину, меропенему), в то время как у больных с тяжелой степенью тяжести к штаммам *Klebsiella* наблюдалась высокая чувствительность лишь к меропенему, соответственно к штаммам *Proteus* spp. – цефтазидиму, цiproфлоксацину и меропенему. Следует отметить факт снижения чувствительности *P.aeruginosa* к меропенему (90%) у больных тяжелой степени тяжести.

Изменялась также характеристика чувствительности грамположительной флоры к используемым антибиотикам. Так, у больных с легкой, средней степенями тяжести отмечены штаммы энтерококков, в 100% сохранявших свою чувствительность к цефазолину, цефтазидиму, меропенему, импенему, в то время как у больных с тяжелой степенью тяжести выявлялись штаммы, почти резистентные к изучаемым препаратам. Следует отметить,

что тестирование чувствительности грамположительной флоры к антибиотикам выявило отсутствие резистентности у всех пациентов, кроме ванкомицина.

Таким образом, на момент хирургического вмешательства в желчи отмечалось значительное разнообразие микроорганизмов, которые были чувствительны в среднем в 73,8% наблюдений к традиционно используемым в хирургии антибиотикам. При этом характер микробной флоры, рост уровня микробной контаминации в желчи, по-видимому, отражает ведущую роль прогрессирующей печеночной недостаточности в формировании общей картины полиорганных нарушений у больных ОГХ.

Флора желчных путей на 3-5 сутки послеоперационного периода в контрольной группе была еще более разнообразной. Уровень микробной контаминации варьировал от  $10^4$  до  $10^7$  КОЕ/мл. В эти сроки доминирующую позицию заняла *Pseudomonas aeruginosa* (38,5%). Преобладали также представители *Enterobacter* (33,8%), *Citrobacter* (27,7%), *St.Epidermidis* (24,6%), *E.coli* (30,8%), *Micrococcus* (4,6%). Следует отметить и появление грибов *Candida* у 16,9%. радикально изменялась чувствительность к вводимым антибактериальным препаратам. Флора абсолютно резистентна была к цефалоспорином II поколения, аминогликозидам, полусинтетическим пенициллинам, к фторхинолонам – 30,8%, цефалоспорином III-IV поколений – 36,9%, карбапенемам – 13,8%. Следовательно, традиционное парентеральное применение антибиотиков оказывается недостаточно эффективным в санации желчных путей. Появление в посевах грибковой флоры свидетельствует о развитии выраженной иммуносупрессии, вызванной применением мощных антибактериальных препаратов широкого спектра действия [4]. Все это свидетельствует о необходимости дифференцированного подхода к системной антибактериальной терапии в комплексном лечении ОГХ.

При бактериологическом исследовании протоковой желчи в процессе санации на 3-5 сутки основной группы наблюдали быстрыми темпами снижение частоты высеваемости и их концентрации.

Между анализируемыми группами наблюдали отличия по компонентно-видовому со-

ставу микрофлоры. В эти сроки послеоперационного периода преобладали представители *Enterobacter* (21,5%), реже выявляли *E.coli* (18,5%), бактерии *Pseudomonas* – 15,4%. Средняя концентрация микроорганизмов до лечения составляла  $10^8$ - $10^{10}$  ед КОЕ/мл, то на 5 сутки санации уровень микробного загрязнения анаэробными микроорганизмами снизился до  $10^3$  ед КОЕ/мл.

Снижение концентрации аэробных микроорганизмов происходило еще более быстрыми темпами. Результаты микробиологических исследований показали, что достоверное снижение концентрации аэробных микроорганизмов от исходного уровня отмечалось уже к концу 1 суток, анаэробных – на 3 сутки. В контрольной группе средняя концентрация аэробных микроорганизмов снизилась до  $10^3$  ед КОЕ/мл на 7-8 сутки, анаэробных – на 8-9 сутки. Следует также подчеркнуть, что доля монофлоры увеличивалась и была значительной больше у больных основной группы (69,2%), в контрольной (36,9%) при посевах желчи на 5 сутки. К 7 суткам отмечено уменьшение доли смешанной флоры в основной группе до 18,5%, в контрольной – до 41,5%.

Таким образом, при сравнении микробиологических параметров исследуемых групп установлено, что при применении адаптированных бактериофагов отмечается значительное и в ранние сроки уменьшение бактериоохомии и степени концентрации желчи. Также, динамика видового состава имеет тенденцию к снижению микробных ассоциаций и росту монофлоры.

В группе пациентов, у которых применяли лечебные бактериофаги, тяжелых осложнений не было. Летальных исходов не отмечено. Сроки стационарного лечения сократились в 1,7 раза.

### **Выводы**

Микробиологическая оценка желчи имеет большое значение в определении тяжести процесса, глубины поражения и, соответственно, в выборе оптимальной лечебной тактики при ОГХ. Применение лечебных бактериофагов является эффективным, патогенетически обоснованным способом внутривисцерального локального воздействия на очаг воспаления при ОГХ.

### **ЗАСТОСУВАННЯ АДАПТОВАНИХ БАКТЕРІО- ФАГІВ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ХВО- РИХ ГОСТРИМ ГНІЙНИМ ХОЛАНГІТОМ**

*R.V. Bondarev, V.I. Bondarev, S.S. Selivanov,  
O.A. Orekhov*

Проведено вивчення бактеріологічного стану жовчі у 65 хворих гострим гнійним холангітом (ГГХ), в комплексному лікуванні яких для санації загального жовчного протока (ЗЖП) застосовували розчин фурациліна з 1% діоксидіном (контрольна група – 32 пацієнта) і лікувальними бактеріофагами (основна група – 33 пацієнта). Установлено, що при застосуванні адаптованих бактеріофагів спостерігалось значне зменшення бактеріохолії і ступеня контамінації жовчі. Динаміка видового складу має тенденцію до зниження мікробних асоціацій і росту моно флори. Характер мікробної флори ГЖП в динаміці вказує на доцільність внутрішньо-протокового локального впливу на вогнище запалення лікувальними бактеріофагами. Терміни стаціонарного лікування скоротились в 1,7 рази.

**Ключові слова:** холангіт, санація, бактеріофаг.

### **USE OF THE ADAPTED BACTERIOPHAGES IN COMPLEX TREATMENT PATIENTS WITH ACUTE PURULENT CHOLANGITIS**

*R.V. Bondarev, V.I. Bondarev, S.S. Selivanov,  
A.A. Orekhov*

At the conditions of postoperative periods sanitation adapted by the bacteriophages from patient with acute purulent cholangitis. In one groupe of patient (32) used solution 1% furacillin in next groupe (33)

used adapted bacteriophages. Reducing of expressiveness of necrobioicm changes in a cholic way's, decreasing of vasculogenesis in demarcation zones. In is established that the adapted bacteriophages create necessary conditions for adequacy of realization by means of bacterial invasion in cholic way. The number of complication in 1,7 decreased.

**Key words:** cholangitis, sanitation, bacteriophages.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гальперин Э.Н. Руководство по хирургии желчных путей / Э.И. Гальперин, Г.Г. Ахаладзе // Гнойный холангит (глава 15). – М.: Видар, 2006. – С. 284-287.
2. Кондратенко П.Г. Хирургическая тактика при остром гнойном холангите / П.Г. Кондратенко, Ю.А. Царульков // Український журнал хірургії. – 2010. – № 2. – С. 31-36.
3. Машинский А.А. Гнойный холангит / А.А. Машинский, А.Н.Лотов, С.С. Харнас [и др.] // Хирургия. – 2002. – № 2. – С. 58-65.
4. Окислительный, энергетический и иммунный гомеостаз (нарушение и коррекция) / под ред. Л.Г. Прокопенко, А.Н. Лазарева, А.И. Конопли. – Курск, 2003. – 334 с.
5. Третьяков А.А. Применение окситоцина при экспериментальном холангите / А.А. Третьяков, А.А. Стадников, А.М. Чумаков // Анн. хиургии. – 2009. – Т. 14, № 3. – С. 30-35.
6. Mayumi T. Results of the Tokyo consensus Meeting Tokyo Guidelines / T. Mayumi, T. Takoda, Y. Kaworada [et al.] // J. Hepatobiliary Paneted Surg. – 2007. – Vol. 14, № 1. – P. 114-121.

Стаття надійшла 04.03.2011