ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ВОЕННОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С.М. КИРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Полухина
Ольга Васильевна

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

14.03.10 –клиническая лабораторная диагностика

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Т.Н. Суборова

Санкт-Петербург – 2014 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ВВЕДЕНИЕ……... 4

ГЛАВА 1 Проблемные возбудители инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных больных и роль бактериологической лаборатории в оптимизации антибактериальной терапии (обзор литературы)…….. 13

1.1. Состояние иммунной системы и причины развития инфекционных осложнений у онкологических больных и пациентов, перенесших ортотопичекую трансплантацию печени…….. 13

1.2. Спектр возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов……. 16

1.3. Особенности проведения микробиологического мониторинга возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов……. 28

1.4. Современные технологии в проведении микробиологических исследований……. 30

ГЛАВА 2 Материал и методы исследования……. 34

2.1. Материалы исследования…….. 34

2.2. Отбор материала для бактериологического исследования…… 34

2.3. Методы исследования……... 36

ГЛАВА 3 Характеристика спектра возбудителей инфекционных осложнений у пациентов специализированного онкологического стационара……..... 42

3.1. Общая характеристика бактериологической результативности исследования образцов клинического материала……. 42

3.2. Видовой состав изолятов, выделенных из клинического материала 44

ГЛАВА 4 Обоснование дифференцированного подхода к диагностике возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов……. 53

4.1. Особенности спектра возбудителей инфекционных осложнений у пациентов отделений терапевтического, хирургического профиля и отделения реанимации и интенсивной терапии стационара…… 53

4.2. Сравнительная характеристика возбудителей разных таксономических групп, выделенных от онкологических больных и пациентов, перенесших ортотопичекую трансплантацию печени……. 58

4.3. Основные возбудители уроинфекций у иммунокомпрометированных пациентов специализированного хирургического стационара…… 63

ГЛАВА 5 Разработка алгоритмов бактериологического исследования образцов клинического материала в зависимости от нозологической формы заболевания…….. 68

ГЛАВА 6 Мониторинг устойчивости к антимикробным препаратам основных возбудителей у пациентов стационара……. 76
6.1. Антибиотикорезистентность штаммов *E. coli*, выделенных от иммунокомпрометированных больных…….. 76
6.2. Антибиотикорезистентность штаммов *K.pneumoniae*, выделенных от иммунокомпрометированных больных……. 81
6.3. Антибиотикорезистентность штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от иммунокомпрометированных больных……. 86
6.4. Антибиотикорезистентность штаммов *E.faecalis*, выделенных от иммунокомпрометированных больных……..... 89

ЗАКЛЮЧЕНИЕ……. 92

ВЫВОДЫ…….. 100

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ПРИНЯТЫХ В ДИССЕРТАЦИИ…… 103

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…… 104

ПРИЛОЖЕНИЕ……. 122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема диагностики и лечения инфекционных осложнений (ИО) актуальна для иммунокомпрометированных больных в связи с высоким риском их развития вследствие необходимости частых повторных госпитализаций в различные лечебные учреждения для постановки диагноза и лечения. В современной научной литературе представлены обширные данные о связи частоты развития осложнений и состояния иммунной системы у онкогематологических больных, а также у онкологических больных с опухолевым процессом другой локализации [5, 17, 27, 36]. ИО являются причиной гибели трети онкологических больных [18, 91,124]. Риск развития послеоперационной инфекции у онкологических больных достигает 74,1 % и превышает таковой у пациентов с общехирургическими заболеваниями (25,9 %) [159]. С высокой вероятностью ИО развиваются после трансплантации солидных органов [11]. Создание современных крупных федеральных специализированных высокотехнологичных медицинских центров позволяет повысить качество оказания медицинской помощи. В то же время, лечение в одном стационаре пациентов с различными нозологическими формами заболевания, в том числе больных со злокачественными новообразованиями и лиц, перенесших ортотопическую трансплантацию печени (ОТП), служит дополнительным фактором риска появления и распространения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Результаты локального микробиологического мониторинга необходимы для выявления особенностей спектра возбудителей и разработки схем антимикробной терапии у пациентов с иммуносупрессией разного происхождения, находящихся на лечении в специализированных хирургических стационарах [18, 63, 68]. Основой проведения микробиологического мониторинга является качественная диагностика, включающая выделение, идентификацию, определение клинической значимости и чувствительности возбудителей к антимикробным препаратам (АМП). Совершенствование микробиологических методов диагностики способ-

ствует ускорению назначения рациональной АМП у иммунокомпрометированных больных, что актуально и имеет значение для медицинской науки и практического здравоохранения.

Степень разработанности темы исследования

В исследованиях последних лет основное внимание уделяется выявлению особенностей спектра и изменений чувствительности к антибактериальным препаратам возбудителей ИО, развивающихся у пациентов стационаров [3, 63, 66, 68]. Получены данные об основных тенденциях изменения спектра возбудителей у онкологических больных [18], а также пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов [10,11,69]. Установлено широкое распространение в стационарах антибиотикоустойчивых микроорганизмов [13, 77], что доказывает необходимость проведения локального микробиологического мониторинга в стационарах, где находятся на лечении пациенты с иммуносупрессией разного происхождения.. Эти данные необходимы для разработки и своевременной коррекции протоколов антибактериальной профилактики и терапии ИО, однако большинство исследований не учитывают широких возможностей использования современных средств и новых технологий в микробиологической диагностике, что свидетельствует о недостаточной разработанности темы исследования.

Цель исследования: разработать и внедрить клинически обоснованный алгоритм микробиологической диагностики инфекционных осложнений в специализированном хирургическом стационаре по лечению иммунокомпрометированных больных.

Задачи исследования:

1. Изучить видовой состав, выявить спектр основных патогенов у иммунокомпрометированных пациентов специализированного онкологического стационара федерального уровня.

2. Провести сравнительный анализ спектра лидирующих возбудителей инфекционных осложнений у онкологических больных и лиц, перенесших ОТП, и

обосновать необходимость дифференцированного подхода к ускоренной бактериологической диагностике.

3. Определить особенности спектра возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМВП) у пациентов с опухолями разной локализации (рак почки, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря) и обосновать необходимость оптимизации схемы первичного посева клинического материала.

4. Разработать клинически обоснованный алгоритм микробиологических исследований для диагностики инфекционных осложнений и своевременной коррекции схем антимикробной терапии у иммунокомпрометированных больных.

5. Оценить эффективность предложенного алгоритма исследования путем оценки в динамике соотношения возбудителей разных таксономических групп по отделениям и частоту выделения устойчивых к антибактериальным препаратам лидирующих патогенов.

Научная новизна

Впервые в России в специализированном хирургическом стационаре федерального уровня проведено комплексное микробиологическое обследование и разработан дифференцированный подход к диагностике ИО у онкологических больных и пациентов, перенесших ОТП. Получены новые данные о видовом составе возбудителей и их антибиотикорезистентности, установлено участие редко встречающихся представителей микроорганизмов разных таксономических групп, что расширяет представление об этиологии ИО у иммунокомпрометированных пациентов. Выявлена взаимосвязь использования современных средств и новых технологий в микробиологической диагностике и устойчивой тенденции снижения резистентности клинических изолятов бактерий к основным АМП. Предложены рекомендации по внедрению комплекса методов оптимизации бактериологического исследования для учреждений специализированной хирургической помощи иммунокомпрометированным пациентам.

Теоретическая значимость работы

Единый методический подход к бактериологическому обследованию расширил представление об этиологии ИО у иммунокомпрометированных пациентов. Полученные данные позволили получить наглядное представление о совокупной роли возбудителей и их ассоциаций в развитии ИО у онкологических больных и пациентов, перенесших ОТП. Результаты микробиологического мониторинга антибиотикочувствительности и генетических механизмов резистентности основных возбудителей были положены в основу разработки схем рациональной антимикробной терапии в специализированном онкологическом хирургическом стационаре федерального уровня. Разработанные принципы ранней микробиологической диагностики способствуют оптимизации лечебной тактики у иммунокомпрометированных пациентов и предупреждению развития жизнеопасных осложнений.

Практическая значимость работы

Определен спектр возбудителей ИО у иммунокомпрометированнных пациентов специализированного хирургического стационара федерального уровня, выявлены лидирующие патогены и установлена роль редко встречающихся микроорганизмов у онкологических пациентов и больных, перенесших ОТП. Мониторирование видовой структуры и профилей антибиотикорезистентности патогенов позволило выявить корреляцию между видовым составом микроорганизмов и нозологической формой заболевания для разработки стратегии микробиологической диагностики возбудителей ИО у иммунокомпрометированных больных. С целью оптимизации лечебной тактики и предупреждения развития жизнеопасных осложнений разработан и внедрен оригинальный алгоритм микробиологической диагностики.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования явилось последовательное применение методов научного познания. Работа выполнена с использованием бактерио-

логических, аналитических и статистических методов. Объектом исследования явился алгоритм организации бактериологических исследований клинического материала, полученного от иммунокомпрометированных больных. Предметом анализа были штаммы возбудителей ИО. Структура и логическая организация работы определены целью и задачами исследования и включают ряд этапов: выявление доминирующих патогенов, динамическую оценку антибиотикорезистентности лидирующих возбудителей, а также обоснование необходимости модернизации бактериологической лаборатории для организации локального микробиологического мониторинга и своевременной коррекции схем антибактериальной терапии. Ввод, статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью программного пакета WHONET 5.4 (ВОЗ) и пакета программ Microsoft Office Excel 2007 для Windows 7.0. В работе использовали методы описательной статистики с оценкой значимости различий показателей с помощью t-критерия Стьюдента и точного критерия Фишера.

Положения, выносимые на защиту:

1. Спектр возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов специализированного онкологического стационара федерального уровня включает представителей 54 родов и 139 видов бактерий и микромицетов, доля ассоциаций возбудителей достигает 30 %. Лидирующими патогенами являются *E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, E. faecalis* и *C. albicans*.

2. Уточнены особенности спектра возбудителей в зависимости от нозологической формы основного заболевания и его локализации: основными возбудителями инфекционных осложнений у онкологических больных были *E. coli* и *E. faecalis*, а у больных, перенесших ОТП, – *P. aeruginosa* и *C. albicans.* От больных раком почки чаще, чем от больных раком мочевого пузыря, выделялись представители рода *Streptococcus.*

3. Предложенный алгоритм, включающий дополнительное использование при первичном посеве оптимального набора хромогенных сред, современных бактериологических анализаторов и качественных критериев интерпретации резуль-

татов, позволил усовершенствовать схему бактериологического обследования иммунокомпрометированных пациентов и сдержать распространение резистентных штаммов микроорганизмов.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Проведено комплексное микробиологическое исследование клинических образцов с использованием современных бактериологических анализаторов. О достоверности полученных результатов свидетельствует значительное количество наблюдений (исследовано 8100 клинических образцов биоматериала от 3543 пациентов) специализированного онкологического хирургического стационара федерального уровня с различными формами ИО. Научные положения документированы таблицами, рисунками, диаграммами. На основании результатов проведенных исследований разработан алгоритм исследования образцов биологического материала с использованием современных микробиологических технологий, что позволило оптимизировать назначение адекватной рациональной антимикробной терапии.

Результаты работы представлены, доложены и обсуждены на VIII конгрессе стран Северо-Балтийского региона по инфекционным болезням “Well-known infections – the hottest features of diagnostics and treatment” (СПб, 2009), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инфекции и инфекционная безопасность в гематологии и службе крови» (СПб, 2010, 2012, 2014 гг.), научно-практических конференциях ФГБУ «РНЦРХТ» МЗ РФ «Принципы антибактериальной терапии с учётом микробиологического мониторинга в стационаре» (СПб, 2011, 2012, 2013 гг.), на заседании отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов в С. Петербурге и Ленинградской области (СПб, 2014 г.), Всероссийской научно-практической конференции «Медицинская лабораторная диагностика: будущее и новации» (СПб, 2014г.).

Разработаны и внедрены в работу НИЦ и клиники военно-полевой хирургии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ

(194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, тел. (812) 329-71-57) рационализаторские предложения: «Способ количественной оценки бактериальной обсемененности отделяемого дыхательных путей» (рег. № 12267/6 от 09.11.2010 г.), «Способ количественной оценки бактериальной обсемененности венозного катетера» (рег. № 12947/8 от 29.11.2011г.), «Способ интерпретации результатов определения чувствительности клинически значимых изолятов бактерий» (рег. № 13760/9 от 13.11.2013г.), «Способ определения чувствительности клинически значимых изолятов бактерий» (рег. № 13761/9 от 13.11.2013 г.), «Способ выявления полирезистентных штаммов грамотрицательных бактерий» (рег. № 13762/9 от 13.11.2013 г.).

Результаты диссертационной работы внедрены и реализованы:

–в практической деятельности специалистов научно-исследовательской лаборатории (военной хирургии) НИЦ ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, тел. (812) 329-71-57) (акт реализации от 08.02.14 г.); ФГБУ «РНЦРХТ МЗ РФ (197758, Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, д.70, тел. (812) 596-85-26) (акт реализации от 26.02.14 г.); ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России (194044, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д.54, тел. (812) 339-39-39) (акт реализации от 15.01.2014).

– в системе последипломной подготовки врачей-специалистов на кафедре микробиологии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, тел. (812) 329-71-57) (акт реализации от 08.02.14 г.);

– при выполнении и подготовке отчета по теме инициативной научно-исследовательской работы 03.05.04.1012/0208 «Стрела» (2012 г.) и выполнении заказной научно-исследовательской работы 02.05.04.1315/0054 «Капкан» (2014 г.) в соответствии с планом работы ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ (акт реализации от 08.02.14 г.).

– при составлении информационного письма Комитета по здравоохранению правительства Санкт-Петербурга «Алгоритм ускоренного бактериологического

исследования с использованием хромогенных питательных сред» № 02/24-32/15-0-0 от 22.01.2015г.

Апробация диссертационной работы проведена на межкафедральном совещании кафедр военно-полевой хирургии, клинической биохимии и лабораторной диагностики, микробиологии и научно-исследовательского центра академии (протокол № 159/14 от 25.12.2014г.).

Организация и проведение диссертационного исследования одобрены Комитетом по вопросам этики при ФГБУ «РНЦРХТ» МЗ и СР РФ (протокол № 6-12 от 15.06.2012 г.).

По материалам диссертации опубликовано 23 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях и журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

Личное участие автора в получении результатов

Личное участие автора осуществлялось на всех этапах работы. Выполнено планирование, организация, проведение бактериологических исследований образцов клинического материала иммунокомпрометированных пациентов, сформулированы цель и задачи, определены объем и методы исследований, проведены анализ и обобщение полученных результатов, разработаны практические рекомендации для внедрения. Сформированы базы данных микробиологической лаборатории стационара для проведения мониторинга с последующим анализом полученной информации при помощи компьютерной программы WHONET 5.4 (ВОЗ). Проведен анализ резистентности лидирующих микроорганизмов к антибактериальным препаратам, применяемым в специализированном хирургическом стационаре федерального уровня. В работе сформулирован и разработан алгоритм микробиологического обследования иммунокомпрометированных пациентов в специализированном хирургическом стационаре федерального уровня. Статистическая обработка, анализ полученных данных и обобщение результатов исследований выполнены автором. Личный вклад автора в изучение литературы, сбор, обобще-

ние, анализ, статистическую обработку материала, написание и оформление диссертации – 100%.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 126 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 174 источника, из них 81 отечественных и 93 зарубежных, одного приложения. Работа иллюстрирована 21 рисунком, 14 таблицами.

ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ И РОЛЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ В ОПТИМИЗАЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ (обзор литературы)

1.1. Состояние иммунной системы и причины развития инфекционных осложнений у онкологических больных и пациентов, перенесших трансплантацию печени

В современной научной литературе представлены обширные данные об иммуносупрессивном состоянии у онкологических больных в результате нарушения всех составляющих иммунного ответа. Выявлены нарушения основных механизмов противоинфекционной защиты, что может быть обусловлено как основным заболеванием, так и побочными эффектами проводимого лечения [5, 18]. Установлено, что опухолевая ткань вырабатывает биологически активные вещества, обладающие иммуносупрессивным действием [74, 113], а вероятность рака тем выше, чем больше пул пролиферирующих клеток, снижена активность функции макрофагов, способности ДНК к репарации [45, 111]. Некоторые авторы подчеркивают иммунную несостоятельность организма при раке, понимая под этим не только недостаточный уровень иммунных реакций, но и способность опухолевой клетки «ускользать» от иммунологического надзора [45, 115, 128]. Развитие инфекций является следствием обструкции опухолью различных органов. Кроме того, опухолевая ткань, особенно с распадом, представляет питательную среду для развития микроорганизмов [44].

Отмечается снижение функциональной активности нейтрофилов, развитие лимфопении [74]. Спектр возбудителей у онкологических больных с дефектами клеточного иммунитета широко варьирует и во многом определяется вариантом основного заболевания, степенью иммуносупрессии и наличием других нарушений противоинфекционной защиты [160]. Наиболее частыми возбудителями инфекций у таких больных являются внутриклеточно развивающиеся микроорганизмы, способные сохраняться и размножаться в макрофагах при дефиците или

дисфункции Т-лимфоцитов. К этим патогенам относятся бактерии (*M. tuberculosis* и атипичные микобактерии, *Legionella* spp., *Nocardia asteroids* и *Salmonella* spp.), грибы (*C. neoformans, H. capsulatum, C. immitis, P. carinii*) [5, 18]. Важнейшими составляющими гуморального иммунитета являются иммуноглобулины и система комплемента, поэтому их дефицит или дефекты могут привести к развитию тяжелых инфекционных осложнений (ИО). Вероятность возникновения инфекций увеличивается при снижении концентрации иммуноглобулинов или экспрессии HLA-DR на макрофагах, дефиците или дисфункции других компонентов гуморального иммунитета [18, 85, 156].

Противоопухолевое лечение пациентов со злокачественными новообразованиями включает в себя применение хирургического, комбинированного и комплексного методов [76]. Каждый из них может оказать негативное воздействие на иммунную систему больного. В условиях нарушения целостности кожных покровов и слизистых оболочек нормальная микрофлора может стать патогенной и привести к развитию, как локальных инфекций, так и системных [51]. Так, после хирургического вмешательства в первые 5 суток после операции продолжается снижение основных функций нейтрофилов и макрофагов [5, 74]. Частота развития пневмонии у таких пациентов достигает 30 %, сепсиса −10 % [5, 18, 74]. Наиболее распространенными инфекционными осложнениями после хирургических вмешательств в онкологии являются поверхностные и глубокие раневые инфекции, а также инфекции дыхательных и мочевыводящих путей [36, 44]. В своем исследовании H. Tsujimoto и соавт. (2009) наглядно продемонстрировали, что послеоперационные осложнения достоверно снижали показатели 3- и 5-летней выживаемости больных после радикальных операций [124].

Весомой причиной нарушений клеточного иммунитета у онкологических больных является цитостатическая, иммуносупрессивная и радиотерапия и выраженность и продолжительность его нарушений во многом определяется интенсивностью и длительностью лечения [18, 164]. При проведении лучевой терапии регрессируют барьерные функции облучаемых тканей, существенно снижается количество иммунокомпетентных клеток, особенно при использовании режимов

ускоренного фракционирования [164]. Выраженным иммуносупрессивным действием обладает лечение кортикостероидами, поскольку кортикостероиды ингибируют агрегацию гранулоцитов, обладают выраженной антилимфоцитарной активностью, повышая тем самым риск развития инфекции [136, 155]. Снижаются секреторная функция кожных желез и регенерирующая активность эпителия, повышается проницаемость кожных покровов для микроорганизмов [128]. Действие цитостатических препаратов связано с повреждением мембран и нарушением метаболизма клетки, не только опухолевой, но любой, в том числе и иммунной. Частое осложнение химиотерапии – снижение уровня гранулоцитов, клеток, поддерживающих неспецифическую резистентность организма [5, 74]. В результате противоопухолевого лечения они становятся качественно неполноценными, так как утрачивают способность нормального фагоцитоза и хемотаксиса. Риск развития тех или иных инфекционных осложнений напрямую зависит от глубины нейтропении и ее длительности [74]. Химиотерапия приводит к уничтожению естественной микрофлоры мочевыделительных, пищеварительных путей и других отделов организма и замещению собственных микроорганизмов госпитальными штаммами. Подсчитано, что за один день пребывания в больнице меняется приблизительно половина эндогенной флоры кожи и кишечника больного, находящегося в состоянии нейтропении, при этом обычные грамположительные аэробы и анаэробные бактерии замещаются аэробными грамотрицательными микроорганизмами [5, 18, 51, 74, 85]. Агрессивное химиолучевое лечение практически в 100 % приводит к развитию дисбактериозов кишечника [18, 45, 76]. У пациентов с выраженной иммуносупрессией, с длительной глубокой нейтропенией возможна инвазия патогенов в кровь с развитием бактериемии, фунгемии, вирусемии [51, 128].

Нарушение противоинфекционного и противоопухолевого иммунитета у пациентов, перенесших ортотопическую трансплантацию печени (ОТП), являются неизбежным побочным эффектом медикаментозной иммуносупрессии, необходимой для подавления реакции отторжения трансплантируемых органов [34]. Инфекционные осложнения у данной группы пациентов трудно диагностировать

в связи со стертыми клинических симптомов инфекционного осложнения из-за выраженной иммунодепрессии вследствие основного заболевания и иммуносупрессивной терапии [11, 75]. По данным литературы, от 30 % до 80 %, всех реципиентов трансплантанта печени переносят как минимум один эпизод серьезного инфекционного заболевания [70, 152]. Многообразие инфекционных осложнений связано с особенностями пациента, который, как правило, находится в тяжелом и крайне тяжелом состоянии до трансплантации, переносит технически сложную операцию и в дальнейшем пожизненно получает иммуносупрессивную терапию [11, 73, 75].

1.2. Спектр возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов

Инфекционные осложнения являются причиной гибели трети онкологических больных [91, 124] и могут достигать 50 % в структуре причин смертности пациентов после трансплантации печени. Реципиенты трансплантата печени относятся к группе высокого риска, которые могут переносить не один эпизод инфекционного заболевания очень широкого этиологического спектра, часто смешанного характера, тяжелого течения, с высокой вероятностью летального исхода [11, 70, 73, 75].

В течение последних десятилетий хирургические методы лечения развиваются особенно бурно, но послеоперационные гнойно-септические осложнения выступают как неблагоприятный прогностический фактор, ухудшающий отдаленные результаты лечения у иммунокомпрометированных больных. Так, риск развития инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) у онкологического больного значительно превышает таковой у пациентов с общехирургическими заболеваниями (74,1 % против 25,9 %) [159]. Вероятность инфекционных осложнений у пациентов после трансплантации печени выше по сравнению с реципиентами трансплантантов других органов [11, 112, 144].

Инфекции являются основным осложнением, связанным с внутрисосудистыми катетерами, причем в 80% случаев они вызываются грамположительными

бактериями, как правило, стафилококками [90, 98, 151, 158]. Целостность кожных покровов нарушается при установке различных имплантируемых устройств [36]. Микроорганизмы связываются с их поверхностями, формируют отдельные колонии, которые сравнительно быстро (в течение 24 ч) формируют сплошную биопленку [103, 162]. Инфекционные осложнения у этих больных обычно вызваны комбинацией госпитальных микроорганизмов [5, 51]. Одним из серьезных факторов риска является назначение предоперационной антибактериальной терапии, продолжительность и частота госпитализаций, наличие катетеров [22, 69, 88].

Диагностика ИО у пациентов после трансплантации печени может быть затруднена тем, что оно может протекать с клинической картиной реакции отторжения [11, 73, 75, 105, 119]. Многие авторы подчеркивают, что большинство инфекций приходится на первые 2 мес. после ОТП, что в основном, совпадает по срокам с наибольшей частотой реакции активации отторжения, и, следовательно, наиболее агрессивной иммуносупрессивной терапией [69, 88, 122]. В этом случае обнаружение микроорганизмов с использованием различных диагностических тестов не дает однозначного подтверждения инфекционного генеза клинических симптомов без исключения реакции отторжения, так как вполне возможна простая колонизация пациента микроорганизмами без развития патологического процесса [142]. Многие авторы подчеркивают, что особенно у реципиента выражена повышенная восприимчивость к таким внутрибольничным грибковым возбудителям, как *Aspergillus* и *Candida*. Инфекция, вызванная *Aspergillus*, чаще всего связана с санитарно-техническими особенностями клиники [11, 69, 104, 114].

Медикаментозная иммуносупрессивная терапия остается главным фактором, определяющим восприимчивость пациента к инфекциям [119, 144]. Чаще всего указанием на наличие ИО становится положительный посев крови. Это является основанием для проведения диагностических исследований. Первичная бактериемия наблюдается у пациентов после ОТП, но достаточно редко [119, 123]. Трансплантация печени относится к категории чистой/ контаминированной операции, поэтому раневые инфекции достаточно редко наблюдаются у пациентов после ОТП, в основном у очень тяжелых пациентов после повторных опера-

ций, развивается, в основном, в ранний период после трансплантации и связана обычно с техническими осложнениями или особенностями реципиента [11]. Бактериальная пневмония является наиболее частой, угрожающей жизни инфекцией у реципиентов, прочие локализации инфекционного процесса являются более редкими [114].

Тяжесть состояния, подверженность инфицированию внутрибольничными штаммами, неоднократные повторные госпитализации, выраженность иммуносупрессии, в том числе и вследствие курсов лучевой, химио и антибактериальной терапии, приводит к необходимости продолжительного лечения таких пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРиТ), где послеоперационные ИО развиваются наиболее часто. Спектр лидирующих возбудителей в ОРиТ разных стран довольно однообразен. По результатам исследования, проведенного в ОРиТ восьми развивающихся стран, среди возбудителей вентилятор-ассоциированных пневмоний лидировали *Enterobacteriacea* (26 %) и *P. aeruginosa* (26 %), *S. aureus* (22 %), *Acinetobacter* spp. (20 %), среди выделенных при инфекциях мочевыводящих путей (ИМВП) было 42 % энтеробактерий, 30 % грибов *Candida* spp., 13 % *P. aeruginosa*. В Турции среди возбудителей пневмоний преобладали *Pseudomonas* spp. (35,8 %), *Acinetobacter* spp. (27,3 %), *Klebsiella* spp. (13,4 %), развитие ИМВП было связано с *Candida* spp. (37,1 %), *Pseudomonas* spp. (16,5 %), *Enterococcus* spp. (13,1 %), катетер-ассоциированные инфекции кровотока вызывали КОС (20,0 %), *Acinetobacter* spp. (13,4 %), *S. aureus* (13,1 %), *Pseudomonas* spp. (5 %) и *Enterococcus* spp. (5 %) [120]. По результатам исследования состава грамотрицательных нозокомиальных возбудителей госпитальных инфекций у пациентов ОРиТ России, *P. aeruginosa* была первым по частоте (30 %) микроорганизмом, выделяемым в ОРиТ. Реже выделялись представители семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli* – 18,4 %, *K. pneumoniae* – 14,6 %, *Proteus* spp. – 10 %, *Enterobacter* spp. – 7,6 %), за ними следовал *Acinetobacter spp*. (6,9%) [61]. Таким образом, спектр основных возбудителей ИО у пациентов стационаров разных стран включал однотипный перечень микроорганизмов. Спектр возбудителей госпитальных инфекций значимых различий не имеет, что подчеркивает общ-

ность причин развития осложнений. Вместе с тем, удельный вес различных возбудителей в структуре госпитальных штаммов различается в разных стационарах и в динамике изменяется. Так, при сравнении результатов, полученных в разные годы в стационарах России, отмечается нарастание частоты выделения *P. aeruginosa* до 34,8 %, *Acinetobacter spp*. – до 16,3 % [67].

Данные международных многоцентровых исследований свидетельствуют о снижении чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) большинства возбудителей, а также о появлении новых механизмов резистентности [170]. Так, данные проекта NPRS свидетельствуют об увеличении резистентности за период с 1999 по 2003 гг. штаммов *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *E.coli* к цефалоспоринам при сохранении чувствительности к карбапенемам на уровне 90-100 %. В проекте MYSTIC 99,6 % всех выделенных штаммов Enterobacteriaceae за период с 1997 по 2003 гг. в 130 центрах Европы, Северной и Латинской Америки сохраняли чувствительность к карбапенемам, в то время как чувствительными к цефтазидиму, ципрофлоксацину или пиперациллину/тазобактаму были 85-86 % штаммов [166]. Подобный профиль характерен для штаммов, выделенных в большинстве стран, принимавших участие в данном исследовании [165]. По данным проекта SENTRY, штаммы *Klebsiella* spp., продуцирующие БЛРС, являются серьезной клинической проблемой в странах Латинской Америки (45,4 % штаммов резистентны к цефалоспоринам III поколения и азтреонаму), Западного Тихоокеанского региона (24,6 %) и в Европе (22,6 %) [171]. Наряду с этим, 99-100 % штаммов клебсиелл сохраняли чувствительность к имипенему и меропенему, в то время как профиль чувствительности в отношении других АМП широкого спектра значительно варьировал. Например, клинические штаммы *K. pneumoniae* были чувствительны в Канаде (94,4 %) и США (87,6 %), в то время как в Европе резистентными были 36,4% штаммов. Мониторинг динамики устойчивости ведущих патогенов ИО у больных с онкопатологией к современным антибактериальным препаратам показал, что процент чувствительных штаммов *Klebsiella* spp. и *Proteus* spp. составил 50,4 % для амоксициллина/клавуланата и 55,5 % для ципрофлоксацина. Некоторые авторы полагают, что отсутству-

ют штаммы энтеробактерий, резистентные к карбапенемам [21, 63]. Но в последние годы наблюдается быстрое распространение резистентности к карбапенемам среди семейства *Enterobacteriacea*. Формирование устойчивости к карбапенемам может быть обусловлена несколькими механизмами резистентности. Особенно серьезную угрозу представляет фермент NDM-1. В 2008 г. фермент NDM-1 впервые был обнаружен в Швеции у штамма *K. pneumoniae*, выделенного от пациента, ранее госпитализированного в Индии, и с тех пор идентифицирован у различных родов грамотрицательных бактерий (ГОБ) в разных странах мира [143, 150, 163]. Международные исследования указывают, что фермент NDM-1 гидролизует все бета-лактамы, включая пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, за исключением азтреонама. Активными остаются только тигециклин и колистин, т.к. плазмиды, кодирующие этот фермент, зачастую включают в себя детерминанты множественной резистентности. Действительно, карбапенем-резистентные энтеробактерии являются потенциальной угрозой потери активных антибиотиков. Появление и распространение ГОБ, продуцирующих фермент NDM-1 в настоящее время представляет угрозу пациентам стационаров во всем мире [132, 150].Lowe C.F. (Lowe C.F. et al., 2013) считает, что если пациента-носителя NDM-1 госпитализировать, то он может стать источником вспышки внутрибольничной инфекции (ВБИ), поэтому необходимо превентивно выявлять больных на носительство бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемазы. В то же время, анализируя состояние вопроса в Санкт-Петербурге, Агеевец В.А., и соавт. в 2011-2013 гг. были выявлены энтеробактерии продуцирующие карбапенемазы, а именно, изоляты *K.pneumoniae* продуцирующие NDM-1, OXA-48 и KPC-2 и изоляты *E.cloacea*, вырабатывающие VIM-4 и KPC-2 [77] . В ОРиТ крупного российского онкологического центра в 2013 г. была зафиксирована вспышка, вызванная MDR штаммами *K.pneumoniae*. У 66,6 % пациентов с бактериемией, вызванной данным штаммом, был отмечен летальный исход [13]. Таким образом, исследования на определение ферментов БЛРС и карбапенемаз становятся необходимыми и актуальными для бактериологических лабораторий, занимающихся клиническими исследованиями.

Проблемными остаются неферментирующие грамотрицательные бактерии – *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. В Турции, Южной Африке, Германии чувствительность этих возбудителей к карбапенемам составляет лишь 65-75 % [157]. По данным исследования MYSTIC, карбапенемы сохраняют достаточно высокую активность в отношении штаммов *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp., в то время как исследования в рамках проекта SENTRY показали, что не более 70 % штаммов в США и менее 30 % штаммов из Латинской Америки оставались чувствительными к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму и ципрофлоксацину [171].

По результатам исследования “Micromax”, в московских стационарах наиболее активными против *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp были цефтазидим, цефепим и имипенем. Чувствительность *Acinetobacter* spp к нетилмицину составил 75,8 %, в то время как к амикацину − 41 %, а к гентамицину – только 14,5 % [81]. Мониторинг динамики устойчивости ведущих патогенов ВБИ у больных с онкопатологией к современным антибактериальным препаратам показал, что среди госпитальных штаммов *P. aeruginosa* 80,3 % штаммов оказались чувствительны к карбапенемам. Не менее 65 % штаммов были чувствительны к антисинегнойным цефалоспоринам III поколения, цефалоспоринам IV поколения и аминогликозидам III поколения, только 35,5 % штаммов оказались чувствительны к фторхинолонам и защищенным карбоксипенициллинам [63].

В соответствии с данными NNIS CDC, отмечена тенденция к увеличению доли инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов – *MRSA* и метициллинрезистентным *S.epidermidis, VRE* [3, 93]. Частота выделения *MRSA* в стационарах США, Японии, странах Западной Европы достигает 40-70 %. В Российской Федерации, по данным Научно-исследовательского института микробиологии и эпидемиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, она колеблется от 30 до 70 % [40]. Дехнич А.В. с соавт. (2008) в многоцентровом исследовании по определению профилей резистентности *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОРиТ российских стационаров установили, что частота штаммов резистентных к оксациллину составила 49,9 % (варьируя от 0 до 83 % в различных стационарах).

Все штаммы чувствительны к ванкомицину, линезолиду, к гентамицину нечувствительны 45,5 % штаммов (уровень резистентности значительно колебался в различных регионах от 0 до 90,1 %). Фторхинолоны характеризовались относительно невысокой антистафилококковой активностью: 45,1 % штаммов не чувствительны к ципрофлоксацину (колебание по стране от 0 до 83,3 %), 34,3 % – к левофлоксацину 29,5 % – к моксифлоксацину. К линкомицину резистентны 42,1% возбудителей, к тетрациклину – 42,3 % исследованных штаммов, к эритромицину – 47,2 %, колебание уровня резистентности в различных стационарах составило от 0 до 76,7 %, от 5,9 % до 68,8 %, от 0 до 82,4 % соответственно.

В последние годы отмечено также возрастание этиологической роли грибов, в частности *C. albicans* при ИО. Так, за 1991-1995 гг. частота грибковых инфекций у хирургических пациентов повысилась с 0,1 до 1,3 на 1000 случаев. По данным проспективного реестра противогрибковой терапии (PATH ALLIANCE, 2004-2008 гг.) 94,3 % пациентов были инфицированы одним штаммом *Candida*, а 5,7 %- двумя или более штаммами *Candida*. Возбудителями инфекций в 97 % случаев являлись пять штаммов – *C.albicans* (42,1 %), *C. glabrata* (26,7 %), *C. parapsilosis* (15,9 %), *C. tropicalis* (8,7 %), *C.krusei* (3,4 %), однако частота выделения каждого штамма в значительной степени варьировалась в различных центрах. Среди пациентов отделений интенсивной терапии новорожденных и хирургических отделений, не связанных с трансплантацией, наиболее частыми являлись инфекции, вызванные *C.albicans* (54,8 % и 44, 5% ИГИ соответственно) [21, 145]. По данным многоцентрового итальянского исследования (проект AURORA), в 2013 г. на инфекции в ОРиТ, вызванные дрожжевыми грибами, приходилось 87,6 % случаев, 40,2 % которых были вызваны *C.albicans*, а 59,6 % представляли собой кандидемию, вызванную видами *Candida*, отличными от *C.albicans*. Наиболее частым возбудителем в этой группе была *C. parapsilosis* (61,8 %); эта инфекция была независимым образом связана с диагнозом травмы при поступлении, продолжительным пребыванием в ОРиТ, парентеральным питанием. Инфекции, вызванные плесневыми грибами, были диагностированы в 13 случаях (12 %), включая 12

случаев инвазивного аспергиллеза легких, среди которых наиболее распространенным возбудителем был *A. fumigatus* (41,7 %) [87].

По данным литературы, спектр бактериальных таксонов у онкологических больных ограничен довольно узким кругом видов микроорганизмов: грамположительные стафилококки, стрептококки, энтерококки и грамотрицательные *E.coli* и *P. aeruginosa*, а также другие представители семейства *Enterobacteriacecae* и неферментирующих грамотрицательных палочек [5, 44].

Наиболее часто в качестве субстрата, несущего инфекционное начало, в онкологической клинике при урогенитальной инфекции, является моча. Флора, обсеменяющая мочу урологических больных, в 72,6 % случаев представлена ГОБ. Большинство их составляют *P. aeruginosa* (31 %) и *E. coli* (15 %), *Candida* spp. (14,3 %). Хирургические раны урологических больных обсеменены теми же микробными видами, которые выделяли из мочи этих больных, но в иных пропорциях. Грамположительная флора составляет 54,8 %, а грамотрицательная – 41,9 %. Грибы составили 7,9 % флоры. Особое место среди патогенов, встречающихся у онкологических больных занимают дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Они встречаются во всех исследованных субстратах и наиболее часто, с частотой 14,3 %, – в моче у урологических больных [21, 36, 44, 51]. Совпадение таксономической структуры флоры, обсеменяющей мочу и раны этих больных, позволяет считать мочу главным источником и переносчиком инфекции [44].

Наиболее частыми осложнениями раннего послеоперационного периода являются инфекционные – пиелонефрит, раневая инфекция и пневмония, в этиологии, которых, по данным литературы, ведущую роль играет *E. coli*, встречающаяся в 80-90 % случаев, раневые послеоперационные инфекции отмечаются у 31 %, преобладают поверхностные нагноения у 60 % и пневмонии у 39 % −40 % [21, 36, 44, 51]. При осложнённых инфекциях доля *E. coli* значительно уменьшается. Вместе с тем увеличивается содержание других представителей семейства *Enterobacteriacea*, таких как *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Citrobacter* spp, *Serratia marcescens, Providencia rettgeri, Morgannella* spp, а также неферментирующих бактерий *Acinetobacter spp* и *P. aeruginosa*. 40 % штаммов энтеробактерий, выде-

ленных от этих больных, являются гиперпродуцентами хромосомных бета-лактамаз и БЛРС. В ряде исследований показано, что доля стафилококков в общей структуре возбудителей инфекции мочевыводящих путей (ИМВП) сравнительно невысока и не превышает 11 % [36].

Сходные данные приводятся и при описании спектра возбудителей ИО у больных после ОТП. Большинство бактериальных, а также многие грибковые инфекции развиваются в течение первого месяца после ОТП [70].

В структуре осложнений 50−60 % составляют бактериальные, 20−40 % – вирусные, 5−12 % –грибковые, и менее 10 % приходится на паразитарные инфекции. В работе испанских исследователей (Garcia S. et al., 1998) были проанализированы данные от 133 пациентов в период от 6 мес. до 22 лет после трансплантаций печени. ИО имелись у 78 из 96 пациентов, подвергшихся трансплантации, при этом 72,8 % осложнений были бактериальной природы, 17,2 % – грибковой и 7,8 % – смешанной. Наиболее частыми местами локализации инфекций явились брюшная полость (48,3 %) и кровь (26,1 %). Грамположительные аэробные бактерии преобладали (63 %) над грамотрицательными (54 %) и грибами [122]. В целом, процент бактериальной инфекций после трансплантации печени варьирует, по разным источникам, от 33 % до 68 % и в структуре причин смертности после ОТП занимает долю от 13 % до 77 % [72, 80]. По данным G.M. Danovitch, у реципиентов почечного трансплантата до 80 % инфекций имеют бактериальную природу [69].

В настоящее время некоторые авторы полагают, что приоритетными факторами, от которых зависит тип инфекции, со стороны больного является проведенная до трансплантации антибиотикопрофилактика, а со стороны возбудителя – наличие резистентности к антибиотикам. Чаще всего реципиенты, которые получали до трансплантации антибиотики широкого спектра действия, являются восприимчивыми к аэробной грамотрицательной флоре и энтерококкам. К грамположительным возбудителям более восприимчивы пациенты, которым проводилась деконтаминация кишечника пероральными антибиотиками. У пациентов, которым регулярно проводилось лечение ß-лактамными антибиотиками и клинда-

мицином, повышен риск развития колитов, вызванных *C. difficile* [82, 88].

В научных исследованиях приводятся данные, что чаще всего бактериемию у реципиентов трансплантата печени вызывают *Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, coagulase-negative Staphylococcus, S. aureus, Enterococcus spp.,* реже всего – анаэробные бактерии, и неблагоприятный исход связан с ГОБ, возбудителями с множественной лекарственной резистентностью и грибами *Candida*, особенно если эмпирическая антимикробная терапия была неадекватной или отсроченной. В исследованиях, включавших пациентов с бактериемией после ОТП, приводятся разные данные по соотношению грамположительной и грамотрицательной флоры. Некоторые исследования показали, что у 49 % реципиентов бактериемия вызвана аэробными грамотрицательными бактериями. По последним данным, отмечается некоторый сдвиг в сторону грамположительной флоры [127]. Многие трансплантационные центры приводят разные данные по возбудителям бактериемий у реципиентов трансплантации печени. Так, например, приводятся данные о том, что 70,7 % бактериемий были вызваны грамположительными патогенами, и из них 37,8 % из всех эпизодов приходилось на инфекцию коагулазо-негативными стафилококками, в то время как *MRSA* – только 4,2 % случаев, другие авторы приводят данные о его выявлении с частотой до 23 % [73,127].

Пневмонию у реципиентов солидных органов вызывают в основном ГОБ, в том числе *P. aeruginosa* и *Enterobacteriaceae*. К другим возбудителям относят *S. aureus* , *S.pneumoniae, Legionella sp*. и *Candida* sp. [11, 73]. Инфекция мочевых путей может проявляться различными клиническими формами, но нередко бывает бессимптомной и обычно связана с длительной катетеризацией мочевого пузыря. Инфекции мочевыводящих путей у реципиентов трансплантации печени вызваны чаще всего штаммами *K. pneumoniae, E. coli* и особенно *P. aeruginosa*, с резистентностью к цефалоспоринам расширенного спектра действия, и ассоциированы с нозокомиальными ИМВП [11, 69]. Таким образом, возбудители бактериальных инфекций у пациентов после ОТП представлены как грамположительной (*S. aureus, coagulase-negative Staphylococcus, E. faecalis, E. faecium*), так и грамотрицательной флорой.

Результаты исследований, проведенных в течение последних 20 лет, указывают на возрастание роли ИО, и частности, бактериемии, у пациентов, перенесших ОТП. Так, по данным Singh N. et al. в период с 80-х по 2003 г частота развития бактериемии возросла с 10,1 % до 45,7 % [89]. Выявлено изменение доминирующей роли возбудителей, что связывают с широким применением фторхинолонов для профилактики послеоперационного перитонита [69]. Кроме того, изменение спектра возбудителей ИО может быть связано с профилактикой некоторых типичных инфекций посредством вакцинации. Так, в 90-х годах, центры трансплантации сообщали о ведущей роли ГПБ, в частности *S. aureus* как основного возбудителя ИО после ОТП, что совпадало с ведущей ролью этого патогена как возбудителя внутрибольничных инфекций [11]. В то же время, если в 1989−1993 гг. на долю бактериемий, вызванных ГОБ, приходилось 25 %, а на долю грамположительных бактерий (ГПБ) –75 %, то в период с 1998 по 2003 гг. доля случаев бактериемий, вызванных ГОБ, возросла в два раза. Отмечено сокращение роли *MRSA, P. aeruginosa* и *VRE* и 20 %-ное возрастание долей бактериемий, связанных с *K. pneumoniae* [105]. В настоящее время у пациентов после трансплантации органов распространенной причиной развития бактериемии и сепсиса остаются ГОБ [119, 127]. Возрастает частота выявления в посттрансплантационном периоде полирезистентных штаммов бактерий и грибов. Так, по данным исследования работы трансплантационного центров в КНР, в течение 2003 − 2006 гг. на долю эпизодов бактериемии, вызванных ГОБ, приходилось 69,7 %, более половины случаев были связаны с полирезистентными штаммами бактерий [114]. В то же время не теряют своего этиологического значения ГПБ, особенно стафилококки и энтерококки. По данным CDC, *MRSA*, устойчивые к бета-лактамным антибиотикам и зачастую к аминогликозидам, фторхинолонам, макролидам, тетрациклинам, линкозамидам составляют до половины всех культур *S. aureus*, выделяемых от пациентов отделений реанимации США и Западной Европы [123]. К тому же сейчас появились данные о выявлении у реципиентов трансплантата печени *S. aureus* с промежуточной чувствительностью к гликопептидам [11, 73].

Частота колонизации ванкомицин-резистентным *E. faecium* у реципиентов

солидных органов колеблется между 11 и 63 %, а инфекция развивается у 1 – 16 % больных. [11, 69]. Инвазивные формы инфекции *VRE* ассоциируются с неблагоприятным прогнозом и повышенной смертностью в пределах 60−82 % [3, 69], что может быть связано с запоздалым назначением антибактериальной терапии [3]. Многие авторы считают, что *VRE* – инфекция является независимым фактором риска смерти, другие полагают, что является только индикатором иммунокомпрометированных реципиентов. Колонизация *VRE* может быть не установлена при единственном посеве кала или перианального мазка, поэтому необходимо получить 3 пробы кала с недельными интервалами не менее чем за 3 недели до отмены изоляционных мер [11, 69]. Линезолид, даптомицин и тигециклин активны против штаммов *VRE* [123].

Многие авторы указывают на то, что частота грибковых инфекций у пациентов после ОТП выше, чем у реципиентов других органов. В ранних исследованиях грибковые инфекции составляли от 20 до 50 %, по современным данным заболеваемость снизилась до 4 % и в среднем составила 1 %. Предполагается, что во время операции трансплантации печени за счет нарушения целостности желчных протоков и тонкого кишечника происходит транслокация грибковой флоры, колонизирующей желудочно-кишечный тракт [11, 117]. По данным Neofytos D. et al. [141], при эпидемиологическом анализе результатов трансплантации органов 17 центров США в 2004-2007 гг., в 59 % случаев причиной возникновения инвазивного микоза были грибы рода *Candida*, при этом возрастала роль кандидозов, вызванных *Candida non-albicans* (53,6 % всех инвазивных кандидозов), доля инвазивного аспергиллеза составило 25 % микозов [129, 141]. После пересадки печени выявляются следующие представители рода *Candida*: *C. albicans* (78 %), *C. tropicalis* (8 %), *C.glabrata* (7 %), *C. parapsilosis* (5 %), *C. lusitaniae* (1 %) [11, 112, 117]. Среди микромицетов рода *Aspergillus* в структуре грибковых инфекций после ОТП наиболее часто выявляемым подвидом является *A. fumigatus*, реже *A. flavus, A. niger, A. terreus* [119, 138]. Более того, у пациентов после ОТП отмечены спорадические случаи грибковых заболеваний, вызванных *Cryptococcus*, *Mycor*, *Trichosporon*, *Scedosporium* и *Fusarium*, а также эндемичных микозов [117]. Неэффек-

тивность лечения угрожающей жизни грибковой инфекции, несмотря на адекватную антимикотическую терапию, может диктовать необходимость полной отмены иммуносупрессии для сохранения жизни реципиента, иногда даже ценой полной потери трансплантата [119, 138].

1.3. Особенности проведения микробиологического мониторинга возбудителей инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов

Продолжающееся селекционное давление антибиотиков и нарушение в связи с этим резистентности возбудителей ИО, появление новых эффективных иммуносупрессантов, использование в онкологии и трансплантологии режимов длительной противомикробной профилактики или вакцинации приводят к изменению спектра возбудителей ИО. По мнению И.А. Курмукова (2010), назначение перитрансплантационной антибиотикопрофилактики и эмпирической антибиотикотерапии должно основываться не только на результатах обследования конкретного пациента, но и на данных эпидемиологических исследований, проводимых на базе конкретных центров трансплантации и медицинских учреждений, в которых осуществляют лечение потенциальных доноров органов [34]. Опыт зарубежных центров и результаты исследований, выполненных на их базе, служат ориентиром, обозначающим общую тенденцию изменения спектра возбудителей ИО, но необходимо проводить подобные исследования в отечественных специализированных стационарах.

В каждом стационаре формируется собственный микробный пейзаж, обусловленный специализацией стационара, нозологическими формами заболевания у пациентов и т.п. Распространение возбудителей инфекций связанных с медицинской помощью (ИСМП) приводит к изменениям спектра микроорганизмов, что может быть своевременно выявлено путем проведения локального микробиологического мониторинга, то есть системы слежения за бактериологической обстановкой, раннего выявления и оценки экстремальных ее отклонений от нормы [68]. Руководящие документы указывают на необходимость проведения в стацио-

наре микробиологического мониторинга [48]. Особенное значение такие исследования приобретают в специализированных стационарах, где находятся на лечении пациенты со сниженным иммунитетом, в частности, больные со злокачественными опухолями разной локализации и лица, перенесшие ОТП. Основным направлением работы бактериологической лаборатории стационара является получение данных для разработки практических рекомендаций по адекватному применению АМП [20]. Мониторинг с участием исследовательских центров по всему миру позволяет выявить основные тенденции в формировании резистентности для разработки стратегий по сдерживанию ее распространения. Таким образом, по данным многоцентровых исследований, важную роль в назначении рациональной антимикробной терапии играет регулярный локальный мониторинг резистентности наиболее значимых возбудителей инфекций в каждом стационаре, и он обязателен для выбора адекватной антибактериальной терапии в конкретной клинической ситуации.

По данным литературы, результаты проведения локального микробиологического мониторинга используются как инструмент для решения разных задач. Наиболее распространенным является представление о необходимости анализа результатов бактериологического исследования видовой структуры и спектра чувствительности к АМП возбудителей ИО, выделенных из образцов клинического материала больных, для своевременной коррекции схем эмпирической антимикробной химиотерапии в конкретном стационаре или его отделениях [3, 13, 21, 27, 28, 29, 34, 81, 96]. С другой стороны, многие исследователи сообщают о необходимости проведения сравнительных исследований результатов посевов образцов клинического материала пациента и объектов внешней среды стационара. Изменения в спектре возбудителей ИО, обнаружение сходных с ними патогенов в смывах с объектов внешней среды и воздушной среды стационара свидетельствует о возможности распространения госпитальных штаммов. Эти результаты необходимы врачу-эпидемиологу для расследования случаев возникновения ИСМП, проведения плановых и внеплановых санитарно-противоэпидемических мероприятий. Такой подход активно разрабатывают специалисты-эпидемиологи

Л.П. Зуева и соавт. (2004) [41], В.И. Покровский и соавт. [20, 41, 56] и другие исследователи. Кроме того, ряд авторов описывают возможность проведения в отношении особенно тяжелых пациентов микробиологического мониторинга как многократного повторного бактериологического исследования различных видов образцов. Целью такого исследования является своевременная этиологическая диагностика, выявление процессов реинфекции, суперинфекции, персистенции возбудителя или развития генерализованных форм ИО для оптимизации процесса индивидуального сопровождения лечебного процесса у пациентов данных категорий [58, 63, 68]. Решение любой из этих задач невозможно без организации проведения бактериологических исследований на современном уровне, обеспечивающем высокое качество результатов.

1.4. Современные технологии в проведении микробиологических исследований.

Основной задачей современных бактериологических лабораторий является участие в разработке эффективной тактики и схем рациональной антибактериальной терапии для максимально быстрого ее назначения [31]. Деятельность бактериологических лабораторий ЛПУ регламентируется основными положениями ряда нормативно-правовых документов, в числе которых Постановления Правительства Российской Федерации, Приказы МЗ РФ, но основными руководящими документами в повседневной работе являются Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535 и МУК 4.2.1890-04 [42, 47]. Вместе с тем, в концепции «Развития службы клинической лабораторной диагностике Российской Федерации на 2003-2010г» подчеркивается, что микробиологические исследования не отвечают современным потребностям и должны иметь приоритетное развитие среди других видов лабораторной диагностики. Остается актуальным вопрос о низкой автоматизации бактериологической лаборатории по сравнению с европейскими странами [30, 79]. Требуется пересмотр показаний для микробиологических лабораторных исследований, стандартизация микробиологической диагностики, разработка экспертных систем, внедрение высокопроизводительной автоматизированной

техники исследования [56]. Решению данных задач способствует автоматизация и стандартизация всех этапов микробиологического исследования с помощью современного оборудования [5, 66, 131, 137]. Оптимальным решением проблемы является использование в клинических бактериологических лабораториях автоматизированных анализаторов и коммерческих тест-систем. Автоматизация этапов приготовления, разлива и введения добавок (ростовых, селективных) помогает исключить трудноконтролируемые ошибки, влияющие на весь дальнейший процесс [31, 57, 65]. В качестве примера можно привести разработку автоматических систем для приготовления агаризованных сред производства компаний Jouan (Швейцария), bioMerieux (Франция), Systek (Германия). Повышению качества бактериологических исследований способствует применение хромогенных питательных сред, принцип действия которых основан на выявлении специфических или уникальных ферментов микроорганизмов. Хромогенные среды впервые были разработаны доктором Аленом Рэмбахом и позволяют быстро и просто идентифицировать различные микроорганизмы прямо в процессе культивирования на традиционных питательных средах по изменению цвета колоний [54, 145]. Это экономит время и стоимость рабочей силы, сокращает затраты и повышает эффективность лабораторного исследования [44, 154].

В последние годы все большую актуальность приобретает исследование крови на стерильность. Автоматизация скрининга гемокультур существует в мире более 20 лет, в России этот вид исследований представлен двумя приборами: серии BACTEC (Becton Dickinson, США) и Bact/Alert (bioMerieux, Франция). Кроме того, на современном этапе развития оснащения микробиологической лаборатории необходимым прибором является масс-спектрометр MALDI BioTyper [37]. Устройство определяет дрожжи, мицелиальные грибы, грамположительные и грамотрицательные бактерии. Для выполнения одной операции требуется несколько минут [35]. Линейка аппаратов MALDI BioTyper представлена разными фирмами bioMerieux (Франция) и Bruker (Германия). В последнее время проводятся активные научные исследования по разработке и внедрению новых технологий экспресс-диагностики микроорганизмов с помощью прибора, основанного

на методе гигантского рамановского рассеивания [2, 23].

Большие возможности для комплектации микробиологической лаборатории, а фактически для выбора дальнейшего пути развития, предлагаются в настоящее время в сфере автоматизации процесса идентификации микроорганизмов и выявления их чувствительности к антибактериальным препаратам. Условно приборы для этих задач можно разделить на полуавтоматические системы: iEMS (Labsystems, Финляндия и MiniAPI или его аналог ATB- Expression, bioMerieux, Франция) и автоматические: VITEK и VITEK2 (bioMerieux, Франция), BD Phoenix (Becton Dickinson, США), WalkAway (Dade Behrig, США). Экспертная система бактериологических анализаторов дает рекомендации в соответствии с международной экспертной системой оценки назначения лекарственных средств и позволяет осуществить эпидемиологические исследования [174].

В настоящее время актуальной задачей медицинской микробиологии является не только определение спектра чувствительности возбудителей к АМП, но и расшифровка механизмов устойчивости полирезистентных ГОБ и ГПБ. Решению этих задач способствует проведение сравнительных исследований с использованием разных подходов. Так, в 2013 г. M. Holfelder et al. [118] сравнили возможность выявления механизмов устойчивости к карбапенемам у энтеробактерий с использованием селективных хромогенных сред, масс-спектрометра MALDI BioTyper, Hodge-теста, данных по чувствительности к АМП, полученных с помощью бактериологического анализатора и Е-тестов и показали, что хромогенные среды можно использовать для предварительной диагностики наличия у ГОБ карбапенемаз различных классов. В ряде исследований указывается также, что результаты определения наличия карбапенемаз и БЛРС с помощью хромогенных сред для определения полирезистентных ГОБ сопоставимы с данными молекулярно-генетического типирования [108, 109, 110, 154].

Как следует из обзора литературы, инфекционные осложнения у иммунокомпрометированных пациентов представляют собой проблему, требующую особого внимания врачей-микробиологов. Спектр существующих возбудителей и вызываемых ими инфекции достаточно разнообразен. В публикациях отечественных

и зарубежных авторов отражена проблема инфекционных осложнений у данной категории пациентов в целом, но не представлены сравнительные данные о возбудителях ИО у больных с вторичным иммуносупрессией разного происхождения. Существующие данные освещают только отдельные аспекты бактериологической диагностики, не затрагивающие конкретно пациентов с иммуносупрессивным состоянием, разноречивы данные о возбудителях ИО и основных тенденциях изменения их спектра. Не организован и не систематизирован оптимальный алгоритм бактериологического обследования иммунокомпрометированных пациентов с целью раннего выявления инфекционных осложнений и назначения адекватной антибактериальной терапии. Отсутствуют рекомендации по применению современных технологий микробиологической диагностики возбудителей ИО и выявлению наиболее актуальных механизмов устойчивости к АМП, которые могут стать основой у иммунокомпрометированных пациентов специализированных хирургических стационаров для более своевременной и эффективной антимикробной терапии ИО [30, 79]. Решению этих задач и было посвящено наше исследование.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

Работа выполнена на базе бактериологической лаборатории ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ. Центр является уникальным учреждением, выполняющим российские и международные фундаментальные и прикладные научные проекты в области ядерной медицины, оказывающим специализированную и высокотехнологичную медицинскую помощь. Проводится оперативное лечение злокачественных новообразований печени III-IV стадии, поджелудочной железы, почек, органов малого таза с использованием радиочастотной абляции, криодеструкции, имплантации артериальных и венозных портов для регионарной продленной химиоинфузии. Ежегодно лечебное учреждение оказывает специализированную медицинскую помощь от 870 до 1165 больных, проводится до 1200 операций. Кроме того, за период проведения исследования 114 пациентам была выполнена ортотопическая трансплантация печени.

Центр располагает многопрофильной клинической базой на 260 коек и включает 4 отделения терапевтического (лучевой терапии и протонной терапии) на 120 коек и 4 отделения хирургического профиля (рентгеноваскулярной и оперативной хирургии, рентгенохирургических методов диагностики и лечения, оперативной урологии, радиохирургической гинекологии) на 140 коек, отделение анестезиологии и реанимации на 8 коек.

В период с 2006 по 2012 гг. проведено бактериологическое исследование образцов биоматериалов, полученных от 3543 пациентов стационара. Среди них было 3429 онкологических больных и 114 пациентов, перенесших операцию по ОТП от трупного донора.

2.2. Отбор материала для бактериологического исследования

Отбор материала для бактериологического исследования проводили при строгом соблюдении правил асептики в соответствии с нормативными докумен-

тами [43]. Было исследовано 8100 клинических образцов биоматериала. Распределение числа исследованных образцов по виду материала представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Исследованные образцы клинического материала

Образец клинического материала	Число образцов клинического материала	
	абс.	%
моча	4031	49,77
раневое отделяемое	2258	27,88
кровь	882	10,89
отделяемое нижних дыхательных путей	686	8,47
фрагмент венозных катетеров	155	1,91
другое	88	1,09
Итого	8100	100,00

Было выделено 4033 клинически значимых штамма микроорганизмов. Распределение штаммов по виду клинического материала представлено в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Распределение штаммов в зависимости от вида клинического материала

Образец клинического материала	Количество выделенных штаммов	
	абс.	%
моча	1847	45,80
раневое отделяемое	1489	36,92
кровь	277	6,87
отделяемое НДП	354	8,78
фрагмент катетера	33	0,82
другое	33	0,82
Итого	4033	100,00

Кровь для исследования отбирали путем пункции локтевых вен и внесения во флаконы для выявления анаэробных и аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и микромицетов Материалом для исследования возбудителей инфекций мочевыводящих путей были пробы мочи средней порции или получен-

ные с помощью катетера, возбудителей нижних дыхательных путей – мокрота, аспират трахеобронхиального дерева, бронхоальвеолярная и плевральная жидкость. В группу «раневое отделяемое» относили материалы, выделенные из послеоперационных ран (раневое отделяемое, пункционный материал, экссудаты полостей, отделяемое по дренажам, асцитическая жидкость). Исследовали также фрагменты удаленных венозных катетеров. Доставка материала в лабораторию осуществлялась не позднее 1 ч после забора.

Более 70 % обследованных лиц были пациентами хирургических отделений стационара. От этих больных было получено 60 % штаммов возбудителей ИО (таблица 2.3).

Таблица 2.3 – Распределение клинически значимых штаммов микроорганизмов в группах пациентов различных отделений

Характеристика пациентов	Количество обследованных		Количество выделенных штаммов	
	Абс.	%	Абс.	%
Пациенты хирургических отделений	2730	77,05	2648	60,14
Пациенты терапевтических отделений	512	14,45	283	6,43
Пациенты ОРИТ	301	8,50	1102	25,03
Итого:	3543	100,00	4033	100,00

2.3. Методы исследования

Посев патологического материала проводили немедленно после доставки в лабораторию с использованием общепринятых отечественных и зарубежных методик [47, 133] и инструкций производителей питательных сред.

Для бактериологического исследования крови и других в норме стерильных жидкостей использовали автоматический прибор Bact/Alert (bioMerieux, Франция). Флаконы с образцами крови помещали в прибор и инкубировали при 35° С до 7 суток. Посев проб мочи проводили по методу Голда на поверхность питательного агара с 5 % кровью барана и хромогенную неселективную среду для подсчета микроорганизмов в моче и прямой идентификации «Уриселект агар»

(Bio-Rad, Франция), Сабуро агар с хлорамфениколом (Bio-Rad, Франция), хромогенный агар для идентификации грибов рода Candida – «Brilliance Candida agar» (Oxoid, Великобритания). Пробы с раневым отделяемым дополнительно засевали на желточно-солевой агар по Чистовичу и агар Шедлера (bioMerieux, Франция). Пробы отделяемого нижних дыхательных путей после предварительной обработки засевали количественно на поверхность питательного агара с 5 % кровью барана, хромогенную среду «Уриселект агар» (Bio-Rad, Франция) (рационализаторское предложение № 12267/6 от 09.11.2010 г.), Сабуро агар с хлорамфениколом (Bio-Rad, Франция), хромогенный агар «Brilliance Candida agar» (Oxoid, Великобритания), на желточно-солевой агар по Чистовичу и агар Шедлера (bioMerieux, Франция). Посевы помещали в термостат и инкубировали от 24 до 72 час при 37°С. Чашки Петри с посевами на хромогенные среды и среды для идентификации грибов инкубировали при 35°С. Посевы на агаре Шедлера термостатировали в герметичных контейнерах (bioMerieux, Франция) при 37°С. Анаэробную среду создавали при помощи газогенерирующих пакетов (bioMerieux, Франция). Исследование микробной обсемененности фрагментов венозных катетеров проводили количественным методом, предложенным Brun-Buisson [101], в нашей модификации (рационализаторское предложение № 12947/8 от 29.11.2011 г.) Высевали количественно на 5 % кровяной агар, хромогенный «Уриселект агар» и агар Сабуро. Посев инкубировали при 37°С в течение 5 суток.

Клинически значимыми считали все случаи выделения микроорганизмов из проб крови [4], при посеве фрагментов катетеров – в концентрации 10^3 КОЕ/мл и более [101]. Клиническую значимость возбудителей, выделенных из мочи, оценивали в соответствии с критериями, представленными в литературе [33, 60]. При исследовании проб раневого отделяемого критерием клинической значимости возбудителя считали его общепринятое значение 10^5 КОЕ/мл [1], мокроты и аспирата трахеобронхиального дерева –10^6 КОЕ/мл, бронхоальвеолярной жидкости – 10^4 КОЕ/мл [46].

Идентификацию выделенных в клинически значимом количестве культур микроорганизмов проводили общепринятыми методами в соответствии с их куль-

туральными, тинкториальными, морфологическими и ферментативными свойствами и с использованием номенклатуры Берджи и сведений, обобщенных в руководствах по клинической микробиологии, с использованием идентификационных карт автоматического микробиологического анализатора Vitek-2 (bioMerieux, Франция).

При обнаружении колоний с морфологией, характерной для микромицетов, для быстрой идентификации *C. albicans* и дифференциации ее от других видов, использовали тест на ростковую трубку. Для этого 24-часовую культуру термостатировали с сывороткой крови в течение 2 - 3 ч при 37º С и отмечали образование многочисленных ростковых трубок и нитей псевдомицелия. При росте на хромогенной среде «Brilliance Candida agar» типичных колоний и обнаружении в мазках после инкубации ростковых трубок культуру идентифицировали как микромицет, относящийся к *C. albicans*. Окончательную дифференциацию проводили с использованием диагностических карт для идентификации дрожжевых грибов на анализаторе Vitek -2. Идентификация грибов проходила за 15 часов.

Продолжительность полного бактериологического анализа на наличие аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов составляла от 2 до 4 суток.

Определение чувствительности бактерий к АМП проводили автоматизированным методом с помощью анализатора Vitek 2 (bioMerieux, Франция), использовали карты для определения чувствительности к антибиотикам Antimicrobial Susceptibility Tesicard (AST), предназначенные для определения минимальных подавляющих концентраций (МПК). Изучали чувствительность каталазоположительных бактерий к ампициллину, бензилпенициллину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину, оксациллину, эритромицину, клиндамицину, гентамицину, тетрациклину, ванкомицину, триметоприм/сульфаметоксазолу, линезолиду, рифампицину, фосфомицину, мупироцину, нитрофурантоину, фузидиевой кислоте. Для определения метициллин-чувствительности *Staphylococcus* spp. использовали скрининг-тест с цефокситином. Каталазоотрицательные микроорганизмы исследовали на чувствитель-

ность к ампициллину, бензилпенициллину, левофлоксацину, моксифлоксацину, тетрациклину, ванкомицину, линезолиду. Энтерококки исследовали на чувствительность к гентамицину в концентрации 500 мкг/мл и стрептомицину в концентрации 1000 мкг/мл.

Грамотрицательные микроорганизмы исследовали на чувствительность к ампициллину, гентамицину, нетилмицину, амоксациллин/клавулановой кислоте, амикацину, азтреонаму, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму, цефоперазону/сульбактаму, ципрофлоксацину, имипенему, меропенему, колистину, триметоприму/сульфаметоксазолу, фосфомицину, нитрофурантоину, тетрациклину, начиная с 2010 г. – к тайгециклину. При сравнении устойчивости штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов отделений разного профиля, из списка АМП исключили цефоперазон/сульбактам и нитрофурантоин, так как чувствительность к первому АМП определяли только для штаммов, выделенных от пациентов ОРиТ и хирургических отделений, а чувствительность ко второму препарату – только для штаммов, полученных из мочи пациентов терапевтических отделений в случае неосложненного течения ИМВП.

При необходимости проводили дополнительные исследования с помощью Е – тестов на агаре Мюллера-Хинтон (биоМерье, Франция).

Для дифференцирования энтеробактерий – продуцентов БЛРС или AmpC использовали результаты определения чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к антибактериальным препаратам с помощью карт, а дополнительно применяли диско-диффузионный метод определения чувствительности к цефокситину [42].

При изучении грибов рода *Candida* spp. определяли чувствительность к амфотерицину В, флуконазолу, флуцитозину, вориконазолу.

Полученные результаты вносили в программу «WHONET 5.4» (ВОЗ). Анализ данных проводили на основании критериев интерпретации результатов определения чувствительности Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [41, 42]. Начиная с 2011 г. использовали критерии интерпретации EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), представляющие более

близкие нам европейские данные, постоянно обновляемые и доступные в Интернете по адресу www. eucast.com/.

Начиная с 2010 г., при первичном посеве клинического материала использовали среды для скрининга энтеробактерий, продуцирующих БЛРС («CHROMagar ESBL», DRG, Франция) и среды для скрининга карбапенем-резистентных ГОБ («CHROMagar KPC», DRG, Франция).

Молекулярно-генетические исследования проводили на базе НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера совместно с научным сотрудником кандидатом медицинских наук С.А. Егоровой, за что выражаем искреннюю благодарность. Исследовали 21 штамм энтеробактерий, выделенных из образцов клинического материала. Детекцию генов бета-лактамаз расширенного спектра семейства CTX-M проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием праймеров и флуоресцентно-меченых олигонуклеотидных зондов для генетических групп CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9, CTX-M-8/25 [154]. Для выявления генов приобретенных карбапенемаз методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени использовали наборы реагентов ФБУН ЦНИИ эпидемиологии: «АмплиСенс® MBL» (для детекции генов карбапенемаз групп VIM, IMP и NDM) и «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL» (для детекции генов карбапенемаз групп KPC и OXA-48). ПЦР в режиме реального времени проводили на амплификаторе с системой оптической детекции CFX 96 (BioRad, США).

Внешний контроль проводили путем ежегодного участия в программах контроля качества Федеральной системы внешней оценки контроля качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК) МЗ РФ. Для внутреннего контроля качества определения чувствительности к АМП в лаборатории использовали контрольные штаммы микроорганизмов Американской коллекции типовых культур (ATCC). Все используемые штаммы имели соответствующую документацию, содержащую характеристику штаммов. Контрольные штаммы тестировали еженедельно параллельно с определением чувствительности клинических изолятов, а также при получении новой партии агара и новой партии Е–тестов и тест-систем с антибиотиками.

Ввод, статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью программного пакета WHONET 5.4 (ВОЗ) и пакета программ Microsoft Office Excel 2007 для Windows 7. Использованы методы описательной статистики: частоты, проценты, частотные распределения. Оценку значимости различий показателей с помощью проводили с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Фишера.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА

3.1. Общая характеристика бактериологической результативности исследования образцов клинического материала

В период с 2006 по 2012 гг. при проведении бактериологического исследования 8100 образцов биоматериалов, полученных от 3543 пациентов стационара, возбудители в клинически значимом титре были выявлены в 2954 (36,47 %) образцов материала. Результативность исследования проб раневого отделяемого, мочи и отделяемого НДП составляла от 34 до 43 %, образцов крови – 27,55 %.

Таблица 3.1 – Частота выделения монокультур и ассоциаций возбудителей из образцов клинического материала

Образец клинического материала	монокультура		ассоциации						всего образцов с наличием роста	
			из 2 штаммов		из 3 штаммов		из 4 штаммов			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
моча	1014	73,37	304	22,00	31	2,24	33	2,39	1382	100
раневое отделяемое	605	61,05	293	29,57	74	7,47	19	1,92	991	100
кровь	211	86,83	30	12,35	2	0,82	0	0,00	243	100
отделяемое НДП	228	79,72	48	16,78	10	3,50	0	0,00	286	100
фрагмент катетера	25	86,21	4	13,79		0,00	0	0,00	29	100
другое	14	60,87	8	34,78	1	4,35	0	0,00	23	100
Итого	2097	70,99	687	23,26	118	3,99	52	1,76	2954	100

Среди проб с наличием роста возбудителей в клинически значимом титре 46,78 % пришлось на образцы мочи, 33,55 % – раневого отделяемого, 8,23 % – крови и 9,68 % – отделяемого НДП. Таким образом, спектр возбудителей ИО у пациентов формировался в основном за счет уропатогенов и штаммов, выделенных при ИОХВ. При этом из 30 % исследованных образцов клинического матери-

ала микроорганизмы были выделены в виде ассоциаций микроорганизмов, из 70 % проб – в виде монокультур (таблица 3.1).

Использование при первичном посеве всех биоматериалов хромогенной неселективной среды для подсчета микроорганизмов в моче и прямой идентификации позволило уже через 18 часов качественно и количественно оценить состав ассоциаций микроорганизмов, выделенных в клинически значимом титре. Чаще встречались образцы, содержащие два вида возбудителей, доля таких проб составила 23,26 %. В 4 % (118 образцов) были выделены ассоциации из трех видов, а в 52 случаях (1,76 %) – из четырех. Таким образом, у обследованных нами пациентов инфекционные осложнения, вызванные ассоциациями возбудителей, встречались в 30 % случаев. Применение хромогенной среды позволило своевременно оценить качественный и количественный состав ассоциаций патогенов.

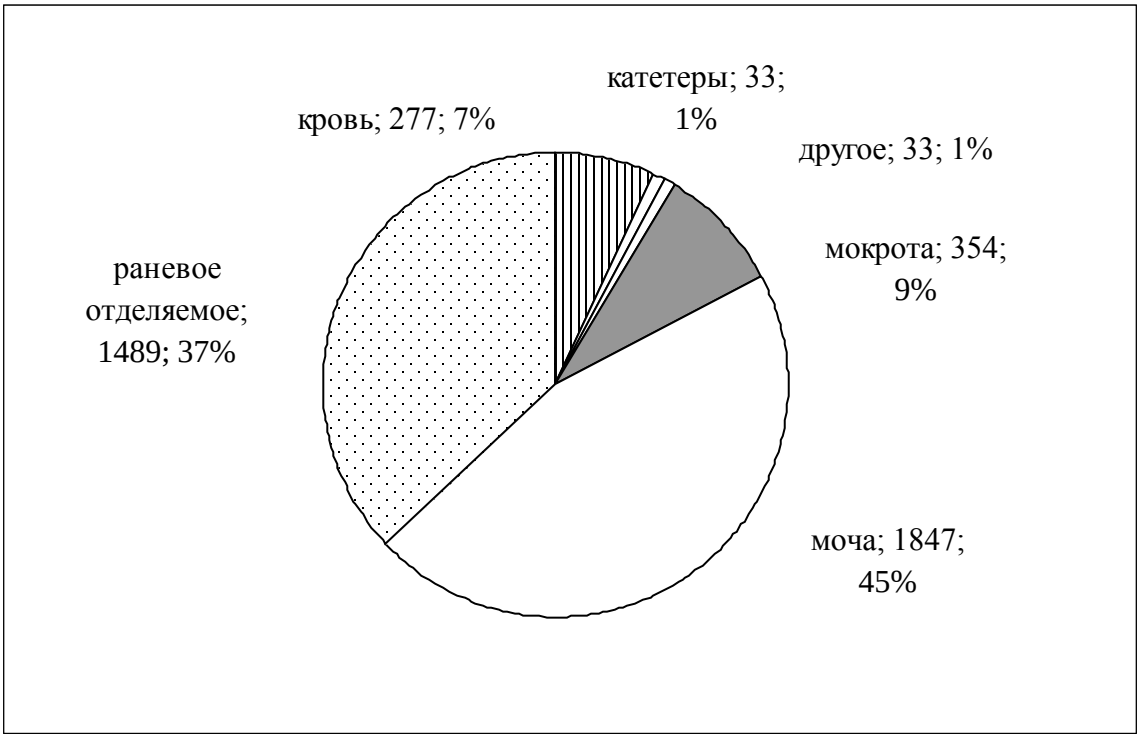

Рисунок 3.1 – Доля выделенных микроорганизмов в зависимости от вида клинического материала

Всего было выделено и идентифицировано 4033 штамма микроорганизмов, в том числе 2097 (52 %) были изолированы в виде монокультуры, а 1936 (48 %) –

в составе микробных ассоциаций. Наибольшее число клинически значимых изолятов пришлось на штаммы, выделенные из мочи (n=1847, 45,80 %). Из раневого отделяемого было выделено 1489 штаммов возбудителей (36,92 %). Из отделяемого НДП были выделены 354 штамма, из крови – 277 (рисунок 3.1).

Таким образом, анализ результатов бактериологического обследования пациентов специализированного хирургического стационара федерального уровня, проведенного в 2006-2012 гг., позволил установить, что микробный пейзаж стационара формировался в основном за счет возбудителей ИМВП (n=1847) и ИОХВ (n=1489) пациентов хирургических отделений.

3.2. Видовой состав изолятов, выделенных из клинического материала

Среди выделенных в клинически значимом титре изолятов преобладали ГОБ (n=2254; 55,89 %). На долю ГПБ пришлось 33,99 % (1371 штамма), микромицетов – 9,92 % (400 изолятов).

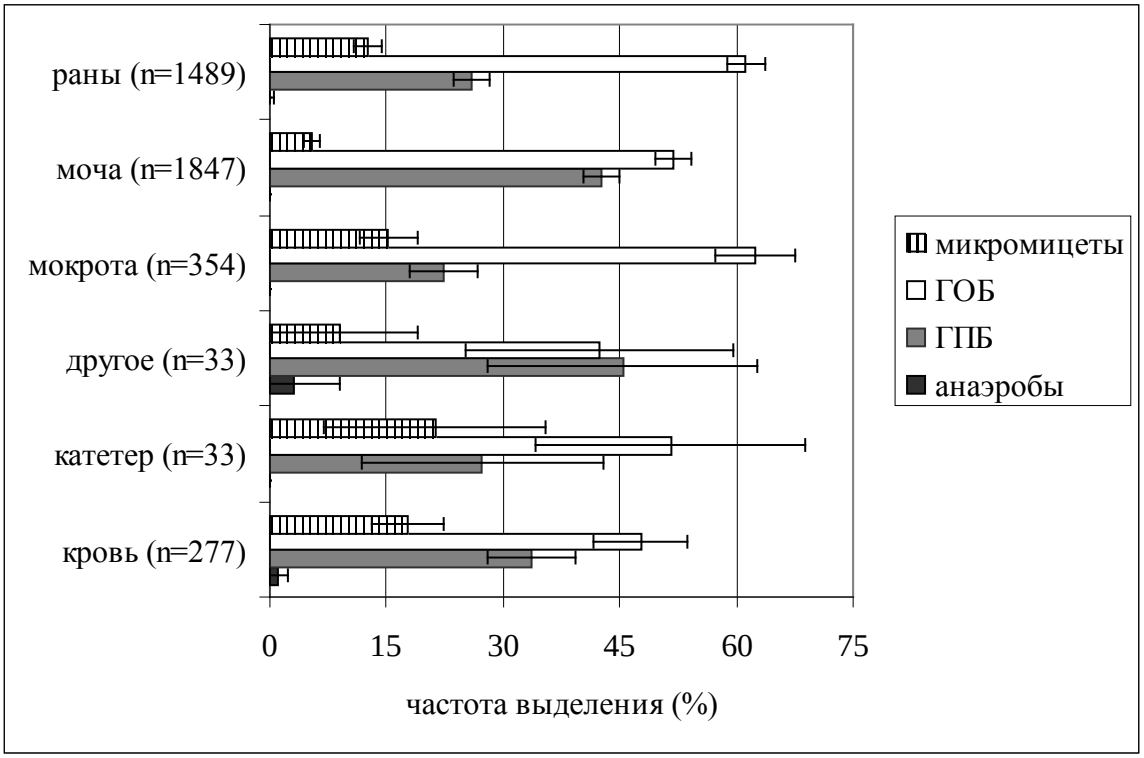

Рисунок 3.2 – Соотношение микроорганизмов разных групп в зависимости от вида клинического материала

При сопоставлении значений удельного веса основных групп возбудителей

инфекций у пациентов стационара было установлено, что доля ГОБ достоверно превышала долю ГПБ и микромицетов во всех видах исследованного материала ($p<0,05$). При этом доля ГОБ среди штаммов, выделенных из раневого отделяемого и нижних дыхательных путей, достигала 60 %, а крови, мочи, катетеров – 45-50 %. Таким образом, у обследованных нами пациентов с иммуносупрессией, находящихся на лечении в специализированном стационаре федерального уровня, представители группы ГОБ были наиболее актуальными возбудителями ИО (рисунок 3.2).Вместе с тем, существенным был и вклад ГПБ. Так, при исследовании мочи удельный вес возбудителей этой группы достигал 42,72 ± 2,30 %, крови – 33,57 ± 5,67 %, отделяемого ран – 25,92 ± 2,27 %. Микромицеты выделялись из всех видов исследованных материалов, но наиболее высоким их удельный вес был при исследовании фрагментов удаленных венозных катетеров (21,21 ± 14,23 %) и крови (17,69 ± 4,59 %).

Доля энтеробактерий составила 41,33 % от всех выделенных изолятов (n=1667) и колебалась от 22,32 % в отделяемом НДП и до 44,18 % в пробах мочи. Частота выделения энтеробактерий из проб мочи превышала этот показатель для других видов исследованного материала ($p < 0,05$) и не различалась при исследовании проб крови, фрагментов катетеров, раневого отделяемого. Доля НГОБ составила 14,55 % (n = 587), при этом частота выделения НГОБ из отделяемого НДП достигала 40,11 % и превышала этот показатель для других видов исследованного материала ($p< 0,05$). Доля ГПБ (n=1371, 33,99 %) в разных видах материала колебалось от 22,32 % в отделяемом НДП и до 42,72 % в пробах мочи. При этом каталазаположительные бактерии чаще выделялись из крови (24,55 %), фрагментов катетеров (24,24 %), отделяемого НДП (18,64 %), а из проб мочи (24,8 %) и раневого отделяемого (16,92 %) – каталазаотрицательные.

Присоединение микотической инфекции может существенно влиять на прогноз лечения, поскольку усугубляет состояние пациента и влечет за собой необходимость применения дополнительных антифунгальных препаратов. За период исследования было выделено 400 штаммов микромицетов в клинически значимом титре, что составило 9,92 % от всех выделенных изолятов. При этом доля микро-

мицетов в разных видах материала колебалось от 5,41 % в пробах мочи и до 21,21 % в смывах фрагментов венозных катетеров.

Анализ результатов локального микробиологического мониторинга позволил установить, что соотношение доли микроорганизмов – представителей разных групп бактерий и грибов постоянно изменялось. Так, удельный вес ГОБ в 2006 году составил 59,3 %, в 2007 г. увеличился до 66,67 %, а затем постепенно сокращался до значения 42,91 % в 2012 году (y= -2,39x+65,64; R^2=0,53). Одновременно отмечалась тенденция к постепенному повышению удельного веса ГПБ, доля которых в 2006 г. составляла 36,32 %, а к 2012 году – 48,79 %, несколько превысив уровень ГОБ. Доля микромицетов в спектре возбудителей ИО значимо не изменялась и колебалась на уровне от наименьшего (4,38 %) в 2006 г. до 15,26 % в 2011 г. (рисунок 3.3).

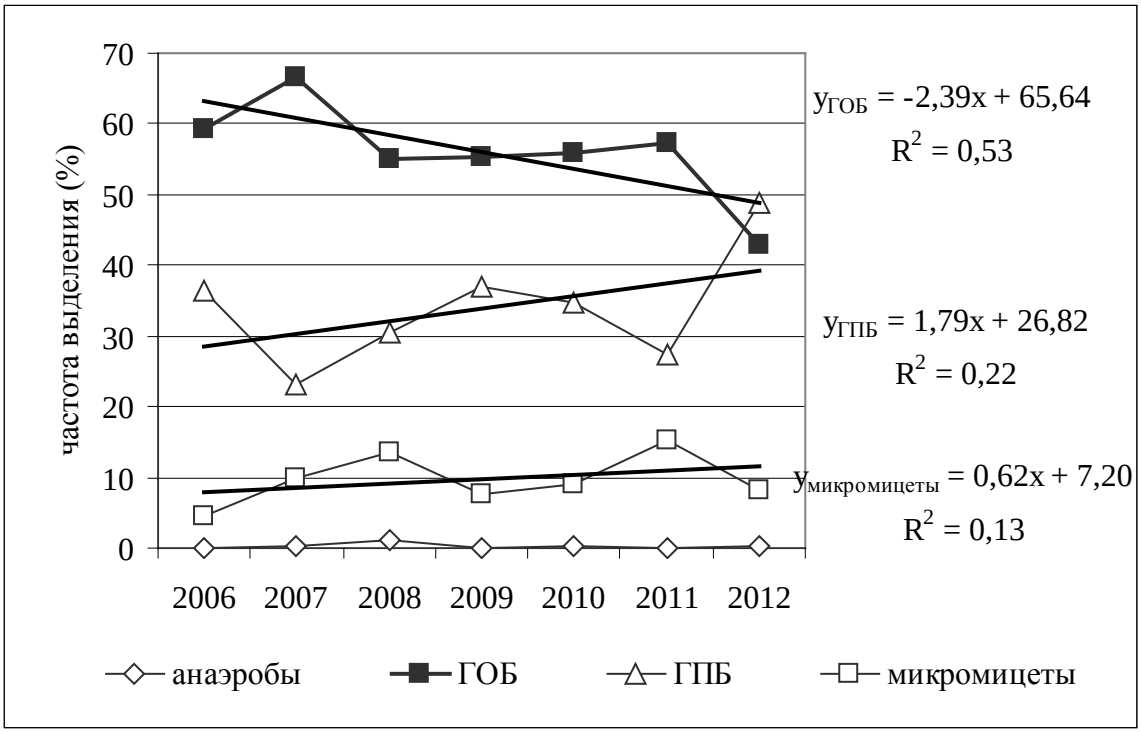

Рисунок 3.3 – Изменения удельного веса микроорганизмов разных групп в образцах клинического материала в 2006 – 2012 гг.

Среди выделенных штаммов ГОБ было 1667 (41,33 %) штаммов представителей семейства *Enterobactericeae* и втрое меньше (n=587; 14,55 %) штаммов, относящихся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ). Отмечались изменения в динамике удельного веса энтеробактерий и НГОБ в об-

разцах клинического материала: снижение удельного веса ГОБ (y = -2,39+65,64; R^2=0,53) было вызвано постоянным сокращением удельного веса ЭБ (y = -3,07+54,53; R^2=0,88). Повышение удельного веса ГОБ в 2011 г. было обусловлено повышением удельного веса НГОБ (рисунок 3.4).

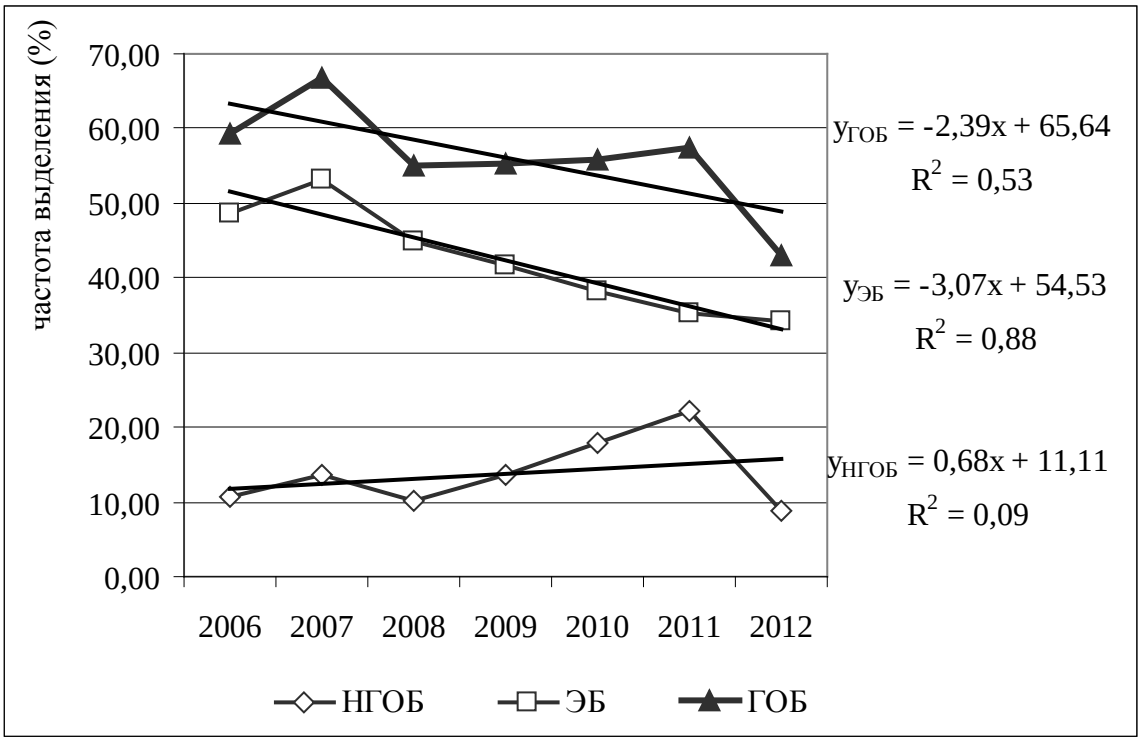

Рисунок 3.4 – Изменения удельного веса ГОБ, энтеробактерий и НГОБ в образцах клинического материала в 2006 – 2012 гг.

Удельный вес представителей вида *C.albicans* составил в среднем 6,14 % от числа выделенных возбудителей и имел разнонаправленные колебания от 3,6 % в 2006 до 6,2 % − в 2012 г., а *C. glabrata* составил 0,87 %. Колебания удельного веса *C. krusei* (0,55 %) были менее выраженными. В течение всего периода наблюдения, частота инфекционных осложнений, вызванных *C. albicans*, *C. glabrata*, *C.krusei*, носила характер постоянной величины, присущей, по-видимому, обследуемому контингенту.

За период проведения исследования из клинического материала пациентов стационара наиболее часто выделялись пять патогенов. Среди выделенных видов микроорганизмов преобладали *E. coli* (n=710; 17,8 %), *K. pneumonia* (n=400; 9,9 %), *E. faecalis* (n=339; 9,9 %), *P. aeruginosa* (n=315; 7,8 %) и грибы *C. albicans*

(n=248; 6,14 %). Многочисленными были также штаммы *E. faecium*, *E. cloacae*, *S. epidermidis*, *S. aureus* и *A. baumannii*. На долю представителей этих 10 видов пришлось 71,86 % всех выделенных возбудителей. При этом клиническое значение лидирующих возбудителей различалось в зависимости от локализации осложнения. Так, *E. coli* была основным возбудителем ИМВП и ИОХВ у обследованных пациентов (20,79 и 18,13 %, соответственно). Ее удельный вес среди возбудителей ИДП составил только 7,06 %, при бактериемии – 9,03 %. *K. pneumoniae* была основным возбудителем бактериемии (22,02 %), *E. faecalis* наиболее часто выделялся при ИМВП (16,78 %), а *P. aeruginosa* лидировала при ИДП (25,42 %),тогда как удельный вес этих возбудителей при ИО других локализаций не превышал 10 %. Нами установлено, что за период проведения исследования доминирующими возбудителями были следующие виды микроорганизмов (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Лидирующие возбудители в зависимости от локализации инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов стационара

Источник клинических изолятов	Лидирующие возбудители	число штаммов	
		Абс.	%
отделяемое дыхательных путей (n=354)	*P. aeruginosa*	90	25,42
	C. albicans	36	10,17
	S. aureus	33	9,32
моча (n=1847)	*E. coli*	384	20,79
	E. faecalis	310	16,78
	K. pneumoniae	176	9,53
раневое отделяемое (n=1489)	*E. coli*	270	18,13
	K. pneumoniae	135	9,07
	P. aeruginosa	132	8,87
кровь (n=277)	*K.pneumoniae*	61	22,02
	C. albicans	35	12,64
	S. epidermidis	34	12,27
Всего (n=4033)	*E. coli*	710	17,8
	K. pneumoniae	400	9,9
	E. faecalis	339	9,9
	P. aeruginosa	315	7,8
	C. albicans	248	6,14

Сходные результаты о лидирующей роли данных микроорганизмов в развитии ИО у иммунокомпрометированных больных были получены ранее рядом авторов [10, 11, 18, 44, 63].

Роль *E. coli* как лидирующего возбудителя не изменялась до 2011 г., но постепенно в динамике удельный вес имел тенденцию к снижению. В 2012 г. лидирующим микроорганизмом стал *E. faecalis,* который в 2006 г. был третьим и имел два периода подъема – в 2009 и 2012 гг. Интересно, что удельный вес *P. aeruginosa, K. pneumoniae и C. albicans* в динамике наблюдения имел два совпадающих периода повышения – в 2007 и 2011 гг. (рисунок 3.5).

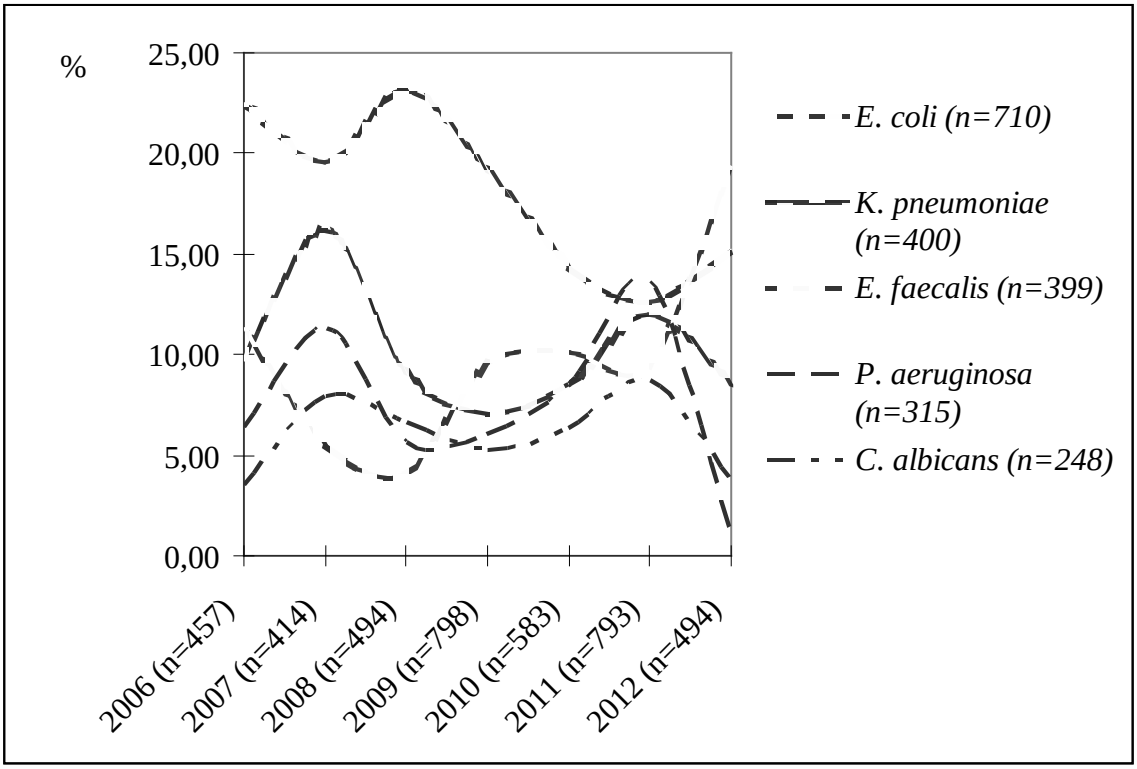

Рисунок 3.5 – Частота выделения *E.coli, P. aeruginosa, E.faecalis, K. pneumoniae и C.albicans* в 2006-2012 гг.

Таким образом, в результате анализа было установлено, что среди возбудителей ИО преобладали ГОБ. Для пациентов обследованного стационара было характерно участие возбудителей, относящихся к разным группам. Это могло реализоваться или вследствие одновременного участия ассоциации бактерий в развитие ИО, или разнообразия возбудителей при развитии осложнений разной локализации у одного пациента, или смены возбудителей при обследовании пациента в

динамике лечения. Также были установлены ведущие возбудители инфекционных осложнений за период с 2006-2012 гг., и показана необходимость постоянного локального наблюдения за спектром выделяемых микроорганизмов.

Вместе с тем, нами выявлены существенные отличия от данных других исследователей [11, 13, 18]. Спектр возбудителей, выделенных в клинически значимом титре, был намного более широким и включал в себя представителей 54 родов и 139 видов (Приложение №1). Так, среди ГОБ семейства *Enterobacteriaceae* были идентифицированы представители 17 родов, преобладали бактерии рода *Escherichia* (n=710), *Klebsiella* (n=457), *Enterobacter* (n=240), но кроме того, были выделены представители родов *Proteus, Citrobacter, Morganella, Serratia, Providencia.* Среди редко встречающихся можно отметить бактерии родов *Raoultella* (по 5 штаммов), *Pantoea, Pasteurella* (по четыре штамма) и *Ewingella, Kluyvera, Yokenella* (по одному штамму). Среди представителей 14 родов ГПБ преобладали бактерии рода *Enterococcus* (n=648) и *Staphylococcus* (n=542), вместе с тем, были выделены также представители родов *Streptococcus, Kocuria, Aerococcus*. Среди редко встречающихся можно отметить бактерии родов *Atopobium, Micrococcus* и *Arcanobacterium* (по одному штамму).

Многочисленными были также бактерии группы НГОБ. Были идентифицированы представители 13 родов, преобладали бактерии рода *Pseudomonas* (n=323), *Acinetobacter* (n=130), *Stenotrophomonas* (n=323). Кроме того, были выделены бактерии родов *Sphingomonas, Burkholderia, Aeromonas, Alcaligenes*, а также редко встречающиеся бактерии родов *Brevundimonas, Rhizobium* (по два штамма) и *Achromobacter, Actinobacillus, Chryseomonas, Sphingobacterium* (по одному штамму). В литературе описаны случаи ИО, связанных с данными возбудителями. Так, например, *Chryseomonas luteola* описан как возбудитель тяжелой ИОХВ у пациента с тяжелой травмой [7, 24].

Следует отметить, что с целью выявления анаэробных бактерий были выполнены посевы 882 проб крови во флаконы со средой для культивирования анаэробных бактерий и посев на агар Шедлера 2258 образцов раневого отделяемого. Рост анаэробных бактерий был выявлен только в 8 образцах (3 образцах крови и 5

проб раневого отделяемого), что составило лишь 0,25 % от общего числа исследованных образцов. Доля анаэробных бактерий в спектре выделенных возбудителей не превышала 1 %. Среди анаэробных бактерий были идентифицированы 2 штамма *B. fragilis,* 2 штамма *Clostridium* spp., 3 штамма *Propionibacterium* spp. и 1 штамм *V. parvula*. Таким образом, анаэробные бактерии не являются актуальными возбудителями бактериемии и раневых инфекций у обследованных нами пациентов с вторичным иммунодефицитом, поэтому данный вид исследования можно считать нерациональным. Возможно, отсутствие анаэробных бактерий в спектре возбудителей ИО у обследованных нами пациентов связано с широким применением в периоды предшествующей или текущей госпитализации антимикробных препаратов, в том числе и обладающих антианаэробной активностью, для эмпирической терапии ИО.

Среди штаммов микромицетов были идентифицированы представители 6 родов. Среди грибов рода *Candida* вдвое чаще выделялись *C. albicans,* чем прочие представители этого рода. Возбудителями инфекций в 97,2 % случаев являлись 6 видов – *C. albicans, C. glabrata,C. krusei, C. parapsilosis, C. guilliermondii* и *T. asahii*. Среди реже встречающихся можно отметить микромицеты *C. ciferrii, C. famata* (по четыре штамма), *C. lipolytica, T. haemulonii, M. furfur* (по одному штамму).

Полученные нами результаты указывают на возможность участия в развитие ИО иммунокомпрометированных больных широкого круга аэробных и факультативно-анаэробных бактерий и микромицетов. Выделение из образца клинического материала редкого микроорганизма и эффективная антибактериальная терапия, проведенная на основании результатов бактериологического исследования, доказывают его этиологическую роль. В то же время, роль возбудителей, выделенных в составе ассоциаций, требует, на наш взгляд, дополнительных клинико-лабораторных методов подтверждения их клинической значимости.

Можно отметить, что видовая идентификация распространенных микроорганизмов с помощью классических методов занимает от 3 до 5 дней, а видовая идентификация редко встречающихся бактерий и микромицетов может продол-

жаться более двух недель. Однако описанные выше микроорганизмы, в том числе и редко встречающиеся, были выделены в клинически значимом титре и могли принимать участие в развитии ИО, утяжеляя состояние иммунокомпрометированных больных. Кроме того, каждый из них может обладать собственными факторами патогенности и механизмами устойчивости к антимикробным препаратам, поэтому быстрая и точная видовая идентификация крайне необходима для назначения рациональной антибиотикотерапии с целью лечения ИО и предотвращения развития их тяжелых жизнеугрожающих форм, особенно у больных с вторичным иммунодефицитом. Идентификация с помощью автоматического анализатора позволила нам сократить срок исследования до 48 часов.

Таким образом, особенностью спектра возбудителей ИО пациентов стационара было преобладание энтеробактерий среди лидирующих возбудителей. Ведущая роль *E.coli* определялась тем, что среди исследованных нами образцов биоматериала преобладали пробы мочи, а *E.coli* известна как основной возбудитель вне- и внутрибольничных ИМВП. У обследованных нами пациентов этот микроорганизм доминировал и как возбудитель ИОХВ. *K. pneumoniae* у обследованных нами пациентов с иммуносупрессией, находящихся на лечении в специализированном стационаре федерального уровня в развитии не только ИМВП и ИОХВ, но и лидировала как возбудитель бактериемии.

Эти особенности спектра обусловили возможность использования хромогенной неселективной среды для подсчета микроорганизмов в моче и прямой идентификации для первичного посева не только мочи, но и также отделяемого дыхательных путей и ран, а также для посева крови из флаконов с наличием роста на данную среду. Применение этой среды позволило оптимизировать идентификацию путем визуализации состава ассоциаций возбудителей.

Высокая частота кандидемии, а также присутствие микромицетов рода *Candida* обусловило необходимость использования при первичном посеве также хромогенной среды для грибов рода *Candida* ускоряющей идентификацию и дифференциацию микромицетов.

ГЛАВА 4. ОБОСНОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПОДХОДА К ДИАГНОСТИКЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

4.1. Особенности спектра возбудителей инфекционных осложнений у пациентов отделений терапевтического, хирургического профиля и отделения реанимациии интенсивной терапии стационара

Для определения объема бактериологических исследований обследованные пациенты были распределены по группам в зависимости от вида медицинской помощи. В группу пациентов отделений терапевтического профиля были включены больные, поступившие в стационар на отделения терапевтического профиля для проведения химио- или лучевой терапии (512 человек). В группу хирургических больных были включены пациенты, поступившие на оперативное лечение в отделения хирургического профиля (2730 человек). Группу ОРиТ составили пациенты отделения реанимации и интенсивной терапии стационара (301 человек) (таблица 4.1).

Таблица 4.1 – Распределение обследованных пациентов по отделениям стационара

Пациенты отделений стационара	Число обследованных (человек)	
	Абс.	%
Всего пациентов отделений терапевтического профиля, в том числе:	512	14,45
– протонной терапии	203	5,73
– лучевой терапии	309	8,72
Всего пациентов отделений хирургического профиля, в том числе:	2730	77,05
– радиохирургической гинекологии	160	4,52
– оперативной урологии	1908	53,85
– оперативной хирургии	662	18,68
Всего пациентов ОРиТ	301	8,50
Итого обследованных пациентов	3543	100,00

Выявлено, что пациенты отделений хирургического профиля составили

77,05 % всех обследованных в 2006-2012 гг. больных специализированного онкологического стационара федерального уровня. При этом более 50 % обследованных находились на лечении в отделении оперативной урологии.

Анализ результатов проведения микробиологического мониторинга в 2006 – 2012 гг. позволил установить, что вид клинического материала и частота бактериологических исследований определялись локализацией инфекционного процесса и различались у пациентов разных отделений стационара. Различалась микробная нагрузка: в расчете на одного обследованного пациента отделений терапевтического профиля было выделено 0,55 штамма, хирургического – 0,97, а пациентов ОРиТ – 3,66 штамма (рисунок 4.1).

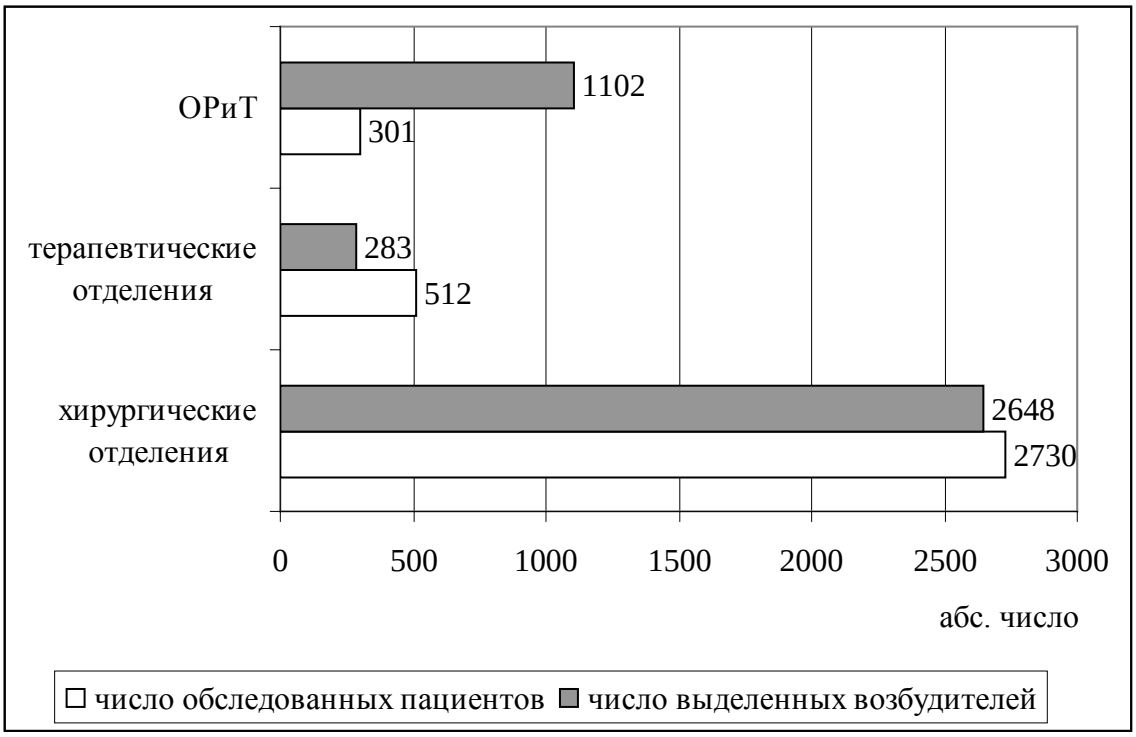

Рисунок 4.1 – Соотношение числа выделенных возбудителей и числа обследованных пациентов отделений стационара

Среди возбудителей, выделенных в клинически значимом титре от пациентов хирургических отделений, 59 % штаммов были выделены из мочи и 35,76 % − из раневого отделяемого. От пациентов терапевтических отделений 40 % штаммов были выделены из мочи, 37,46 % − из отделяемого дыхательных путей. В то же время от пациентов ОРиТ наибольшее число штаммов (44,65 %) было выделе-

но из различных образцов раневого отделяемого. Таким образом, у пациентов хирургических и терапевтических отделений наиболее частым ИО с этиологически расшифрованным диагнозом были ИМВП, а у пациентов ОРИТ – раневая инфекция. Доля возбудителей бактериемии среди штаммов, выделенных от пациентов ОРиТ, значимо превышала этот показатель у пациентов отделений хирургического и терапевтических отделений ($p < 0,05$). Выделение патогенов при посеве фрагментов катетеров чаще отмечалось у пациентов ОРиТ, чем у пациентов терапевтических отделений ($p < 0,05$) (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Распределение штаммов возбудителей в зависимости от вида образца клинического материала пациентов разных отделений

образец клинического материала	Число штаммов, выделенных от пациентов					
	хирургических отделений		терапевтических отделений		ОРиТ	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
моча	1564	59,06*, ***	114	40,28**	169	15,34
раневое отделяемое	947	35,76*, ***	50	17,67	492	44,65**
кровь	74	2,79	7	2,47	196	17,79**, ***
мокрота	32	1,21	106	37,46*	216	19,60**, ***
фрагмент катетера	11	0,42	2	0,71	20	1,81***
другое	20	0,76	4	1,41	9	0,82
Итого	2648	100,00	283	100,00	1102	100,00

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении данных больных группы 1 и группы 2;

** – $p < 0,05$ при сравнении данных больных группы 2 и группы 3;

*** – $p < 0,05$ при сравнении данных больных группы 1 и группы 3

Таким образом, у пациентов ОРиТ чаще, чем у пациентов других отделений, развивались ИОХВ и инфекции кровотока.

Различался и спектр выделенных патогенов. Доля ГОБ была наименьшей у пациентов отделений терапевтического профиля (n=123, 43,46 %), чем у пациентов других отделений ($p < 0,05$) и не различалась у пациентов хирургических от-

делений и ОРиТ. Доля ГПБ была наименьшей у пациентов ОРиТ ($p < 0,05$). В то же время доля микромицетов не различалась у пациентов терапевтических отделений и ОРиТ, а у пациентов хирургических отделений была достоверно ниже ($p < 0,05$) (рисунок 4.2).

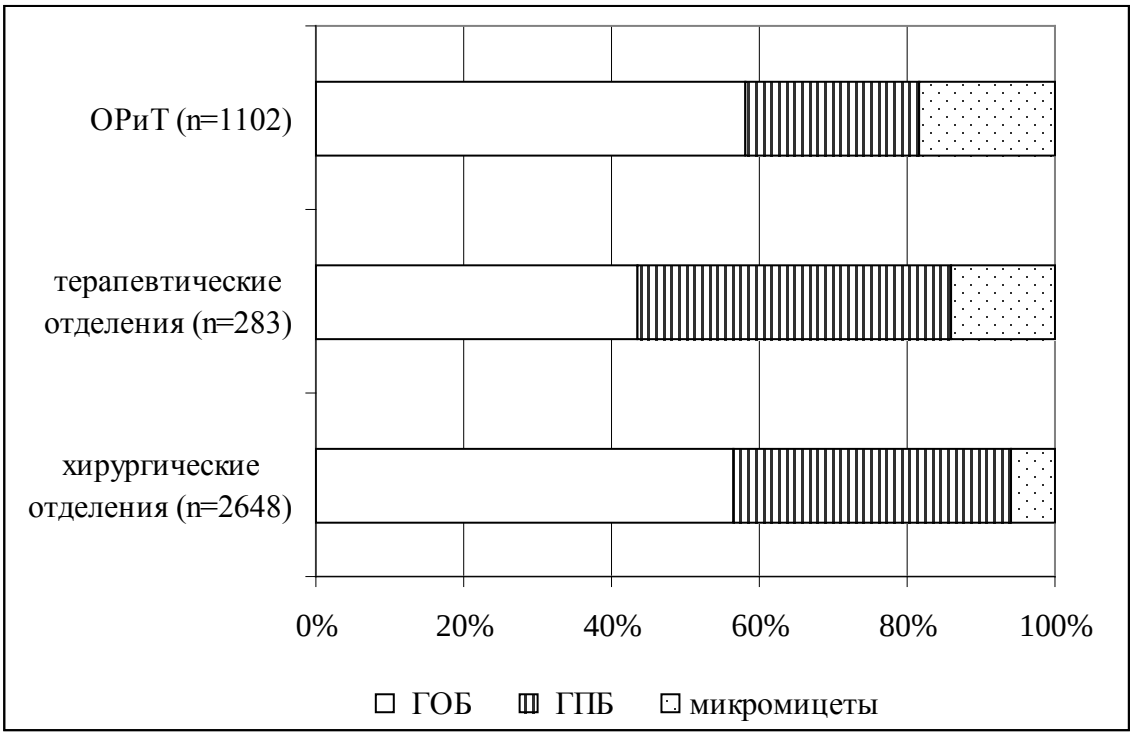

Рисунок 4.2 – Соотношение микроорганизмов разных групп среди возбудителей, выделенных от пациентов отделений стационара

Удельный вес лидирующих патогенов значимо различался в спектре возбудителей, выделенных от пациентов разных отделений. Так, удельный вес *E. coli* и *E. faecalis* был более высоким у пациентов хирургических отделений, чем терапевтических ($p < 0,05$). Наиболее редко эти возбудители выделялись от пациентов ОРиТ. *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, напротив, чаще встречались в спектре возбудителей ИО пациентов ОРиТ ($p < 0,05$). Удельный вес *C. albicans* не различался у пациентов ОРиТ и терапевтических отделений и был достоверно ниже у пациентов хирургических отделений ($p < 0,05$) (Рисунок 4.3).

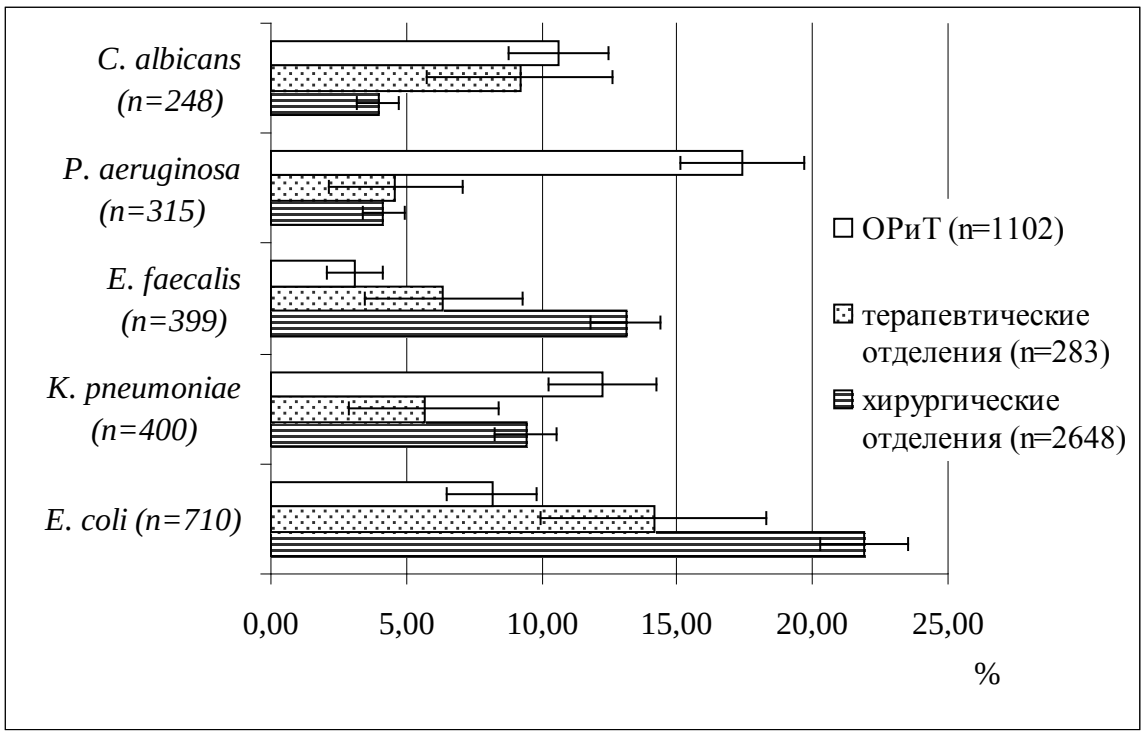

Рисунок 4.3 – Сравнительная характеристика удельного веса лидирующих возбудителей инфекционных осложнений у пациентов разных отделений стационара в 2006 – 2012 гг.

Высокие показатели удельного веса *E. coli* и *E. faecalis* в спектре возбудителей, выделенных от пациентов хирургических отделений, можно объяснить высокой частотой исследования образцов мочи пациентов отделения урологии. Известно, что эти возбудители являются лидерами ИМВП как вне -, так и внутрибольничного происхождения [28, 59]. Высокий удельный вес *P. aeruginosa* у пациентов ОРиТ связан в основном с ИОХВ, что подтверждается данными А.А. Соколова о широком распространении этого возбудителя у пациентов онкологического стационара [63]. Более частое выделение *K. pneumoniae* от пациентов ОРиТ было связано с развитием у части этих пациентов, длительно находящихся в условиях ИВЛ, вентилятор-ассоциированной пневмонии, а также с неуклонным ростом устойчивости данного возбудителя к АМП [77, 81].

Высокие показатели в частоте выделения *C.albicans* у пациентов терапевтических отделений, получающих различные виды лучевой и протонной терапии, были связаны, по-видимому, с развитием у них стоматитов кандидозной природы

и в связи с этим частым выделением *C.albicans* из отделяемого дыхательных путей [26]. Высокий удельный вес этого возбудителя у пациентов ОРиТ был связан с присоединением грибковой инфекции различной локализации на фоне длительного применения АМП широкого спектра, особенно у больных, перенесших трансплантацию печени [11,26].

Таким образом, разнообразие этиологической значимости и спектра возбудителей ИО разной локализации у иммунокомпрометированных больных диктует необходимость постоянного проведения локального микробиологического мониторинга и совершенствования экспресс-методов микробиологической диагностики. Это необходимо не только для своевременной коррекции лекарственных формуляров, но и для выявления действия возможных факторов риска инфицирования, устранения возможных дефектов при уходе за пациентом и оптимизации схем микробиологической диагностики.

4.2. Сравнительная характеристика возбудителей разных таксономических групп, выделенных от онкологических больных и пациентов, перенесших трансплантацию печени

Среди 3867 штаммов возбудителей, выделенных из образцов клинического материала онкологических больных, преобладали ГОБ, доля которых превышала 55 %. Эта же группа возбудителей чаще других встречалась в образцах, полученных от пациентов, перенесших ОТП. В целом удельный вес возбудителей различался у пациентов с иммуносупрессией разного происхождения: ГПБ достоверно чаще встречались у онкологических больных, а микромицеты – у лиц, перенесших ОТП (таблица 4.1).

Нами установлено, что у онкологических больных в число лидеров вошли *E. coli, E. faecalis, K. pneumoniae, P. aeruginosa* и *C. albicans*, на долю которых пришлось 51,41 % всех штаммов. В то же время от больных, перенесших ОТП, чаще выделялись *P. aeruginosa, C. albicans, K. pneumoniae, E. faecalis* и *C. glabrata,* на долю которых пришлось 71,69 %. При этом различия этиологической

значимости лидирующих возбудителей ИО были достоверными (таблица 4.3).

Таблица 4.3 – Удельный вес возбудителей разных таксономических групп, выделенных от онкологических больных и пациентов, перенесших ОТП

Группы возбудителей	Число выделенных штаммов				t	p
	В группе онкологических больные (n=3429)		В группе пациентов, перенесших ОТП (n=114)			
	абс.	%	абс.	%		
ГПБ	1344	34,76*	27	16,27	5,43	<0,001
ГОБ	2161	55,88	93	56,02	0,03	>0,05
грибы	354	9,15	46	27,71*	6,23	<0,001
всего микроорганизмов	3867	100,00	166	100		

Примечание: * – достоверно более высокий показатель

Таблица 4.4 – Сравнительная характеристика удельного веса лидирующих возбудителей у онкологических больных и пациентов, перенесших ОТП

Лидирующие возбудители ИО	Число выделенных штаммов				t	p
	В группе онкологических больных (n=3429)		В группе пациентов, перенесших ОТП (n=114)			
	абс.	%	абс.	%		
E. faecalis	391	10,11*	8	4,82	2,58	<0,01
P. aeruginosa	275	7,11	40	24,10*	6,14	<0,001
E. coli	703	18,18*	7	4,22	5,90	<0,001
K. pneumoniae	373	9,65	27	16,27*	2,51	<0,05
C. albicans	219	5,66	29	17,47*	4,82	<0,001
C. glabrata	27	0,70	8	4,82*	3,47	<0,001
всего	3867	100,00	166	100,00		

Примечание: * – достоверно более высокий показатель

Обследованные нами иммунокомпрометированные пациенты находились на лечении в одном стационаре в одно и то же время, поэтому у нас имелась уникальная возможность путем сопоставления доли выделенных возбудителей дать

сравнительную характеристику частоты развития бактериологически подтвержденных ИО у онкологических больных и лиц, перенесших ОТП. Было установлено, что у пациентов, перенесших ОТП, чаще, чем у онкологических больных, отмечались бактериемия (p < 0,001) и ИНДП (p < 0,01), а у онкологических больных, напротив, – ИМВП (p <0,001). Частота бактериологически подтвержденных ИОХВ не различалась. Важно подчеркнуть, что длительность лечения в ОРиТ больных, перенесших трансплантацию печени, составляла до 90 суток и превышала аналогичный показатель для онкологических больных. О тяжести их состояния свидетельствует более продолжительное пребывание в условиях искусственной вентиляции легких и более частое бактериологическое подтверждение ИНДП. Кроме того, более частое, чем у онкологических больных, выделение микроорганизмов из крови указывает на повышенный риск развития септических осложнений (таблица 4.5).

Таблица 4.5– Распределение возбудителей в зависимости от локализации осложнений у онкологических больных и пациентов, перенесших ОТП

Локализация ИО	Число выделенных штаммов в зависимости локализации ИО				t	p
	В группе онкологических больных (n=3429)		В группе пациентов, перенесших ОТП (n=114)			
	абс.	%	абс.	%		
Бактериемия	223	5,77	54	32,53*	9,20	<0,001
ИМВП	1813	46,88*	34	20,48	7,18	<0,001
ИОХВ	1439	37,21	50	30,12	1,90	>0,05
ИНДП	326	8,43	28	16,87*	3,25	<0,01
Прочие	66	1,71	0	0,00	1,92	>0,05
Всего штаммов	3867	100,00	166	100,00		

Примечание: * – достоверно более высокий показатель

Наиболее тяжелым ИО большинство авторов признают развитие сепсиса, одним из возможных проявлений которого является бактериемия. Поэтому представлял интерес сравнительный анализ спектра гемокультур, выделенных от

больных с разной природой иммуносупрессии.

Среди выделенных гемокультур 243 штамма были получены от пациентов с онкологическими заболеваниями, 34 – от больных, перенесших ОТП. Сравнительный анализ результатов исследования проб крови, полученных от пациентов с иммуносупрессией, показал различия, которые характеризовали бактериемию в двух группах пациентов (таблица 4.6).

Таблица 4.6 – Спектр возбудителей бактериемии у пациентов с иммуносупрессией различного происхождения

Возбудители бактериемии	Число изолятов, выделенных из крови:			
	в группе онкологических больных (n=3429)		в группе пациентов, перенесших ОТП (n=114)	
	Абс.	%	Абс.	%
Всего ГПБ, в том числе:	86	35,39	7	20,59
– *Staphylococcus, coagulase negative*	57	23,46	6	17,65
– *S. aureus*	4	1,65	0	0,00
– *E. faecalis*	9	3,70	1	2,94
– *E. faecium*	8	3,29	0	0,00
– *E. gallinarum*	3	1,23	0	0,00
– *Enterococcus* spp.	1	0,41	0	0,00
– прочие ГПБ	4	1,65	0	0,00
Всего ГОБ, в том числе:	119	48,97	13	38,24
– Всего энтеробактерий, в том числе:	94	38,68	10	29,41
– *K. pneumoniae*	54	22,22	7	20,59
– *E. coli*	24	9,88	1	2,94
– *Enterobacter spp.*	8	3,29	2	5,88
– прочие энтеробактерии	8	3,29	0	0,00
– Всего НГОБ, в том числе:	25	10,29	3	8,82
– *P. aeruginosa*	16	6,58	2	5,88
– *Acinetobacter spp.*	4	1,65	0	0,00
– прочие НГОБ	5	2,06	1	2,94
Всего анаэробных бактерий	3	1,23	0	0,0
Всего грибов, в том числе:	35	14,40	14	41,18*
– *C. albicans*	26	10,70	9	26,47*
– *Candida non-albicans*	9	3,70	5	14,71*
ИТОГО штаммов	243	100,0	34	100,0

Примечание: * − $p < 0,05$

Доля ГОБ среди гемокультур не различалась, но из крови онкологических больных несколько чаще выделялись штаммы *E. coli* (9,88 %). Доля микромицетов была максимальной у пациентов группы «трансплантация» (41,18 % всех гемокультур пациентов этой группы). При этом доля *C. albicans* у пациентов группы «трансплантация» достигала 26,47 %, а *C. non-albicans* – 14,71% от числа всех гемокультур, полученных от пациентов этой группы. Частота выделения микромицетов из крови пациентов этой группы значимо превышала показатели онкологических больных ($p < 0,05$). Таким образом, различия спектра возбудителей бактериемии у пациентов могут быть связаны с этиологией основного заболевания.

Ежегодно в мире отмечается не менее миллиона клинически проявляющихся случаев проникновения бактерий в кровоток, 30-50 % из которых заканчивается летально. Они могут быть связаны как с эндогенными, так и экзогенными факторами риска [49]. Инфицирование крови напрямую связано с развитием тяжелых иммунодефицитных состояний, особенно имеющих вторичное происхождение. Их причинами могут быть онкологические заболевания и опосредованное применение агрессивной терапии [18, 26], тяжелые ранения и травмы, оперативные вмешательства [18, 53]. Нередко положительный посев крови становится первым указанием на генерализацию инфекционного процесса [11, 89]. Выявлены различия в этиологической структуре бактериемии в различных отделениях и необходимость дифференцированного подхода к выбору стартовых режимов эмпирической антибактериальной терапии [14]. В то же время, по данным ряда авторов, включение в режимы эмпирической АМП препаратов, активных против грибов, не является актуальным, так как их вклад в этиологическую структуру незначителен [15, 16]. В связи с этим результаты микробиологического исследования крови имеют большое значение для своевременной диагностики развития жизнеугрожающих инфекционных осложнений [17, 26, 58, 127].

Полученные данные показывают зависимость характера бактериемии от происхождения вторичного иммуносупрессивного состояния, что позволяет прогнозировать ее этиологию и при необходимости обосновать проведение лечебно-профилактических мероприятий, как в отношении отдельно взятого пациента, так

и в масштабах клинических подразделений стационаров.

4.3. Основные возбудители уроинфекций у иммунокомпрометированных пациентов специализированного хирургического стационара

Наиболее часто на бактериологическое исследование направлялись пробы мочи, что указывает на актуальность уроинфекций для обследованных нами пациентов специализированного хирургического стационара, поэтому представляло интерес провести анализ микробного спектра возбудителей уроинфекций.

В период с 2006-2012 гг. было выделено 1847 штаммов возбудителей ИМВП, в этиологической структуре которых преобладали представители ГОБ (958 штаммов, 51,87 %). Среди ГОБ в семь раз чаще встречались ЭБ (n=816, 44,18 %), чем НГОБ (n=142, 7,69 %). Из ГПК чаще выделялись каталазоотрицательные возбудители (24,8 %). Доля микромицетов составляла 5,4 %. Основными возбудителями ИМВП у обследованных пациентов были *E. coli* (20,79 %), *E. faecalis* (16,78 %), *K. pneumoniae* (9,53 %), *S. epidermidis* (5,63 %), *E. cloacae* (4,39 %), *P. aeruginosa* (3,79 %) и *E. faecium* (3,63 %). Спектр возбудителей ИМВП пациентов стационара имел свои особенности. Так, среди лидирующих возбудителей отсутствовали *S. saprophyticus*, но часто встречались *S. epidermidis* и *E. faecium.* Из микромицетов встречались не только *C. albicans* (61,7 % от всех выделенных из мочи микромицетов), но и *C. glabrata, C.guilliermondii, C. krusei, C. parapsilosis, C. lambica,* а также представители рода *Trichosporon.* Из представителей рода *Enterococcus* были выделены не только *E. faecalis* и *E. faecium*, но и *E. avium, E. durans* (по 2 штамма), *E. hirae, E. raffinosus* (по 1 штамму). Также часто встречались подвижные, в том числе природно-резистентные к ванкомицину энтерококки *E. gallinarum* и *E.casseliflavus,* которые редко встречаются в клинических образцах человека, но в последнее время описаны как возбудители инфекций различной локализации у пациентов с ослабленным иммунитетом.

Таким образом, основными возбудителями ИМВП пациентов стационара в период проведения исследования были *E. coli, E. faecalis, K. pneumoniae, S.*

epidermidis, *E. cloacae*, *P. aeruginosa* и *E. faecium*. Вместе с тем, спектр возбудителей уроинфекций мог различаться в зависимости от нозологической формы заболевания, длительности пребывания в стационаре, наличия в анамнезе повторных госпитализаций, продолжительности антибактериальной терапии и ряда других причин.

Поэтому для повышения эффективности бактериологического исследования с целью этиологического подтверждения ИМВП и выявления связи между локализацией злокачественного процесса МВП и спектром возбудителей инфекционного процесса были проанализированы результаты исследования пробы мочи 509 пациентов с опухолями МВП разной локализации (РП – 96, РПр – 170 и РМП – 243 человека), поступивших для проведения оперативного лечения в 2006-2008 гг.

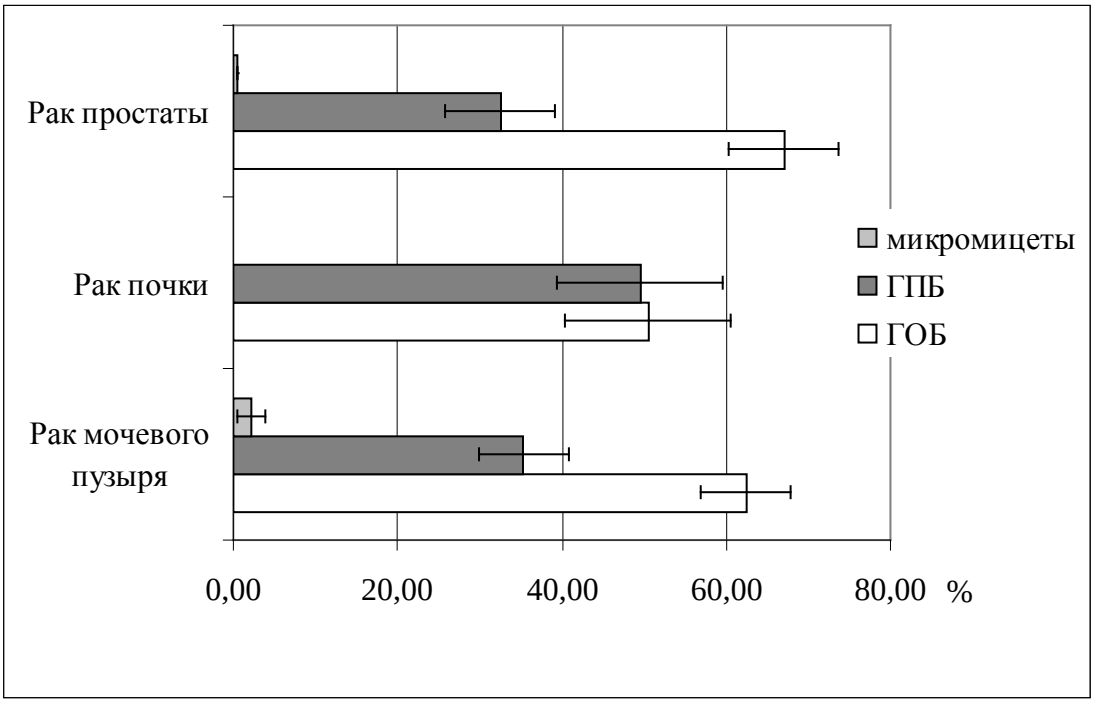

Рисунок 4.4 – Соотношение количества выделенных ГПБ, ГОБ и микромицетов при различной локализации опухолей МВП

От пациентов, страдающих РМП, было выделено 314 (51,22 %), РП – 99 (16,15 %), Рпр – 200 (32,63 %) штаммов возбудителей. От этих пациентов было выделено в этиологически значимом титре и изучено 613 микроорганизмов, в том

числе 380 (61,99 %) штаммов ГОБ, 224 (36,54 %) штаммов ГПБ и 8 (1,31 %) штаммов микромицетов.

Было установлено, что при опухолях почек ГОБ и ГПБ выделялись с равной частотой, тогда как при опухолях простаты и мочевого пузыря значимо повышалась вероятность участия в инфекционном процессе ГОБ, удельный вес которых составил соответственно 67 % (n=134) и 62,42 % (n=196) (рисунок 4.4).

При этом у обследованных нами пациентов с разной локализацией опухолевого процесса не различалась частота выделения основных возбудителей ИМВП: энтеробактерий, энтерококков, стафилококков, но выявлялись различия среди НГОБ и представителей рода *Streptococcus* [57]. Так, доля НГОБ у больных РМП составила 11,78 % (n=37), у больных РПр – 11,50 % (n=23) и была более высокой, чем у больных РП (3,03 %; n=3) ($p < 0,05$) (рисунок 4.5).

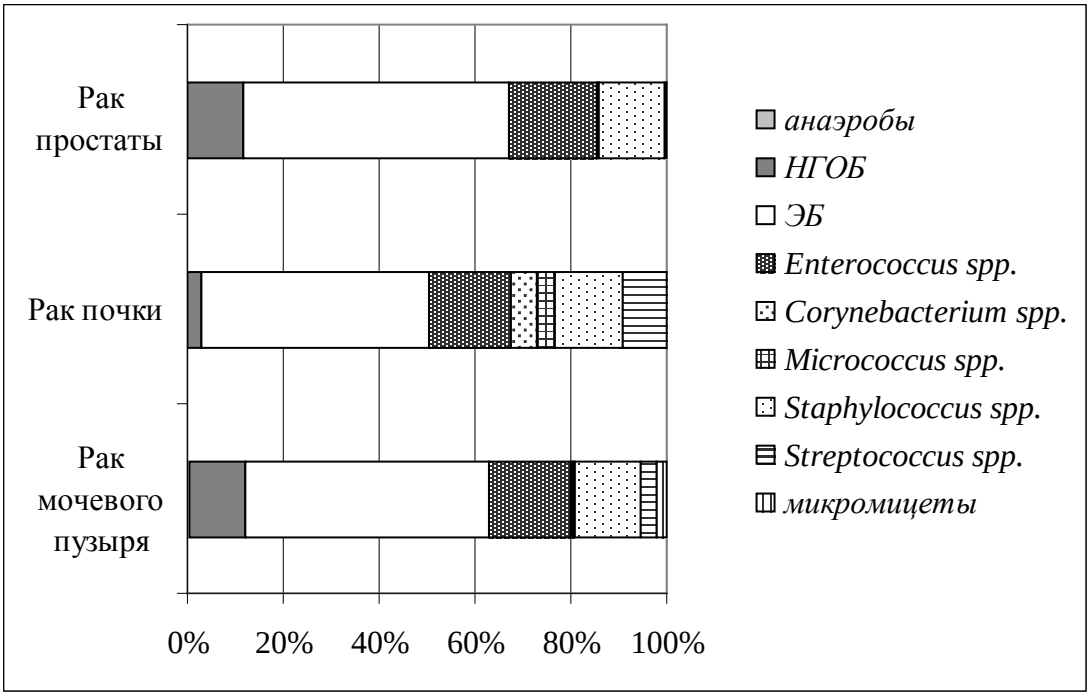

Рисунок 4.5 – Спектр микроорганизмов, выделенных при различной локализации опухолей МВП

Среди представителей группы неферментирующих грамотрицательных бактерий у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря и простаты, чаще встречалась синегнойная палочка и *S. maltophilia,* причем последний – чаще при раке мочевого пузыря, чем при раке простаты ($p < 0,05$), что может быть связано с фи-

зиологическими дефектами, в частности, образованием остаточной мочи – субстрата для размножения микроорганизмов. При раке почки НГОБ практически не встречались (таблица 4.7).

Таблица 4.7 – Видовой состав и частота выделения НГОБ от пациентов с различной локализацией опухолей МВП

Вид возбудителя	Видовой состав и частота выделения НГОБ					
	РМП (n=314)		РП (n=99)		РПр (n=200)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
A. baumannii	2	0,6	1	1,0	3	1,5
Acinetobacter spp.	0	0,00	1	1,0	2	1,0
B. cepacia	5	1,6	0	0,00	0	0,00
P. aeruginosa	16*	5,1	0	0,00	14**	7,0
P. putida	0	0,00	0	0,00	1	0,5
Sphingomonas spp.	2	0,6	1	1,0	1	0,5
S. maltophilia	12*,***	3,8	0	0,00	2	1,0

Примечание: * – $p<0,05$ при сравнении группы РМП и РП; ** – $p<0,05$ при сравнении группы РП и РПр; *** – $p<0,05$ при сравнении группы РМП и РПр

Следует также отметить, что от больных раком почки (9,09 %) чаще, чем от больных РМП (3,18 %), выделялись представители рода *Streptococcus* ($p < 0,05$). У больных РПр эта группа микроорганизмов не встречалась (таблица 4.8).

Если у больных РПМ идентифицировались стрептококки семи видов, то от больных РП – только *Streptococcus agalactiae*, известный как один из возможных возбудителей пиелонефрита [78]. В начале 60-х годов в зарубежной литературе стали описывать случаи септических инфекций, вызываемых этими микроорганизмами у людей. Этот возбудитель особенно опасен для беременных женщин и новорожденных детей, его выделяют также от лиц, страдающих сахарным диабетом, заболеваниями печени и злокачественными новообразованиями [78]. Возможно, присутствие этого возбудителя у больных РП связано с нозологией и вносит свой вклад в развитие заболевания. Для быстрого его выделения и его идентификации можно рекомендовать хромогенную среду для выявления *S. agalactiae.*

Таблица 4.8 – Видовой состав и частота выделения *Streptococcus* sp. от пациентов с различной локализацией опухолей МВП

ВИД возбудителя	Видовой состав и частота выделения *Streptococcus* sp.					
	РМП (n=314)		РП (n=99)		РПр (n=200)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Streptococcus acidominimus	1	0,3	0	0,00	0	0,00
Streptococcus agalactiae	3	1,0	9	9,09	0	0,00
Streptococcus constellatus	1	0,3	0	0,00	0	0,00
Streptococcus gallolyticus ss. gallolyticus	2	0,6	0	0,00	0	0,00
Streptococcus mitis	1	0,3	0	0,00	0	0,00
Streptococcus sp.	1	0,3	0	0,00	0	0,00
Streptococcus, Group D (non-enterococcal)	1	0,3	0	0,00	0	0,00
всего	314	100,0	99	100,0	200	100,0

Полученные нами результаты многолетнего микробиологического мониторинга дали основание уточнить направления оптимизации деятельности бактериологической лаборатории. Исследования проводились при постоянном совершенствовании методов и подходов, которые нашли свое отражение в разработке и внедрении ряда рационализаторских предложений. Целенаправленное использование хромогенных сред и современного лабораторного оборудования, а также полученные с их помощью результаты послужили основанием для разработки рекомендаций по оптимизации алгоритма бактериологического обследования иммунокомпрометированных больных, находящихся на лечении в профильном стационаре регионального уровня.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМОВ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ОБРАЗЦОВ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НОЗОЛОГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Пациенты, находившиеся в период проведения исследования на лечении в специализированном хирургическом стационаре федерального уровня, получали высокотехнологичную медицинскую помощь, дорогостоящую и высокоэффективную, спасающую жизнь и улучшающую качество жизни пациента в последующем. Развитие ИО ухудшали шансы пациентов на благополучный исход лечения, увеличивали продолжительность стационарного лечения, значительно повышали экономические затраты за счет необходимости применения АМП.

Результаты проведенного нами локального микробиологического мониторинга позволили выявить особенности спектра возбудителей, характерные для ИО пациентов отделений разного профиля и для ИО разной локализации, сгруппированных нами по входным воротам инфекции. Вместе с тем, лидирующими возбудителями инфекции разной локализации были сходные возбудители, поэтому для первичного посева мы использовали хромогенную неселективную среду для изолирования и подсчета микроорганизмов из мочевого тракта («Уриселект-4» или аналоги), заменив ею среду, рекомендованную НД. Применение при первичном посеве данной среды позволяет через 18 ч проведение прямой идентификации штаммов *E. coli, Enterococcus, Proteus*, предварительной идентификации *Serratia, Klebsiella, Enterobacter*. Она позволяет идентифицировать до 80 % штаммов микроорганизмов и увеличивает высеваемость их ассоциаций. Посев на данную хромогенную среду позволил дополнительно оценить видовой состав ассоциаций выросших микроорганизмов и дать их количественную характеристику, а в сочетании с дополнительными общепринятыми тестами – выдать ориентировочный предварительный ответ в клинику о спектре возбудителей.

Результаты исследования показали, что спектр возможных возбудителей ИО у обследованных нами иммунокомпрометированных больных был значитель-

но более широким, чем спектры, описанные в литературе для больных других стационаров. Быстрая идентификация редко встречающихся бактерий и грибов стала возможна путем использования автоматического бактериологического анализатора, тогда как применение классических методов идентификации заняло бы 5-8 суток. Таким образом, для своевременной идентификации возбудителей у иммунокомпрометированных пациентов, получающих высокотехнологическую помощь, необходимо использовать современные хромогенные среды и бактериологическое оборудование.

В настоящее время в распоряжении врачей-бактериологов имеются хромогенные среды, предназначенные для быстрого выявления *MRSA* и *VRE*, среды для скрининга полирезистентных ГОБ. *MRSA* и *VRE* редко выделяли из материала иммунокомпрометированных больных, поэтому широкое использование данных сред в нашем стационаре представляется нецелесообразным. Эти среды использовались только для обследования пациентов ОРиТ в случае экстренной клинической необходимости.

Как показали полученные нами результаты, наиболее частым возбудителем ИО у пациентов ОРиТ была *P.aeruginosa*. По нашим данным доля этого возбудителя достигала 17 % (n=55) Высокая степень устойчивости этого возбудителя к еще недавно наиболее активным препаратам группы карбапенемов может быть обусловлена повышением непроницаемости мембраны, активацией эффлюкса или продукцией карбапенемаз. Быстрому выявлению таких штаммов способствовал первичный посев на хромогенную среду, содержащую определенную концентрацию карбапенема и предназначенную для выявления устойчивых штаммов ГОБ к карбапенемам («CHROMagar KPC»,DRG) или аналогов и позволяющая выявить гетерогенность культуры, установить наличие резистентных к карбапенемам штаммов *P.aeruginosa*.

Среди лидирующих энтеробактерий (*E.coli, K.pneumoniae*) в настоящее время широко распространены БЛРС– продуцирующие штаммы, а в последние годы отмечено появление и распространение штаммов, устойчивых к карбапенемам, в том числе за счет продукции карбапенемаз. Такие штаммы из-за трудности их

своевременного выявления способны оказать негативное влияние на исход лечения онкологических больных. Так, по данным З.В. Григорьевской, распространение *K.pneumoniae,* устойчивых к карбапенемам, в онкологическом стационаре федерального уровня привело к 60 % летальности от сепсиса, вызванного этим возбудителем [13]. Исследования, проведенные в нашем стационаре, показали, что в разные годы исследования частота выделения *K.pneumoniae* – продуцентов БЛРС составляла от 35 до 100 %. Использование хромогенной среды с добавками для определения полирезистентных микроорганизмов не препятствует росту ГОБ с бета-лактамазным типом устойчивости. Данная среда ингибирует восприимчивые к цефалоспоринам штаммы ГОБ и может быть использована для скрининга антибиотикоустойчивых штаммов. Добавка КРС позволяет обнаруживать ГОБ с карбапенемазной активностью, особенно при проведении скрининговых исследований. Прежде всего, это связано с потенциальной опасностью быстрого и широкого распространения возбудителей с карбапенемазной резистентностью. Данные исследования важны для назначения адекватной антибактериальной терапии через 18 ч после первичного посева у иммунокомпрометированных пациентов. Для своевременного выявления штаммов, устойчивых к бета-лактамным АМП, мы включили в схему первичного посева материала чашки с хромогенной средой для выделения микроорганизмов, устойчивых к цефалоспоринам («среда CHROMagar ESBL», DRG и аналоги).

Результаты молекулярно-генетического исследования штаммов, выросших на данной среде, показали, что все они продуцировали БЛРС генетического семейства CTX-M, а один штамм, выделенный на среде «CHROMagar КРС», – карбапенемазу класса OXA-48.

Важно отметить, что обследованные нами пациенты ранее неоднократно проходили лечение в разных стационарах Санкт-Петербурга и Российской Федерации. Бактериологическое обследование пациентов, проведенное при поступлении их в стационар с использованием данных хромогенных сред, позволило выявить у них наличие полирезистентных штаммов энтеробактерий, которые могли вызвать в стационаре вспышку ИО. Полученные нами данные позволяют реко-

мендовать включить в схему обследования пациентов, поступающих в специализированный стационар для лечения иммунокомпрометированных больных, целенаправленное бактериологическое исследование образцов клинического материала для раннего (в течение 18 часов) выявления полирезистентных штаммов ГОБ с использованием хромогенных сред.

В группу возбудителей, наиболее часто вызывавших развитие ИО у обследованных нами пациентов, вошли микромицеты вида *C.albicans* (6,14 % от всех выделенных возбудителей). Достаточно часто встречались также представители микромицет других видов и родов, их доля достигала 34 % от всех выделенных микромицетов. Кроме того, возбудители этой группы преобладали у пациентов, перенесших ОТП. Поэтому мы сочли необходимым включить в схему первичного посева клинического материала хромогенный агар для выделения и дифференциации грибов рода *Candida*. Использование этой среды в сочетании с тестом на образование ростковых трубок, позволило уже через 24 часа после первичного посева определить наличие в образце клинического материала грибов вида *C.albicans* или *non-albicans* или их ассоциации. Дополнительное исследование с помощью автоматического анализатора позволило через 48 часов после первичного посева определить вид возбудителя и его чувствительность к антимикотическим препаратам. Использование хромогенной среды для идентификации грибов рода *Candida* кроме стандартной идентификации *C.albicans*, позволяет выявить смешанные дрожжевые культуры грибов *non-albicans*, которые более резистентны к противогрибковым препаратам и присутствуют в образце в незначительных популяциях. Данное исследование особенно актуально для оптимизации противогрибковой терапии (через 18 ч после первичного посева) у иммунокомпрометированных пациентов

Таким образом, используемый нами алгоритм исследования сократил время получения и расширил возможности предварительного ответа и сократил время получения окончательного результата.

Предлагаемый нами алгоритм бактериологического исследования клинического материала иммунокомпрометированных пациентов в зависимости от лока-

лизаций ИО (таблица 5.1).

Таблица 5.1 – Алгоритм бактериологического исследования клинического материала иммунокомпрометированных пациентов в зависимости от локализации ИО.

Время получения результатов	Питательные среды и алгоритм исследования	
	регламентированные действующими НД	предлагаемые
0 часов, первичный посев клинического материала	Моча: 1. 5% Кровяной агар 2. Сахарный бульон 3. Простой агар Раневое отделяемое: 1. 5% Кровяной агар 2. Сахарный бульон 3. Среда для контроля стерильности Материал из дыхательных путей: 1. 5 % Кровяной агар 2. Желточно-солевой агар 3. Шоколадный агар 4. Среда Эндо 5. Среда Сабуро	Моча, отделяемое дыхательных путей, раневое отделяемое (универсальный набор сред): 1. 5% Кровяной агар (термостатирование в аэробных и анаэробных условиях -кроме исследования мочи). 2. Хромогенная неселективная среда для изолирования и подсчета микроорганизмов из мочевого тракта. 3. Хромогенная среда для выделения грибов рода *Candid*a. 4. Хромогенный агар для определения энтеробактерий, резистентных к цкфалоспоринам. 5. Хромогенная среда для выделения микроорганизмов, устойчивых к карбапенемам. 6. При исследовании мочи: хромогенная среда для идентификации стрептококков группы В.
18 -24 ч. от первичного посева	1.Предварительный ответ о грампринадлежности, оксидазной и каталазной активности выросших колоний микроорганизмов; 2.Пересев с сахарного бульона на кровяной агар.	1. Прямая идентификация колоний *E.coli*, *Enterococcus* spp., *Proteus* spp.*;* предварительная идентификация *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. 2.Дифференцировка смешанных культур грибов рода *Candida,* окончательная идентификация *C.albicans* 3. Выявление штаммов ГОБ, устойчивых к цефалоспоринам и карбапенемам.
36-48 ч. от первичного посева	1. Постановка тестов на идентификацию микроорганизмов.	Идентификация микроорганизмов до вида и определение чувствительности к АМП с использованием бактериологического анализатора, интер-

	2.Определение чувствительности к АМП	претация результатов с использованием экспертной системы. Исследование завершено
От 3 до 10 суток от первичного посева	1. Идентификация микроорганизмов до вида 2. Учет результатов определения чувствительности к АМП, выявление штаммов ГОБ, устойчивых к цефалоспоринам и карбапенемам	
Бактериологическое исследование крови		
0 ч, посев клинического материала	1. «Двойная среда» 2.Среда для контроля стерильности 3. «Среда со стаканчиком» 4. Среда Тароцци 5. Среда Сабуро	С использованием бактериологического анализатора для гемокультур: 1. Среда для культивирования аэробных микроорганизмов и грибов 2. Среда для культивирования анаэробных микроорганизмов
2-18 ч. от первичного посева		Пересев на: 1. 5% кровяной агар (термостат при 37ºС и анаэростат). 2. Хромогенная неселективная среда для изолирования и подсчета микроорганизмов из мочевого тракта («Уриселект», BioRad) или аналоги 3. Хромогенная среда для выделения грибов рода *Candid*a («Brilliance Candida agar», Oxoid, Великобритания) или аналоги 4. Хромогенная среда для выделения микроорганизмов, устойчивых к цефалоспоринам («CHROMagar ESBL», DRG) и аналоги 5. Хромогенная среда для выделения микроорганизмов, устойчивых к карбапенемам («CHROMagar KPC», DRG) или аналоги
18-24 ч. от первичного посева	Пересев на простой агар	1. Прямая идентификация колоний *E.coli*, *Enterococcus* spp., *Proteus* spp.,

		предварительная идентификация *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. 2. Дифференцировка смешанных культур грибов рода *Candida*, окончательная идентификация *C.albicans* 3. Выявление штаммов ГОБ, устойчивых к цефалоспоринам и карбапенемам
36-48 ч. от первичного посева	1. Постановка тестов на идентификацию микроорганизмов. 2. Определение чувствительности к АМП.	Идентификация микроорганизмов до вида и определение чувствительности к АМП с использованием бактериологического анализатора, интерпретация результатов с использованием экспертной системы. Исследование завершено
От 3 до 10 суток от первичного посева	1.Идентификация микроорганизмов до вида. 2. Учет результатов определения чувствительности к АМП, выявление штаммов ГОБ, устойчивых цефалоспоринам и карбапенемам.	
Возможные сроки окончательного отрицательного ответа	9-10 дней и до 6 недель	7 дней

Применение разработанного нами алгоритма позволило сократить сроки выдачи предварительных и окончательных ответов (таблице 5.2).

Практическое значение предложенных нами способов оптимизации алгоритма бактериологического обследования нашло свое отражение в работе лаборатории и подтверждено удостоверениями о внедрении рационализаторских предложений № 12267/6 от 09.11.2010 г., № 13762/9 от 13.11.2013 г. и № 13761/9 от

13.11.2013 г.

Таблица 5.2 – Сроки выдачи предварительных и окончательных ответов.

Время получения результатов от первичного посева	Алгоритм исследования	
	Регламентированный действующими НД	Предложенный диссертантом
18-24 ч	Получение чистой культуры микроорганизмов	Получение чистой культуры микроорганизмов, предварительная и окончательная идентификация, выявление полирезистентных штаммов ГОБ
36-48 ч	Постановка идентификационных тестов и определение чувствительности штаммов микроорганизмов к АМП	Окончательная идентификация, определение чувствительности к АМП с использованием экспертной системы бактериологического анализатора и интерпретация результатов с использованием EUCAST. Учет результатов. Исследование завершено
72 ч -10 суток	Учет результатов. Исследование завершено	

ГЛАВА 6. МОНИТОРИНГ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ СТАЦИОНАРА

За период проведения исследования из клинического материала пациентов стационара наиболее часто выделялись *E. coli, K. pneumoniae, E. faecalis, P. aeruginosa*. Данные возбудители по результатам многоцентровых исследований, проведенных в России и за рубежом, указывают на возрастание роли полирезистентных микроорганизмов в развитии ИО у пациентов стационаров, а также различия в спектре антибиотикорезистентности штаммов, выделенных от пациентов с различной нозологией [96, 153, 132].

Значение имеет не только качественное определение чувствительности возбудителя, но и современные подходы к интерпретации полученных результатов. Эти принципы были реализованы нами при разработке алгоритма представленного в пятой главе диссертации. Его внедрение в повседневную практику работы микробиологической лаборатории и учет полученных результатов резистентности с помощью программы WHONET-4 с внесенными нами дополнениями позволили выявить основные тенденции изменения устойчивости основных возбудителей к антимикробным препаратам.

6.1. Антибиотикорезистентность штаммов *E. coli*, выделенных от иммунокомпрометированных больных

Штаммы *E. coli* проявляли высокую резистентность ко многим группам антимикробных препаратов. Более 75 % изолятов были устойчивыми к триметоприму/сульфаметоксазолу, ампициллину и амоксициллину/клавуланату, более 50 % – к ципрофлоксацину, тетрациклину, цефепиму. Из аминогликозидов наиболее высокая устойчивость отмечалась в отношении нетилмицина, а самая низкая – амикацина. Штаммов, устойчивых к карбапенемам, за весь период наблюдения не выявлено. Наиболее низкими были значения резистентности к цефоперазону/сульбактаму и нитрофурантоину. Были выявлены значимые колебания показа-

телей в разные годы наблюдения, на что указывает большая величина ошибки средних значений (рисунок 6.1).

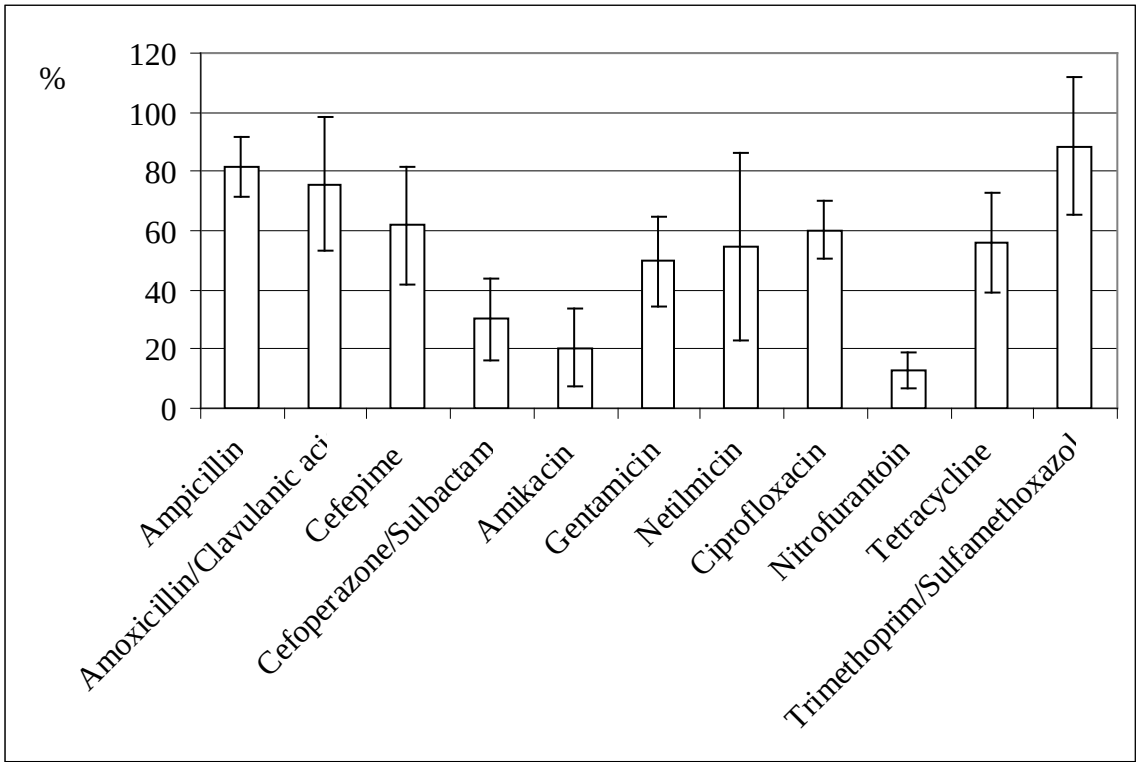

Рисунок 6.1 – Доля устойчивых к АМП штаммов *E.coli,* выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных в 2006-2012 гг.

Штаммы *E. coli*, выделенные от пациентов ОРиТ, проявляли наиболее высокую резистентность к антимикробным препаратам: более 70 % изолятов были устойчивыми к триметоприму/сульфаметоксазолу, ампициллину, амоксициллину/клавуланату, ципрофлоксацину, тетрациклину, цефепиму, нетилмицину. Наиболее активным препаратом был амикацин. В хирургических отделениях доля резистентных изолятов была несколько ниже, но превышала 70 % для ампициллина, амоксициллина/ клавуланата и триметоприма/сульфаметоксазола, а для других исследованных АМП составляла от 20,5 % (амикацин) до 67,1 % (цефепим). У штаммов, выделенных от пациентов терапевтических отделений, также отмечен высокий уровень резистентности в отношении триметоприма/сульфаметоксазола и бета-лактамных АМП, но более низкий – к амикацину, ципрофлоксацину, нетилмицину, тетрациклину. Так, например, устойчивость к ципрофлоксацину штаммов *E.coli*, полученных от пациентов ОРиТ и хирургических отделений не

различалась и была выше, чем аналогичный показатель для пациентов терапевтических отделений (t=2,73, p<0,01 и t=1,96, p<0,05, соответственно). Доля штаммов, устойчивых к нетилмицину, среди выделенных от пациентов ОРиТ и хирургических отделений не различалась, но при этом устойчивость штаммов, выделенных от пациентов ОРиТ, была выше, чем аналогичный показатель у пациентов терапевтических отделений (t=2,51; p<0,05) (рисунок 6.2).

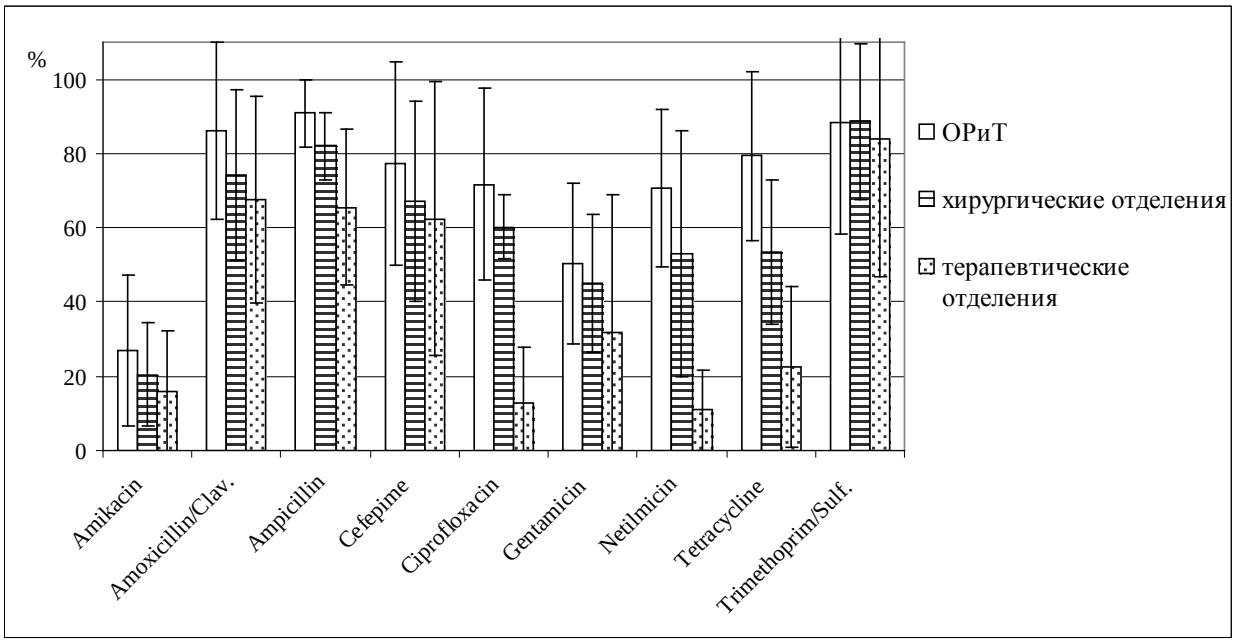

Рисунок 6.2 – Доля устойчивых к АМП штаммов *E.coli*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных, находившихся на лечении в отделениях разного профиля в 2006-2012 гг.

Результаты локального микробиологического мониторинга показали, что резистентность *E.coli* к амоксициллину/ клавуланату была наиболее высокой в 2006-2007 гг.. Затем достоверно снижалась ($y= -1,29x^2+0,75x +98,41$; $R^2= 0,89$) и к 2012 г. составила 30 %. Устойчивость к цефепиму к 2010 г. превысила 80 %-ный уровень, а затем постепенно снижалась ($y= -3,26x^2+22,32x +13,63$; $R^2= 0,49$). Устойчивость к цефоперазону/сульбактаму претерпевала сходные, но достоверные изменения ($R^2=0,80$). Штаммы, устойчивые к амикацину и гентамицину, наиболее часто выделялись из клинического материала в 2007 году, затем их доля сокращалась, но достоверных изменений выявить не удалось. Это было связано с

выраженными колебаниями показателей в разные годы наблюдения. Значимые изменения были выявлены только в отношении нетилмицина (R^2=0,73). Возможно, это связано с более редким использованием нетилмицина в клинической практике (рисунок 6.3).

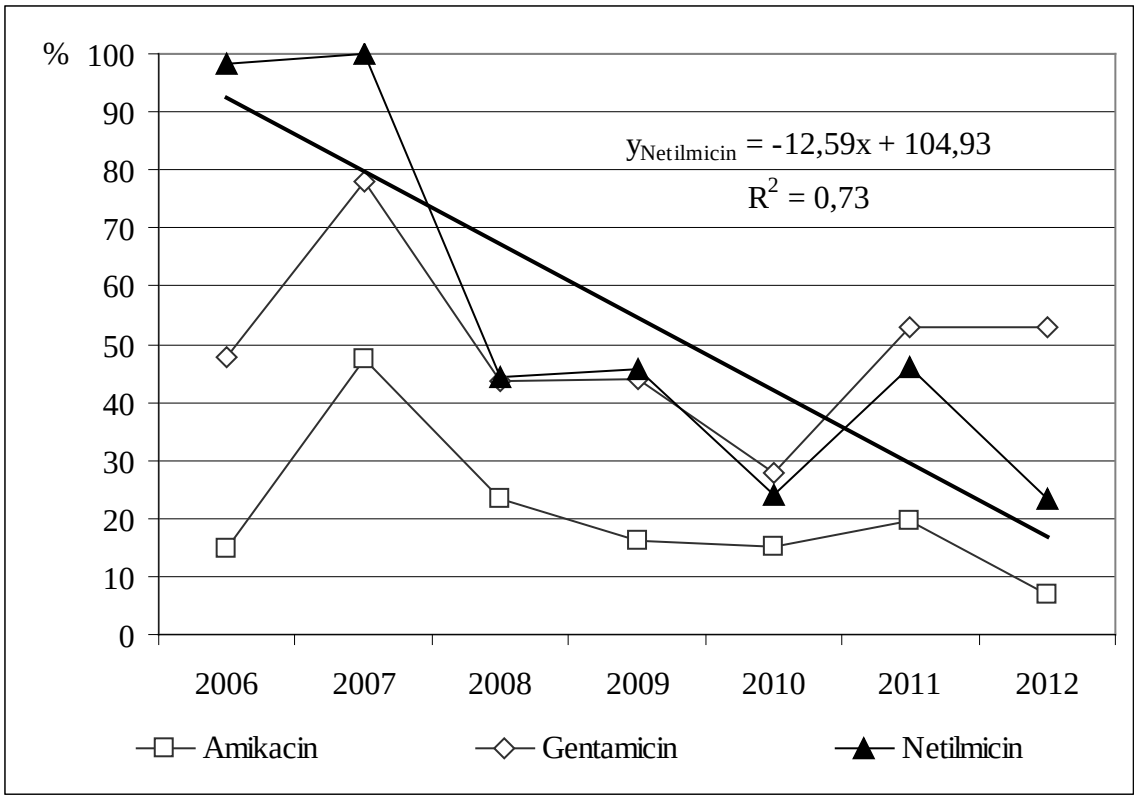

Рисунок 6.3 – Колебания резистентности к аминогликозидам штаммов *E.coli*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных в 2006-2012 гг.

Устойчивость к триметоприм/сульфаметоксазолу в 2012 г. снизилась до показателя 36,9 %. Штаммы, устойчивые к нитрофурантоину, наиболее часто выделялись из клинического материала в 2007 году (24,3 %). В другие годы этот показатель составлял от 5,6 % в 2010 г. до 15,4 % – в 2009 г. Не выявлено значимых изменений в уровне резистентности к тетрациклину в течение 2006-2011 гг., но в 2012 г. обнаружено трехкратное снижение этого показателя. Аналогичные процессы отмечены также в отношении ципрофлоксацина. Следует отметить, что в связи с высоким уровнем резистентности к ципрофлоксацину и цефалоспоринам III поколения, применение этих препаратов в нашем стационаре в режиме эмпи-

рической антибактериальной терапии в течение 2010-2011 гг. было ограничено.

Использованный нами автоматический бактериологический анализатор VITEK-2 (Биомерье, Франция) имеет встроенные возможности, редко используемые в практической работе лабораторий. Использование экспертной системы позволило предположить, что устойчивость к аминогликозидам была обусловлена продукцией аминогликозидмодифицирующих ферментов, разрушающих гентамицин, тобрамицин, нетилмицин и амикацин, а устойчивость к бета-лактамным антибиотикам была связана с наличием БЛРС. Доля изолятов *E.coli*- продуцентов БЛРС сохранялась на высоком уровне, превышая 50-70 % и значимо не изменяясь, а к 2012 г. сократилась до показателя 25 % (рисунок 6.4).

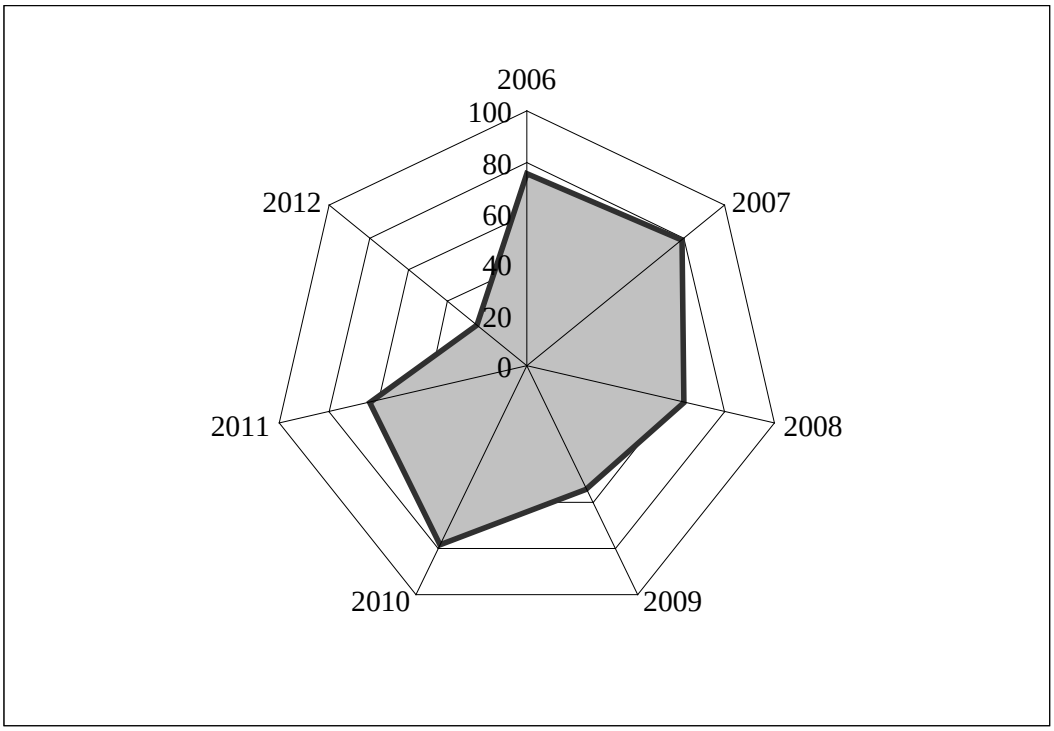

Рисунок 6.4 – Колебания доли БЛРС-продуцирующих штаммов *E.coli*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных в 2006-2012 гг.

Таким образом, результаты исследований чувствительности клинических изолятов *E.coli*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных в 2006-2012 гг., показали, что штаммы сохраняли 100 % чувствительность только к препаратам группы карбапенемов. Выявлены

выраженные годовые колебания уровня резистентности изолятов *E.coli* к АМП разных классов. Наиболее часто достоверные различия отмечались при исследовании чувствительности к бета-лактамным антибактериальным препаратам. Установлено значимое сокращение доли резистентных штаммов *E.coli* к АМП разных классов, что можно связать с применением адекватных методов определения чувствительности и ограничением применения ряда АМП в клинической практике. Данные экспертной системы анализатора подтвердили ферментативный механизм высокого уровня устойчивости *E.coli* к бета-лактамным антибиотикам, не затрагивающий карбапенемы.

6.2 .Антибиотикорезистентность штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от иммунокомпрометированных больных

Штаммы *K. pneumoniae* проявляли высокую резистентность ко многим группам антимикробных препаратов. Более 89 % изолятов были устойчивыми к триметоприм-сульфаметоксазолу, амоксициллину/клавуланату, из аминогликозидов наиболее высокая резистентность отмечалась к нетилмицину, самая низкая – к амикацину. За период наблюдения был выделен один штамм, устойчивый к карбапенемам. Доля штаммов, устойчивых к фторхинолонам, достигала 73,56 %, к цефепиму – 83,10 %. Наиболее низкими были значения резистентности к цефоперазону/сульбактаму. Выявлены резкие колебания показателей в разные годы наблюдения, на что указывает большая величина ошибки средних значений (рисунок 6.5).

Штаммы *K.pneumoniae*, выделенные от пациентов ОРиТ, проявляли наиболее высокую резистентность к антимикробным препаратам: более 70-90 % изолятов были устойчивыми к триметоприму/сульфаметоксазолу и амоксициллину/клавуланату, фторхинолонам, цефепиму, нетилмицину, несколько ниже была резистентность к амикацину. В хирургических отделениях доля резистентных изолятов была несколько ниже, но превышала 81,57 % и 88,36 % соответственно

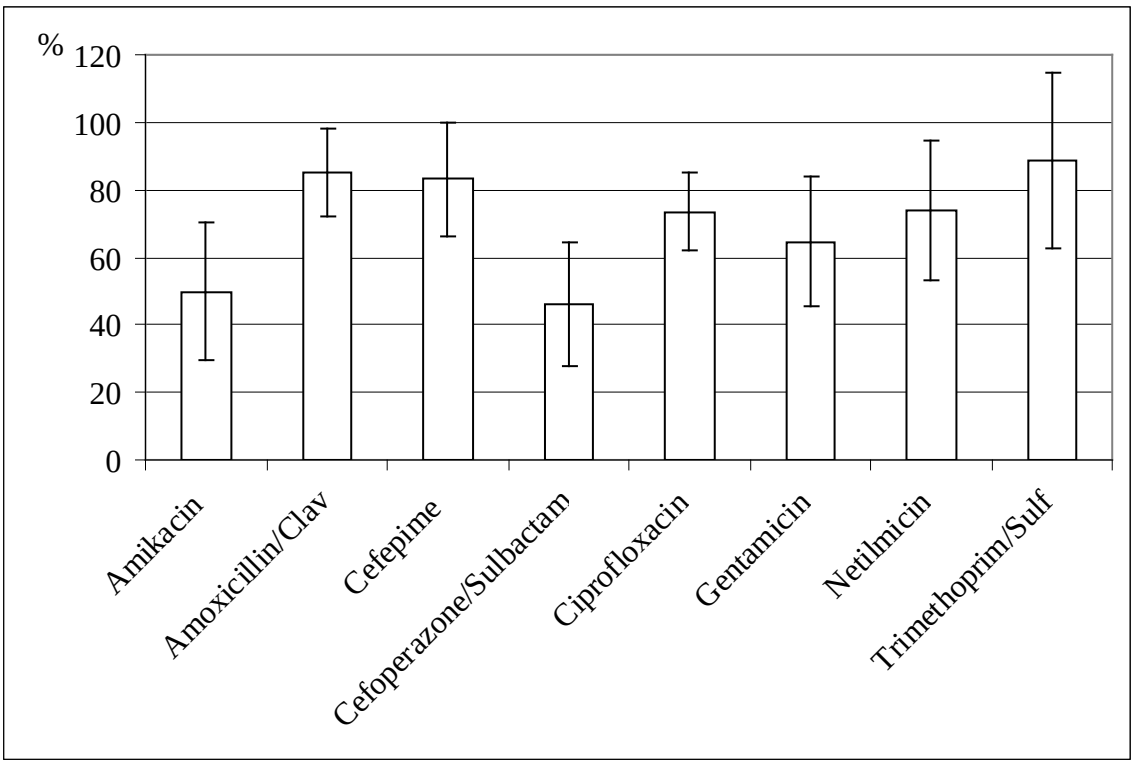

Рисунок 6.5 – Доля устойчивых к АМП штаммов *K.pneumoniae*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных в 2006-2012 гг.

для амоксициллина/клавуланата и триметоприма/сульфаметоксазола. У штаммов, выделенных от пациентов терапевтических отделений, отмечен высокий уровень резистентности в отношении триметоприма/сульфаметоксазола. Устойчивость к бета-лактамным препаратам составила от 54,76 % для цефепима, до 83,33 % для амоксициллина/клавуланата. Вместе с тем, выраженные годовые колебания доли устойчивых штаммов не позволили выявить достоверных различий показателей в отношении большинства изученных АМП, за исключением ципрофлоксацина и нетилмицина.

При этом доли штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к ципрофлоксацину, полученных от пациентов ОРиТ и хирургических отделений, не различались между собой и были достоверно выше, чем у пациентов терапевтических отделений (26,18 %) ($t=2,73$, $p<0,01$ и $t=1,96$, $p<0,05$, соответственно) (рисунок 6.6).

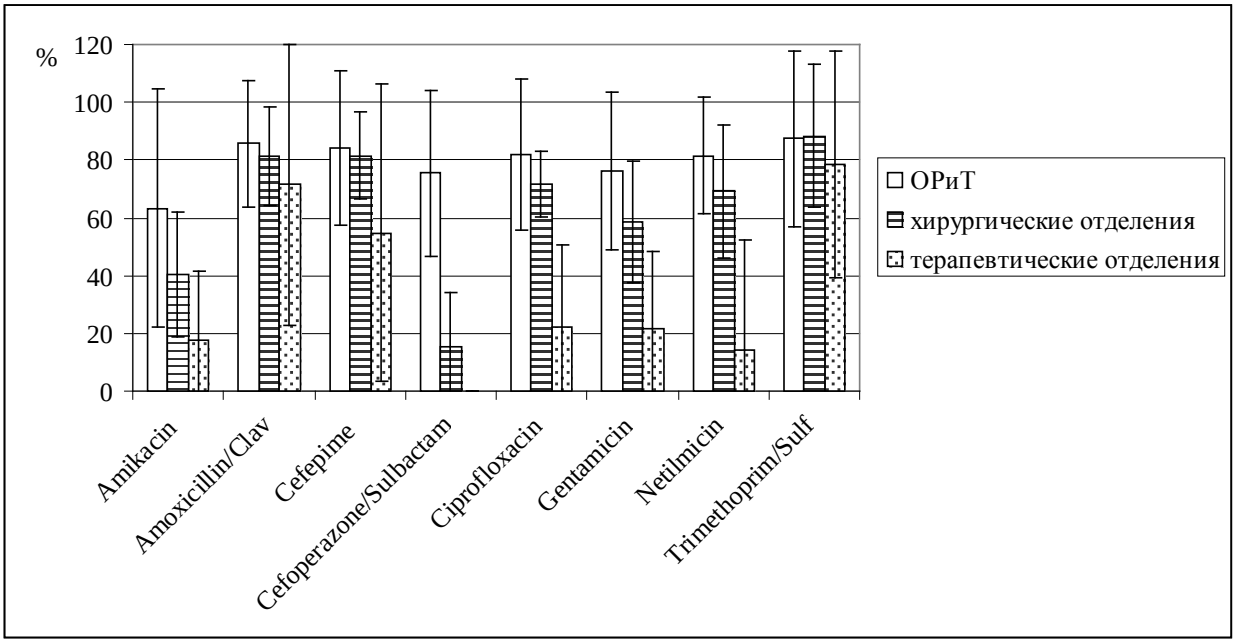

Рисунок 6.6 – Доля устойчивых к АМП штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных, находившихся на лечении в отделениях разного профиля в 2006-2012 гг.

Доля штаммов, устойчивых к нетилмицину, среди выделенных от пациентов ОРиТ и хирургических отделений не различалась. При этом устойчивость штаммов, выделенных от пациентов ОРиТ, была достоверно выше, чем терапевтических отделений (25,00±50,00 %) ($t=2,51$, $p<0,05$).

Анализ изменений устойчивости клинических изолятов *K. pneumoniae* к АМП в динамике исследования позволил установить, что наиболее часто достоверные различия отмечались при исследовании чувствительности к бета-лактамным антибактериальным препаратам. Так, резистентность к амоксициллину/ клавуланату была наиболее высокой в 2006-2007 гг., после чего этот показатель постепенно сокращался ($y= -4,91x+ 104,7$; $R^2=0,65$) и к 2012 г. составил 70 %. Устойчивость к цефепиму в 2006 г. изменялась разнонаправлено: снижалась в 2009 гг. до 70 %, затем повышалась до уровня 90 %, а к 2012 г. вновь падала до 50 %. Отмечена отрицательная динамика этого показателя ($y= -5,97x +106,97$; $R^2=0,59$). Устойчивость к цефоперазону/сульбактаму сохранялась в пределах от 30 до 50 %, но в 2011 году в стационаре отмечена циркуляция штаммов, устойчивых к данному антибиотику, а в 2012 г. отмечено снижение до уровня 28 %.

Выявлена сильная корреляционная прямая связь между годовыми изменениями уровня устойчивости штаммов *K. pneumoniae* к амикацину и гентамицину (r = 0,98), гентамицину и нетилмицину(r = 0,79), амикацину и нетилмицину (r = 0,82) (рисунок 6.7).

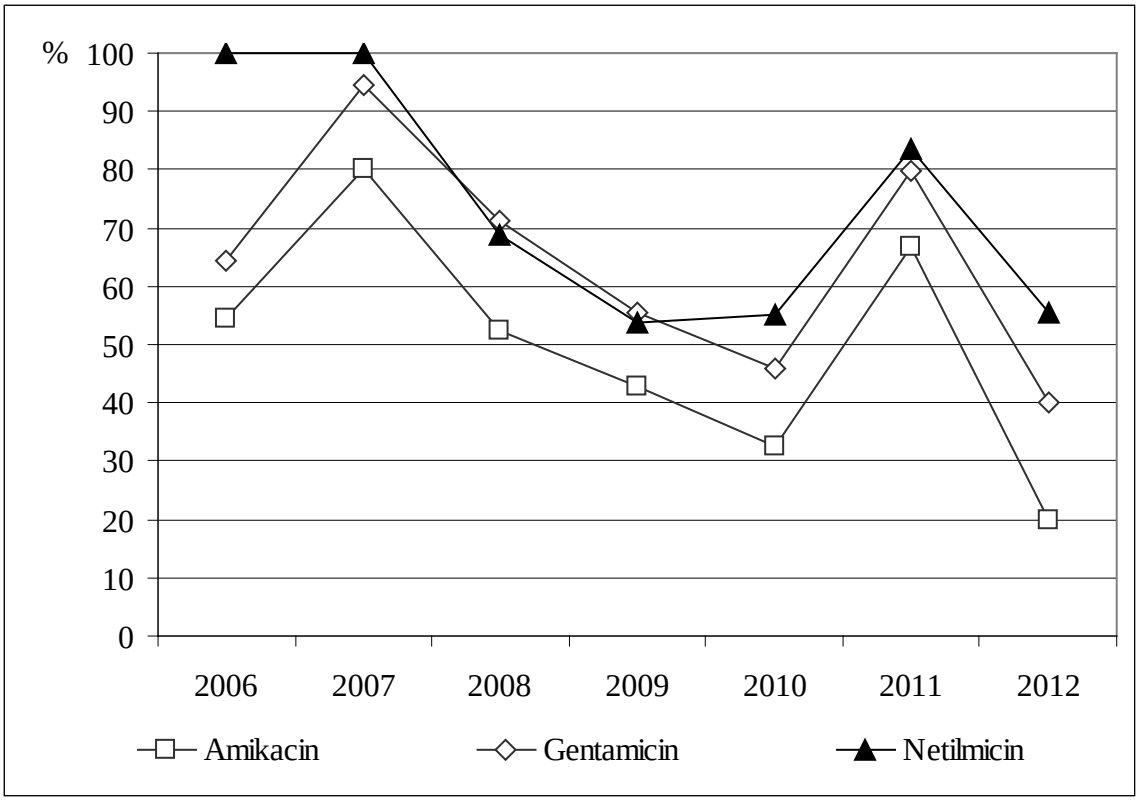

Рисунок 6.7 – Колебания резистентности к аминогликозидам штаммов *K. pneumoniae* в 2006-2012 гг.

Устойчивость *K. pneumoniae* к триметоприму/сульфаметоксазолу не опускалась ниже 93-100 % на протяжении 2006-2011 гг. Лишь в 2012 г. снизилась до показателя 29,7 %. Устойчивость к фторхинолонам на протяжении всего периода исследования колебалась: уровень резистентности к этому фторхинолону был наибольшим, как и резистентность *E.coli* к данному АМП, в 2007 г. (86,5 %), а в дальнейшем колебался в пределах 60-80 %.

Использование экспертной системы позволило установить, что устойчивость к бета-лактамным антибиотикам была связана с наличием БЛРС. В течение 2006-2011 гг. доля изолятов *K.pneumoniae* - продуцентов БЛРС сохранялась на

высоком уровне, от 69 до 100 %, значимо не изменяясь, а в 2012 г. сократилась до показателя 49,2 % (рисунок 6.8).

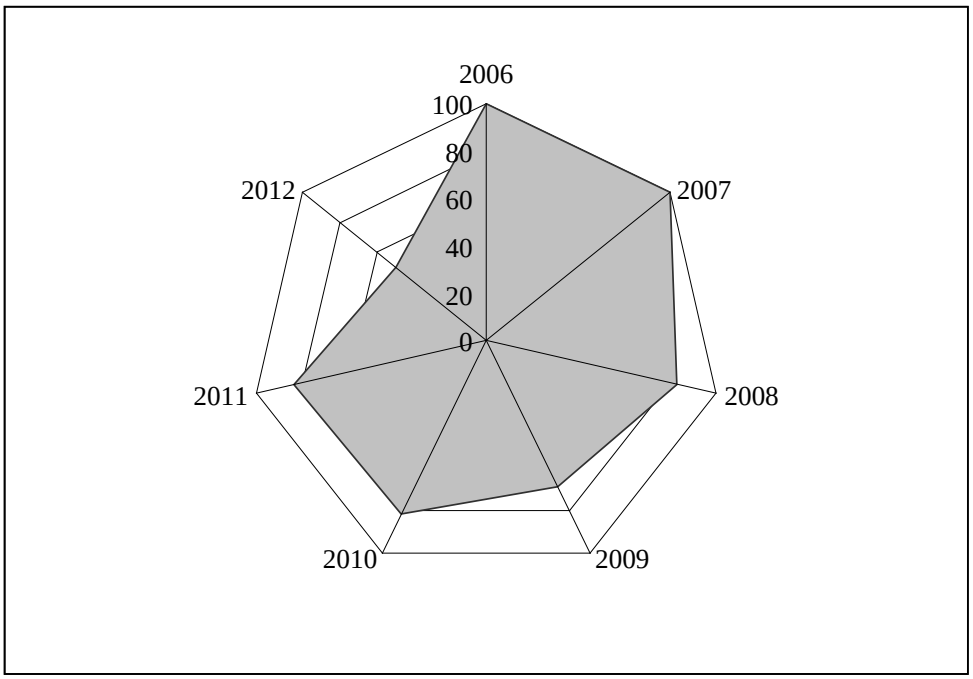

Рисунок 6.8 – Колебания доли штаммов *K.pneumoniae*, продуцирующих БЛРС, в 2006-2012 гг.

Следует отметить, что доля изолятов *K. pneumoniae* – продуцентов БЛРС в течение всего периода проведения исследования превышала аналогичный показатель для штаммов *E.coli*, что подтверждает опасность циркуляции полирезистентных штаммов данных возбудителей в стационаре для лечения иммунокомпрометированных больных.

Выделение штаммов энтеробактерий, устойчивых к бета-лактамам, а также штамма *K. pneumoniae*, устойчивого к карбапенемам, явились основанием для проведения дополнительных исследований. При первичном посеве образцов клинического материала на среду «CHROMagar ESBL» был выявлен рост 21 штамма энтеробактерий, в том числе 2 штаммов *E.coli*, 1 штамма *E. cloacae*, 18 штаммов *K. pneumoniae.* Один из штаммов *K. pneumoniae* вырос также на среде «CHROMagar KPC». При определении чувствительности этих штаммов и интерпретации результатов с помощью экспертной системы Vitek-2 было также выявлено наличие БЛРС, а у одного штамма *K. pneumoniae* – продукция карбапенемазы, предпо-

ложительно OXA-48. Молекулярно-генетические исследования подтвердили наличие у всех 21 исследованных штаммов фермента CTX-M1, а у штамма *K. pneumoniae*, выросшего также на среде «CHROMagar KPC», – карбапенемазы генетической группы OXA-48. Кроме того, у одного из штаммов *K. pneumoniae* – продуцента фермента CTX-M1 был обнаружен также фермент генетической группы CTX-M9. Таким образом, использование хромогенных сред позволило в течение 24 часов выявить энтеробактерии, устойчивые к цефалоспоринам и карбапенемам за счет продукции специфических ферментов, расширить спектр антибактериальных препаратов, которые не могут быть рекомендованы для лечения пациента, инфицированного полирезистентным штаммом, и выбрать препарат, ориентируясь на более точные и объективные критерии интерпретации результатов. В случае несвоевременного выявления полирезистентных клонов они могли получить преимущество для размножения под действием неадекватной антибактериальной терапии.

Таким образом, применение при первичном посеве хромогенных сред для выявления БЛРС и карбапенемаз позволяет выявить продуцентов данных ферментов в течение суток, что подтверждается молекулярно-генетическими исследованиями и позволяет ускорить назначение адекватной антибактериальной терапии.

6.3. Антибиотикорезистентность штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от иммунокомпрометированных больных

Более 80 % изолятов *P. aeruginosa* были устойчивыми к левофлоксацину, пиперациллин/тазобактаму, ципрофлоксацину, среди аминогликозидов наиболее высокая резистентность наблюдалась к нетилмицину и гентамицину, чем к амикацину. Кроме того, устойчивость к цефепиму, цефоперазону/сульбактаму и карбапенемам достигала 45 %. Так, к имипенему резистентность составила 45,47 ± 22,29 %, к меропенему 52,79 ± 27,04 % (рисунок 6.9).

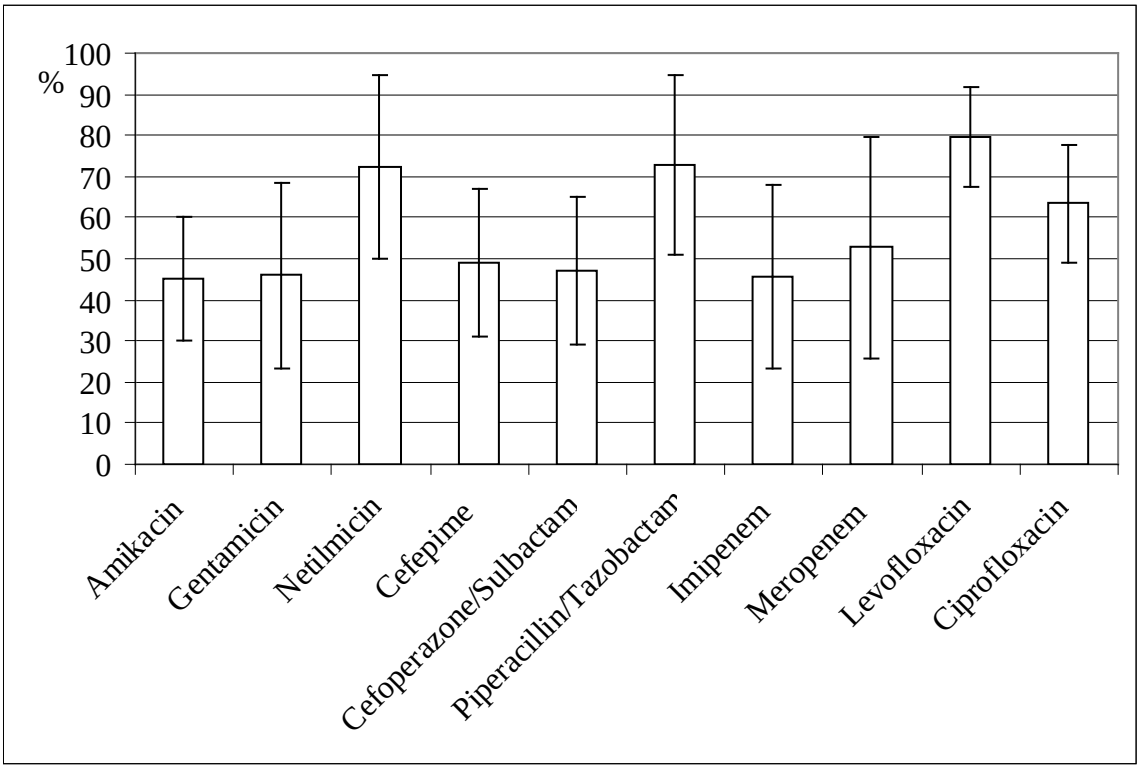

Рисунок 6.9 – Доля устойчивых к АМП штаммов *P.aeruginosa* в 2006-2012 гг.

Среди штаммов, выделенных от пациентов ОРиТ, устойчивыми к меропенему были 52,96±36,30 % изолятов, имипенему – 58,51±32,08 %, пиперациллину/тазобактаму – 58,86±40,26 %. Достаточно низкая резистентность наблюдалась к амикацину (26,16±25,44 %). В хирургических отделениях доля резистентных изолятов была несколько выше и превышала 60 % – 70 % для ципрофлоксацина и нетилмицина, для других исследованных АМП этот показатель составил от 34,29±32,08 % (имипенем) до 52,77±36,75 % (меропенем). У штаммов, выделенных от пациентов терапевтических отделений, отмечен невысокий уровень резистентности в отношении гентамицина (7,14±18,90 %). Вместе с тем, выраженные годовые колебания доли устойчивых штаммов не позволили выявить достоверных различий показателей в отношении, изученных АМП (рисунок 6.10).

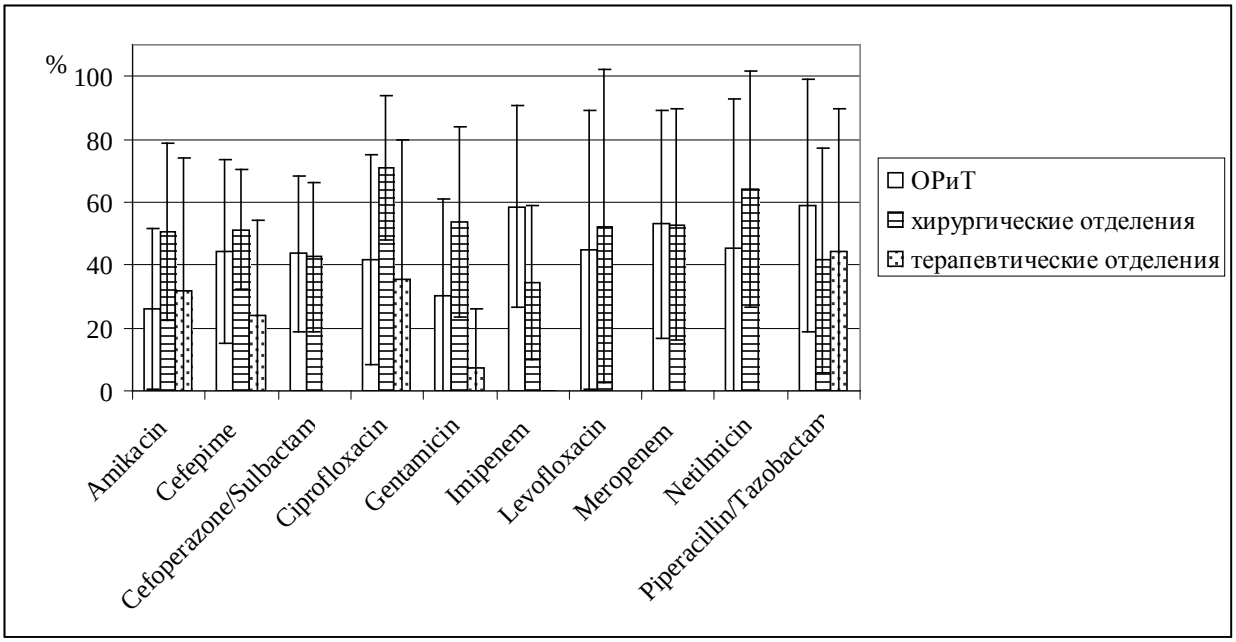

Рисунок 6.10 – Доля устойчивых к АМП штаммов *P.aeruginosa* в 2006-2012 гг.

Резистентность к пиперациллину/тазобактаму была наиболее высокой в 2006-2007 гг., а затем постепенно сокращалась (y= -7,24x+ 94,77; R^2=0,51). Устойчивость к цефепиму в 2006 г. превышала 70 %, а затем отмечено снижение уровня устойчивости штаммов (y= -6,09x +73,23; R^2=0,53). В 2009 году в стационаре был выявлен двухкратный рост доли штаммов, устойчивых к цефоперазону/сульбактаму, а в 2012 г. отмечено снижение до уровня 40 %. Наиболее высокой была устойчивость к нетилмицину. Штаммы, устойчивые к гентамицину, наиболее редко выделялись в 2008-2010 гг., но к 2012 г. их доля возросла до 60 %. В то же время для амикацина выявлена неблагоприятная тенденция: резистентность постепенно нарастала (y= 5,50x +22,99; R^2=0,62). Устойчивость *P. aeruginosa* к карбапенемам в период наблюдения колебалась от 9 % в 2008 г. до 75 % в 2011 г. для имипенема и от 20 % в 2008 до 86,7 % в 2011 г. к меропенему. В целом, отмечалось увеличение доли штаммов, устойчивых к карбапенемам, но выраженные годовые колебания показателей не позволили выявить достоверных тенденций. Между уровнем устойчивости к имипенему и меропенему выявлена сильная корреляционная прямая связь (r = 0,78). Возможно, это связано с циркуляцией в стационаре штаммов *P. aeruginosa*, имеющих сочетание двух типов мутации (потеря

поринового белка OprD и активация эффлюкса MexA-MexB-OprM) [130]. Кроме того, в настоящее время в стационарах все чаще встречаются штаммы, продуцирующие карбапенемазы разных классов [130]. Ципрофлоксацин был более активен, чем левофлоксацин. Можно отметить, что за период исследования не было выявлено штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к колистину.

6.4. Антибиотикорезистентность штаммов *E. faecalis*, выделенных от иммунокомпрометированных больных

Более 70 % изолятов *E. faecalis* были устойчивы к тетрациклину, гентамицину и стрептомицину. Самая низкая резистентность наблюдалась к ампициллину – 1,94± 1,54 %, фосфомицину и нитрофурантоину. Из фторхинолонов наиболее высокая резистентность отмечена к левофлоксацину. Устойчивость к ванкомицину не превышала 0,47± 1,25 %, а штаммов, устойчивых к линезолиду и тайгециклину выявлено не было (рисунок 6.11).

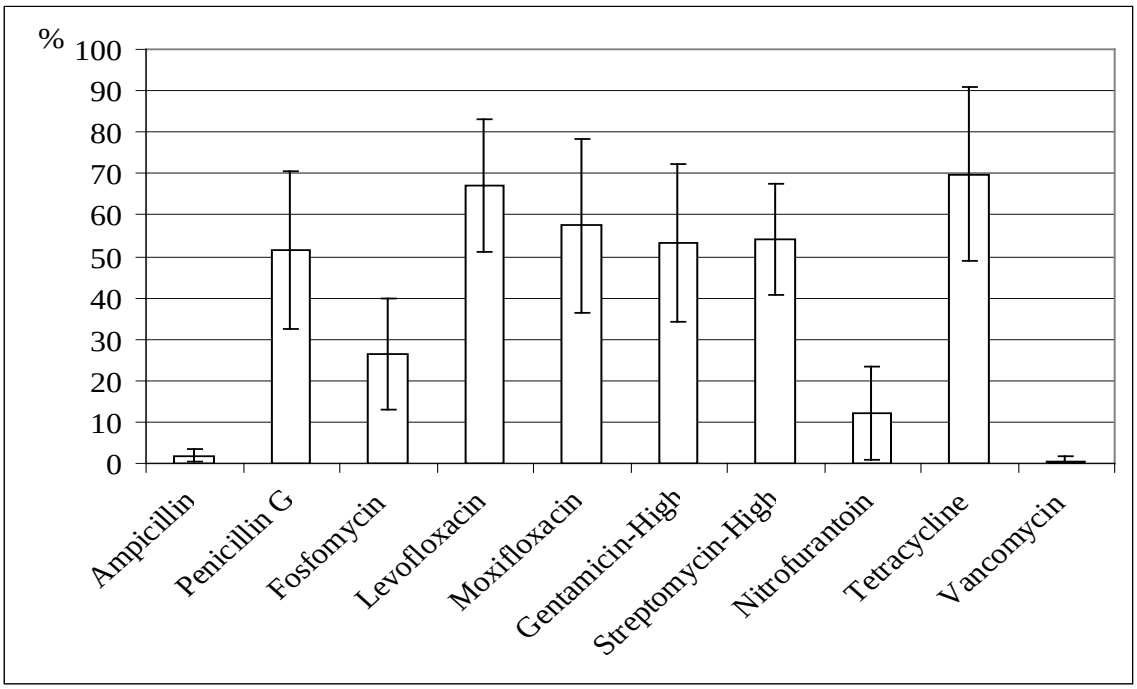

Рисунок 6.11 – Доля устойчивых к АМП штаммов *E. faecalis* в 2006-2012 гг.

Штаммы *E. faecalis*, выделенные от пациентов ОРиТ, проявляли высокую резистентность к тетрациклину (61,89± 44,33 %), устойчивыми к гентамицину

были 32,39±38,96 % изолятов, стрептомицину – 37,24±37,20 %. Самая низкая резистентность наблюдалась к ампициллину (1,86±2,34 %). В хирургических отделениях доля резистентных изолятов была несколько выше и превышала 60 % – 70 % для левофлоксацина и тетрациклина, для других исследованных АМП этот показатель составил от 57,84±16,82 % (моксифлоксацин) до 2,97±4,44 % (ампициллин). У штаммов, выделенных от пациентов терапевтических отделений, отмечен невысокий уровень резистентности в отношении гентамицина (39,29±45,32 %), а к АМП стрептомицинового ряда – достаточно высокий (63,10±45,10 %). Резистентности к ампициллину, нитрофурантоину, ванкомицину за весь период наблюдения зарегестрировано не было. Вместе с тем, выраженные годовые колебания доли устойчивых штаммов не позволили выявить достоверных различий показателей в отношении изученных АМП (рисунок 6.12).

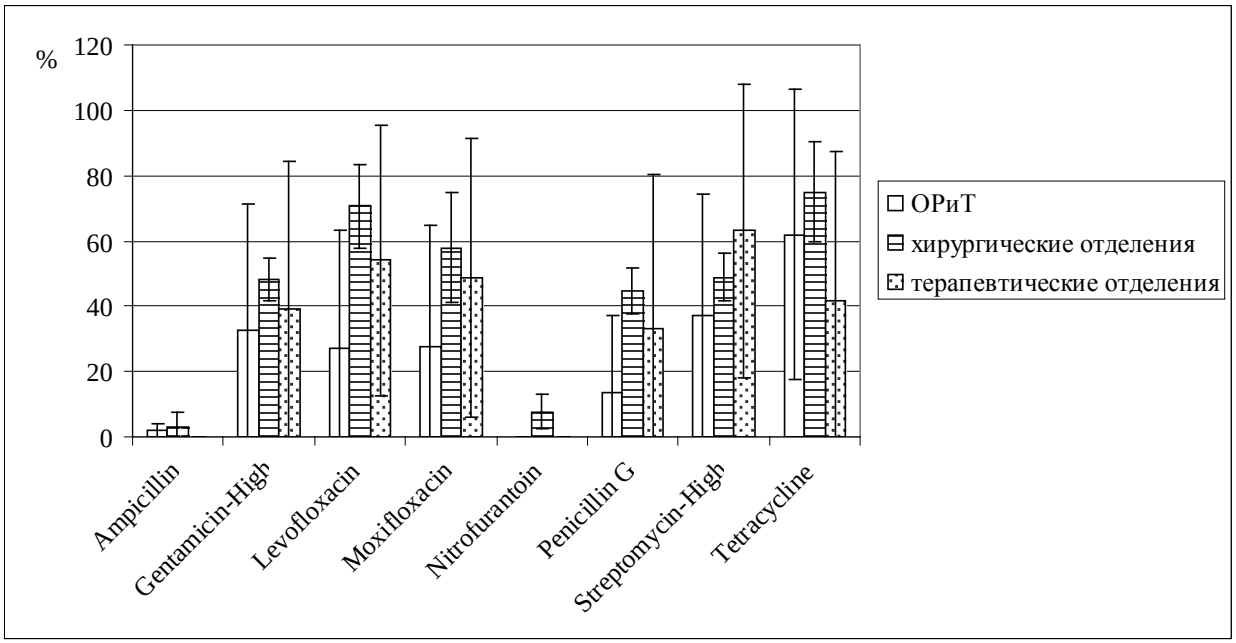

Рисунок 6.12 – Доля устойчивых к АМП штаммов *E. faecalis*, выделенных из образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных, находившихся на лечении в отделениях разного профиля в 2006-2012 гг.

Резистентность *E. faecalis* к фосфомицину была наиболее высокой в 2006 г. и превышала 50 %. Затем постепенно сокращалась до уровня 10 % в 2012 г. Устойчивость к ампициллину колебалась от 0 % (в 2006 и 2011 г) до 3,5 % в 2009 г. Выраженный характер носили годовые колебания частоты выделения штаммов

E. faecalis, устойчивых к гентамицину. Штаммы, устойчивые к гентамицину, стрептомицину и фторхинолонам наиболее часто выделялись в 2008 г., а к 2012 г. их доля составила 50 %. Штаммы, устойчивые к тетрациклину, наиболее часто выделялись из клинического материала в 2011-2012 году. С 2006 по 2011 гг. устойчивых к ванкомицину штаммов *E. faecalis* не было зарегистрировано, лишь в 2012 г. 3,3 % штаммов проявляли резистентность к ванкомицину. Клинические изоляты *E. faecalis* сохраняли 100% чувствительность только к линезолиду и тайгециклину. В целом в период проведения исследования отмечалось увеличение доли штаммов, устойчивых к тетрациклинам, аминогликозидам, но выраженные годовые колебания показателей не позволили выявить достоверных различий.

Таким образом, результаты локального микробиологического мониторинга позволили установить особенности спектра антибиотикочувствительности ведущих патогенов у пациентов отделений разного профиля. Разработка и внедрение в практическую деятельность оптимизированного алгоритма бактериологического исследования образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных способствовала развитию установленных нами благоприятных тенденций снижения уровня устойчивости лидирующих возбудителей к АМП. По результатам исследования были определены наиболее эффективные антибактериальные препараты для своевременной коррекции рекомендаций по эмпирической терапии ИО, связанных с лидирующими возбудителями, у пациентов ОРиТ, а также отделений хирургического и терапевтического профиля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осложнения способны существенно снижать эффективность высокотехнологичных операций и уменьшать сроки выживаемости пациентов с тяжелыми иммуносупрессивными состояниями. Задача предотвращения развития и распространения инфекционных осложнений диктует необходимость проведения своевременного и корректного бактериологического исследования различных образцов клинического материала пациентов. В каждом стационаре создаются особые условия для появления и распространения различных возбудителей. Это определяется контингентом пациентов, особенностями нозологических форм, соблюдением правил противоэпидемического режима и т.д., поэтому проведение локального микробиологического мониторинга необходимо для лабораторного контроля соблюдения санитарно-противоэпидемического режима, своевременной коррекции схем рациональной антибиотикотерапии. Для решения этих задач необходим современный уровень микробиологической диагностики.

Исследование проводили в специализированном хирургическом стационаре федерального уровня, в который поступали пациенты для проведения оперативного лечения, лучевой или химиотерапии. Особенностью обследованных нами 3543 пациентов было то обстоятельство, что они поступали на лечение после предшествующих госпитализаций для обследования или лечения в других стационарах города и страны с целью установления диагноза онкологического заболевания или выявления показаний к трансплантации печени. Они имели высокий риск инфицирования штаммами возбудителей, циркулирующих в стационарах разного уровня. В связи с этим мы не ставили перед собой задачу выявить возбудителей инфекций вне- или внутрибольничного происхождения, полагая, что вне зависимости от происхождения возбудителя развитие инфекционных осложнениях у больного с иммуносупрессией требует быстрой и качественной микробиологической диагностики и назначения этиотропной терапии.

Анализ результатов микробиологического мониторинга, проведенного в 2006-2012 гг., показал, что наиболее часто необходимость в бактериологическом

исследовании отмечалось при развитии инфекций мочевыводящих путей. Так, среди исследованных нами 8100 образцов клинического материала доля проб мочи составила 49,77 %, доля проб раневого отделяемого 27,88 %, крови – 10,83 %, отделяемого дыхательных путей – 8,47 %. Таким образом, у обследованных нами пациентов наиболее часто развивались инфекций мочевыводящих путей, что соответствует литературным данным о частоте и распространенности внутрибольничных инфекций [28, 29].

За период проведения исследования из образцов клинического материала было выделено 4033 штамма микроорганизмов, среди которых было 33,99 % ГПБ, 55,89 % ГОБ и 9,92 % микромицетов. Особенности локализации определили и спектр лидирующих возбудителей, выделенных из образцов клинического материала. Более 45,80 % (n = 1847) штаммов были выделены из проб мочи, из раневого отделяемого было выделено 36,92 % (1483 изолята), из крови – 6,87 % (277 изолята), из отделяемого НДП 8,78 % (354 изолята). Первое место занимала *E.coli*, (17,60±1,20 %), вторым по значимости был *E. faecalis*, что соответствует данным литературы о лидирующем характере этих возбудителей в развитии ИМВП. Следует отметить, что спектр лидирующих возбудителей ИО различался в зависимости от локализации. Так, при инфекциях МВП и ИОХВ чаще встречались *E. coli* (21 и 18 % соответственно), при инфекциях НДП – *P. aeruginosa* (26 %), а при бактериемии – *K. pneumoniae* (22 %). В целом чаще встречались каталазаотрицательные, чем каталазаположительные кокки, среди ГОБ преобладали энтеробактерии. Установлено, что особенностью спектра возбудителей ИО у обследованных нами пациентов специализированного хирургического стационара была высокая доля микромицетов. В отличие от данных других стационаров, не выявлено высокой доли *S. aureus*: этот возбудитель встречался эпизодически и выраженного распространения не имел. Из клинического материала редко выделялись также штаммы *Acinetetobacter* spp., хотя данный микроорганизм в других стационарах имеет глобальное распространение [9].

Среди микроорганизмов, выделенных в клинически значимом титре, были идентифицированы представители 54 родов, относящихся не менее чем к 139 ви-

дам. Среди них были не только типичные возбудители ИО (*E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, E. faecalis*), но и редко встречающиеся виды. Среди них можно отметить выделение в монокультуре и клинически значимом титре *E. casseliflavus*, ранее описанного в качестве возбудителя раневой инфекции. Следовательно, количественная характеристика и точная идентификация возбудителя позволяет установить роль редко встречающихся видов бактерий и грибов в развитие ИО.

В 30 % случаев наличия роста микроорганизмов в клиническом значимом титре на питательных средах обнаруживались ассоциации возбудителей, состоящие из двух-четырех видов бактерий и (или) микромицетов. Использование при первичном посеве хромогенных питательных сред «Уриселект» и «Brilliance Candida agar» позволило уже через 18 часов после посева материала выявить наличие роста микроорганизмов разного вида, наличие ассоциаций и их количественные соотношения, что в случаях экстренных ситуаций позволяло выдать предварительный ответ клиницистам о необходимости применения разнонаправленной эмпирической терапии.

Локальный микробиологический мониторинг позволил определить микробный пейзаж стационара. Выявлены выраженные годовые колебания удельного веса лидирующих возбудителей, но принципиального изменения спектра за период проведения исследования не отмечалось. По-видимому, это связано с особенностями спектра возбудителей ИО у иммунокомпрометированных больных, поступающих на лечение в специализированный хирургический стационар. Полученные нами данные послужили основанием для включения в схему первичного посева хромогенных сред для быстрого выявления уропатогенов и микромицетов рода *Candida*.

Анализ исследований в динамике частоты выделения лидирующих возбудителей позволил установить достоверное сокращение доли энтеробактерий в спектре возбудителей ИО в 2006-2012 гг. и выявить тенденцию к повышению этих показателей для ГПБ и НГОБ. Установлено, что в разные годы проведения исследования удельный вес лидирующих возбудителей значимо различался в широком диапазоне. Не удалось выявить зависимой от времени тенденции к увеличению

или снижению удельного веса лидирующих возбудителей, что указывает на возможность их непредсказуемого заноса и распространения в ЛПУ в разные периоды наблюдения. По-видимому, результаты локального микробиологического мониторинга можно рассматривать только с позиции кратковременного их применения, поскольку за каждым случаем выявления резистентного штамма возбудителя неизменно следуют противоэпидемические мероприятия. Перемещение пациентов между отделениями способствует перемещению возбудителей, что отразилось и на результатах нашего исследования. Вместе с тем, постоянное проведение санитарно-противоэпидемических мероприятий предотвращает распространение резистентных штаммов и создание условий для формирования устойчивых экологических систем в локальном отделении. Это указывает на ведущую роль бактериологической лаборатории в быстром выявлении и качественной идентификации возбудителей ИО разной локализации для своевременной оптимизации антибактериальной и антифунгальной терапии.

Приводим пример. 20.11.2012 г. в отделение урологии поступил для проведения планового оперативного вмешательства пациент Н. переводом из другого стационара. При бактериологическом исследовании образца мочи был выделен штамм *K. pneumoniae*, подозрительный на наличие БЛРС и карбапенемаз. Эти результаты были подтверждены исследованиями чистой культуры бактериологическими и молекулярно-генетическими методами. Пациент был изолирован в индивидуальный бокс и получил курс адекватной антибактериальной терапии. При последующих посевах возбудитель не обнаружен. Случаев выделения данного возбудителя от других пациентов стационара не выявлено. Таким образом, нам удалось предотвратить распространение эпидемически опасного штамма *K. pneumoniae* в стационаре.

В зависимости, от вида получаемого лечения обследованные были распределены на группы пациентов терапевтических отделений, поступивших для проведения лучевой или химиотерапии и хирургических отделений, поступивших для проведения оперативного вмешательства по поводу онкологического заболевания. В отдельную группу мы выделили пациентов ОРиТ в связи с имеющимися лите-

ратурными данными о более частом развитии ИО ОРиТ. Сравнительная характеристика спектров основных возбудителей позволила установить, что лидирующим возбудителем в хирургических отделениях была *E.coli* (22 %), в ОРиТ превалировала *P.aeruginosa* (17,42 %), а в терапевтических отделениях на первом месте был метициллин-чувствительный *S.aureus* (15,9 %).

В период проведения исследования в стационар поступали на лечение как больные с онкологическими заболеваниями, так и пациенты для проведения ОТП. Это предоставило нам уникальную возможность дать сравнительную характеристику спектров возбудителей ИО у этих больных. Было установлено, что среди 3867 штаммов возбудителей, выделенных из образцов клинического материала онкологических больных, преобладали ГОБ, доля которых превышала 55 %. Эта же группа возбудителей чаще других встречалась в образцах, полученных от пациентов, перенесших ОТП. В целом удельный вес возбудителей различался у пациентов с иммунодефицитом разного происхождения: ГПБ достоверно чаще встречались у онкологических больных, а микромицеты – у лиц, перенесших ОТП. У больных, перенесших ОТП, чаще выделялись штаммы *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, а доля гемокультур в спектре возбудителей была в шесть раз выше, чем у онкологических больных, что указывает на более высокую частоту развития септических осложнений.

Среди обследованных нами онкологических больных наиболее многочисленными были онкоурологические пациенты. При проведении исследований удалось обнаружить, что при опухолях почек ГОБ и ГПБ выделялись с равной частотой, тогда как при опухолях простаты и мочевого пузыря значимо повышалась вероятность участия в инфекционном процессе ГОБ, удельный вес которых составил соответственно 67 % (n=134) и 62,42 % (n=196). При раке мочевого пузыря чаще, чем при раке простаты, выделяли *S. maltophilia* ($p<0,05$). От больных раком почки чаще, чем от больных РМП, выделялись представители рода *Streptococcus* ($p<0,05$). У больных РПр эта группа микроорганизмов не встречалась.

Выявленные особенности спектра возбудителей, вызывающих развитие ИО у иммунокомпрометированных пациентов специализированного хирургического

стационара федерального уровня, были учтены нами при разработке алгоритма бактериологического исследования, который включил в себя использование хромогенных сред и бактериологических анализаторов, интерпретацию результатов определения чувствительности к АМП с использованием критериев EUCAST. Результаты анализировали с помощью модифицированной программы WHONET.

Широкое распространение энтеробактерий в спектре возбудителей ИО у обследованных нами пациентов, а также чрезвычайно высокий уровень устойчивости к АМП разных классов, заставил нас использовать дополнительные быстрые методы выявления энтеробактерий – продуцентов БЛРС. Для этого в схему первичного посева образцов клинического материала были дополнительно включены чашки с хромогенными средами, позволяющими уже через 18 часов обнаружить устойчивость ГОБ к цефалоспоринам и карбапенемам. Полученные нами на этих средах штаммы были исследованы с помощью ПЦР, результаты исследования подтвердили наличие данных ферментов исследуемых изолятов.

Большое значение имеет не только качественное определение чувствительности возбудителя, но и современные подходы к интерпретации полученных результатов. Эти принципы были реализованы нами при разработке алгоритма, представленного в пятой главе диссертации. Его внедрение в повседневную практику работы микробиологической лаборатории и учет полученных результатов резистентности с помощью программы WHONET-4 с внесенными нами дополнениями позволили выявить основные тенденции изменения устойчивости основных возбудителей к антимикробным препаратам.

На современном этапе развития медицинской микробиологии качественное проведение локального микробиологического мониторинга требует соблюдения ряда условий при исследовании образцов клинического материала: сбор биологического материала и определение клинической значимости выделенных микроорганизмов в соответствии с нормативными документами; определение чувствительности к антимикробным препаратам с использованием бактериологического анализатора; интерпретация результатов в соответствии с международными стандартами. Полученные нами результаты позволили установить особенности спек-

тра антибиотикочувствительности ведущих патогенов у пациентов отделений разного профиля. Разработка и внедрение в практическую деятельность оптимизированного алгоритма бактериологического исследования образцов клинического материала иммунокомпрометированных больных способствовала развитию установленных нами благоприятных тенденций снижения уровня устойчивости лидирующих возбудителей к АМП. По результатам исследования были определены наиболее эффективные антибактериальные препараты для своевременной коррекции рекомендаций по эмпирической терапии ИО, связанных с лидирующими возбудителями, у пациентов ОРиТ, а также отделений хирургического и терапевтического профиля. В то же время, полученные нами результаты показали, что значимость локального микробиологического монтиринга для планирования эмпирической антибактериальной терапии носит ограниченный ориентировочный характер. На первый план в работе бактериологической лаборатории стационара выступает проблема экспресс-диагностики этиологии ИО и качественного определения чувствительности к АМП их возбудителей, то есть решение вопроса назначения рациональной антимикробной терапии каждому нуждающемуся в ней пациенту (индивидуализация назначения АМП).

Исследования проводились при постоянном совершенствовании методов и подходов, которые нашли свое отражение в разработке и внедрении ряда рационализаторских предложений. Целенаправленное использование хромогенных сред и современного лабораторного оборудования, а также полученные с их помощью результаты послужили основанием для разработки рекомендаций по оптимизации алгоритма бактериологического обследования иммунокомпрометированных больных, находящихся на лечении в профильном стационаре регионального уровня. Полученные нами результаты многолетнего микробиологического мониторинга дали основание уточнить направления оптимизации деятельности бактериологической лаборатории.

ВЫВОДЫ

1. Микробный пейзаж возбудителей инфекционных осложнений пациентов специализированного онкологического стационара федерального уровня включал представителей 54 родов и 139 видов бактерий и микромицетов и в 45,8 % случаев формировался за счет уропатогенов, в том числе *E. coli* (17,8 %), *K. pneumoniae* (9,9 %), *E. faecalis* (9,9 %), *P. aeruginosa* (7,8 %), *C. albicans* (6,1 %). Удельный вес *E. coli* и *E. faecalis* был более высоким у пациентов хирургических отделений, чем терапевтических ($p < 0,05$), *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* чаще встречались в спектре возбудителей инфекционных осложнений пациентов ОРиТ ($p < 0,05$).

2. Выявленные особенности спектра возбудителей позволяют расширить область применения хромогенной неселективной среды для изолирования и подсчета микроорганизмов из мочевого тракта и использовать ее для первичного посева разных образцов клинического материала, что ускоряет оценку качественного и количественного состава ассоциаций патогенов и видовую идентификацию.

3. Удельный вес лидирующих возбудителей различался у пациентов с иммунодефицитом разного происхождения: от онкологических больных чаще выделялись *E. coli* и *E. faecalis* ($p <0,01$), а от больных, перенесших трансплантацию печени, – *P. aeruginosa* и *C. albicans* ($p <0,001$), что обусловило необходимость применения для этой группы пациентов скрининговой хромогенной среды для выделения грибов рода *Candida*.

4. От больных раком почки чаще (9,09 %), чем от больных РМП (3,18 %), выделялись представители рода *Streptococcus* ($p<0,05$), причем от больных РП – только *Streptococcus agalactiae*. Для быстрого его выявления при посеве мочи больных с раком почек необходимо использование скрининговой хромогенной среды для выделения *S. agalactiae.*

5. Разработка клинически обоснованного алгоритма первичного посева клинического материала, включающая применение хромогенных сред, использование преимуществ бактериологических анализаторов и дифференцированного подхода к пациентам с различными нозологическими формами заболевания позволила предотвратить селекцию возбудителей и сдержать распространение резистентных

штаммов микроорганизмов в специализированном онкологическом стационаре федерального уровня.

6. Удельный вес ГОБ в динамике наблюдения постепенно сокращался от 59,3 % в 2006 г. до 42,91 % в 2012 г., что было вызвано постоянным сокращением удельного веса энтеробактерий ($p<0,05$), отмечалась тенденция к возрастанию роли ГПБ. Удельный вес микромицетов колебался на уровне 10 %.

7. Выявлены выраженные годовые колебания уровня резистентности изолятов энтеробактерий и значимое сокращение доли резистентных штаммов к антимикробным препаратам разных классов. Штаммы *E.coli* и *K.pneumoniae* сохраняли высокую чувствительность к препаратам группы карбапенемов, амикацину и цефоперазону/сульбактаму. Использование хромогенных сред для выявления штаммов ГОБ, устойчивых к цефалоспоринам и карбапенемам позволило определить их наличие через 18 ч после первичного посева и снизить риск селекции устойчивых штаммов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Руководству и администрации специализированных хирургических стационаров:

– внедрять современные технологии микробиологической диагностики возбудителей ИО у иммунокомпрометированных пациентов;

– рекомендовать к внедрению в рутинную практику микробиологической лаборатории специализированных хирургических стационаров комплекс оперативных бактериологических скрининговых методов.

2. Клиническому микробиологу:

– применять оптимизированную схему первичного посева клинического материала с использованием хромогенных сред и дифференцированный подход к ускоренной бактериологической диагностике;

– использовать клинически обоснованный алгоритм микробиологической диагностики ИО в специализированном хирургическом стационаре по лечению иммунокомпрометированных больных.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные многолетних исследований показывают актуальность и значимость результатов локального микробиологического мониторинга для иммунокомпрометированных пациентов специализированного стационара. Включение хромогенных сред, данных экспертной системы бактериологических анализаторов и коррекция результатов определения чувствительности к АМП с помощью данных EUCAST способствуют оптимизации рекомендаций по лечению ИО у пациентов с вторичным иммунодефицитом. Выявление спектра лидирующих возбудителей, в том числе в зависимости от нозологической формы заболевания, вызвавшего развитие иммуносупрессии, и вида получаемого лечения дают основание для совершенствования схем рациональной антимикробной терапии. Продолжение исследований должно быть направлено на внедрение экспресс-методов диагностики возбудителей ИО у иммунокомпрометированных пациентов, определение клинической значимости и механизмов антибиотикорезистентости возбудителей, в том числе редко встречающихся.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ПРИНЯТЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

АМП – антимикробный препарат

БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра

ВБИ – внутрибольничная инфекция

ВМедА – Военно-медицинская академия им С.М. Кирова

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГГСИ – госпитальные гнойно-септические инфекции

ГОБ – грамотрицательные бактерии

ГПБ – грамположительные бактерии

ИДП – инфекции дыхательных путей

ИМВП – инфекции мочевыводящих путей

ИО – инфекционные осложнения

ИОХВ – инфекции в области хирургического вмешательства

ИСМП – инфекция, связанная с медицинской помощью

ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение

МВП – мочевыводящие пути

НГОБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии

НДП – нижние дыхательные пути

ОРиТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОТП – ортотопическая трансплантация печени

РМП – рак мочевого пузыря

РП – рак почки

РПр – рак простаты

ЭБ – энтеробактерии

MRSA – Methicillin-resistant S. aureus

VRE – Vancomycin- resistant Enterococcus

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдоминальная хирургическая инфекция: Национальные методические рекомендации / В.С. Савельев, Б.Г. Гельфанд // – М. – 2011 – 92 с.

2. Александров, М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия. М.: Техносфера, 2008. – 228 с.

3. Анализ распространенности ванкомицинрезистентных энтерококков у больных стационара онкологического профиля / Н.В. Мальцева, И.С. Рыбалко, М.М. Бикинеева [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т.16, №2. – С.27.

4. Бадиков, В.Д. Микробиологическая диагностика сепсиса и бактериемии: методическое пособие для врачей / В.Д. Бадиков. – С.Пб.: ГНУ ИОВ РАО, 2005. – 58 с.

5. Варлан, Г.В., Факторы и шкалы оценки риска развития инфекционных осложнений у онкологических больных (обзор литературы) / Г.В. Варлан, И.Н. Петухова, Л.Д. Школьник // Хирургия. – 2007. – №9. – С. 70-74.

6. Воробьева, О.Н. Роль микробиологической лаборатории в интеграции научно-практической деятельности и учебного процесса/ О.Н. Воробьева // Стерилизация и госпитальные инфекции. – 2008. – №1(7).С 44-47.

7. Выделение *Chryseomonas luteola* у больного с сочетанной травмой / Е.П. Сиволодский, Т.Н. Суборова, О.Н. Федотова [и др.] // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2004.– № 3. – С. 117–118.

8. Гиршович, М.М. О новых предсказательных факторах при лечении больных лимфомой Ходжкина III стадии / М.М. Гиршович, С.В. Канаев, К.М. Пожарисский // Вопр. онкологии. – 2010. – Т. 56, № 4.– С. 424–429.

9. Гончаров, А.Е. Эпидемиологические особенности гнойно-септических инфекций, вызванных Acinetobacter baumanii и Pseudomonas в ожоговом реанимационном отделении: Автореф. дис…. к-та. мед.наук: 03.02.03 / Гончаров Артемий Евгеньевич. – СПб., 2005. – 25 с.

10. Готье, С.В. Ортотопическая трансплантация печени / С.В. Готье, О.М. Цирульникова. Клиническая трансплантология: под ред. Б.А. Константинова. – М.: Аир-Арт, 2004. – 120-152с.

11. Готье, С.В. Инфекции в трансплантологии / С.В. Готье. – Триада, 2010. – 382 с.

12. Григорьев, К.И. Внутрибольничные инфекции: эволюция проблем и задачи медицинского персонала / К.И. Григорьев // Медицинская сестра. – 2007. – № 6. – С. 7-10

13. Григорьевская, З.В. Вспышка внутрибольничной инфекции, вызванной (MDR) мультирезистентными штаммами *K.pneumoniae.* / З.В. Григорьевская, И.Н. Петухова, Н.В, Дмитриева // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – №2 (62). – С. 5-8.

14. Грувер, К. П. Клинико – эпидемиологическое значение бактериемии: Автореф. дис…. к-та. мед.наук: 14.01.09 / Грувер Клавдия Павловна. – М., 2011. – 26 с.

15. Грувер, К.П. Клиническое значение бактериемии у больных сепсисом /К.П. Грувер, В.Б. Белобородов // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 90–97.

16. Грувер, К.П. Клинико – эпидемиологические особенности бактериемии К.П. Грувер, В.Г. Жуховицкий, В.Б. Белобородов // Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8, № 4. – С. 13–18.

17. Диагностика и лечение инфекционных осложнений у гематологических и онкологических больных: методические рекомендации / А.А. Новик, Н.Н. Климко, В.Б. Сбойчаков [и др.] – М.: ГВМУ МО РФ, 1998. — 181 с.

18. Дмитриева, Н.В. Инфекция в онкологии / Н.В. Дмитриева, М.И. Давыдов. – СПб: Элби, 2009. – 472 с.

19. Ерюхин, И.А. Хирургические инфекции: руководство / под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. – СПб.: Питер, 2003. — 864с.

20. Жилина, С.В. Архитектоника микробной экологии в отделении гнойной хирургии городской клинической больницы: Автореф. дис…. к-та. мед.наук: 03.02.03 / Жилина Светлана Владимировна. – М., 2011. – 15 с.

21. Значение полирезистентных микроорганизмов в развитии инфекции у онкологических больных / С.А. Зузов, А.Ж. Хотеева, М.М. Зубков [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т.16, №2. – С.20.

22. Зулькарнаев, С.А. Специфические факторы риска развития бактериальных инфекционных осложнений у пациентов, получающих иммуносупрессию / С.А. Зулькарнаев, А.В. Ватазин, М. Крстич // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т.16, №2. – С.21.

23. Идентификация микроорганизмов на основе эффекта гигантского рамановского рассеяния / М.Т. Александров, В.И. Кукушкин, О.А. Амбарцумян, Е.П. Пашков [и др.] // Журн. Микробиол.. – 2013. – № 5. – С. 97-100.

24. Инфекционное осложнение, вызванное бактерией Chryseomonas luteola, у пациента с тяжелым сочетанным повреждением головы, живота и конечностей / Е.К.Гуманенко, В.В.Бояринцев, Т.Н.Суборова [и др.] // Вестн. хирургии им. И.И.Грекова. – 2003. – Т.162, №6. – С.86–87.

25. Карапац, М.М. Клинико-микробиологическое обоснование алгоритма диагностики сепсиса и бактериемии: автореф. дис. … канд.мед. наук:03.02.03 / Карапац Максим Михайлович. СПб., 2002. – 37 с.

26. Климко, Н.Н. Микозы: диагностика и лечение: руководство для врачей. Н.Н. Климко. – М.: Премьер–МТ., 2007.–334 с.

27. Клясова, Г.А. Антимикробная терапия: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови / Г.А. Клясова. – М., 2012. – Т. II. – С. 827–853.,

28. Козлов, Р.С. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, профилактика, контроль / Р.С. Козлов // Инфекция и антимикробная терапия. – 2003. – Т.5, №2. – С. 48–55.

29. Козлов, Р.С. Проблема антимикробной резистентности является угро-

зой национальной безопасности / Р.С. Козлов // Фарматека. – 2008. – № 4. – С. 3-12.

30. Концепции «Развития службы клинической лабораторной диагностики Российской Федерации на 2003-2010г», – М., 2003.

31. Колупаев, В. Е. Стратегические направления в автоматизации этапов исследования внутрибольничных инфекций / В. Е. Колупаев // Сборник «Инфекционные болезни на рубеже XXI века» М. – 2000. – С. 55.

32. Коротяев, А. Медицинская микробиология, иммунология, вирусология: учебник для мед.вузов //А. Коротяев, С. Бабичев. – СПб.: СпецЛит, 2008. – 4-е изд. –767с.

33. Критерии диагностики ИМП (по рекомендациям IDSA/ ESCMID), 2007г», – Европ. Урол. Ассоц. EAU, 2007. – 224с.

34. Курмуков, И.А. Бактериальные и грибковые инфекционные осложнения ближайшего и раннего периода трансплантации / И.А. Курмуков // Трансплантология. – 2010. – № 2. – С. 5-9.

35. Лебедев, А.Т. Основы масс-спектрометрии белков и пептидов / А.Т. Лебедев, К.А. Артеменко, Т.Ю. Самгина // Техносфера.М. – 2012. – С.176.

36. Лоран, Н.И. Мочевые инфекции в урологической практике / Н.И. Лоран // Вестник хирургии. – 1999. – № 3. – С. 23–28.

37. Масс-спектрометрия в медицине и биотехнологии / Т.А. Полунина, М.Н. Киреев, Т.А. Храмченкова [и др.] // Журн. микробиол.. – 2013. – №.5 – С. 112-119.

38. Меньшиков, В.В. Критерии оценки методик и результатов клинических лабораторных исследований: справочное пособие / В.В. Меньшиков. – М.: Лабора, 2011. – 328с.

39. Меньшиков, В.В. Стандартизация в клинической лабораторной медицине. Организационные и метрологические аспекты / В.В. Меньшиков // М. – 2005. – С.251.

40. Метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus* – возбудители внутрибольничных инфекций: идентификация и генотипирование: методические реко-

мендации / Г.Ф. Лазикова, А.А. Мельникова, Н.В. Фролова [и др.].– М.,2006.– 22с.

41. Методические рекомендации по эпидемиологическому мониторингу антибиотикорезистентности микроорганизмов с использованием компьютерной программы WHONET / Л.П. Зуева, М.С. Поляк, Л.А. Кафтырева, Е.Н. Колосовская и др. – СПб., 2004. – 69с.

42. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК 4.2. 1890 – 04): Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 75 с.

43. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: методические указания МУ 4.2.2039-05 // Справочник заведующего КДЛ. – 2006. – № 11.– С.54-63

44. Митрохин, С.Д. Инфекции в онкологической клинике: актуальность, диагностика, профилактика и лечение / С.Д. Митрохин // Фарматека. – 2003. – № 13. – С. 26–33.

45. Наумов, М.М. Проблема инфекций и иммунитета в онкологии. Под ред. М.М. Наумова, Л.Ф. Чернецовой, П.Б. Зотова. – Тюмень: Вектор Бук, 2003. – 191 с.

46. Нозокомиальная пневмония у взрослых: Российские национальные рекомендации / С.Н. Авдеев, В.Б. Белобородов, Б.З. Белоцерковский [и др.] // Клин.микробиол. антимикроб. химиотерап. – 2010. – С.100-142.

47. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений»: приказ МЗ СССР № 535от 22.04.85 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.bestpravo.ru/sssr/eh-postanovlenija/zlr.htm.

48. О заболеваемости ВБИ в Российской Федерации в 2005 году и совершенствовании эпидемиологического надзора за ВБИ / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Письмо от

29.09.2006 г. № 0100/10455–06–32

49. Основы инфекционного контроля: практическое руководство / Американский международный союз здравоохранения: пер. с англ., 2-е изд. – М.: Альпина Паблишер, 2003. – 478 с.

50. Особенности спектра возбудителей бактериемии у больных с вторичным иммунодефицитом разного происхождения / О.В. Полухина, А.В. Саламатов, В.В. Метелев [и др.] – // Вестник гематологии. – 2012. – Т.VIII,№1. – С.70-71.

51. Петухова, Н.Н. Методологические основы профилактики раневой инфекции у онкологических больных / Н.Н. Петухова // Сопроводительная терапия в онкологии. – 2005. – С. 2-8.

52. Петухова, И.Н. Подходы к профилактике хирургической раневой инфекции у онкологических больных / И.Н. Петухова, Н.В. Дмитриева, Г.В. Варлан // Современная онкология. – 2001. – № 2 . – С. 3.

53. Политравма: травматическая болезнь, дисфункция иммунной системы, современная стратегия лечения / под ред. Е.К. Гуманенко, В.К. Козлова. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2008, – 608 с.

54. Полухина, О.В. Частота развития и свойства возбудителей инфекционных осложнений у пациентов, перенесших ортотопическую трансплантацию печени / О.В. Полухина, Д.А. Гранов, Т.Н. Суборова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 4. – С. 27-32.

55. Практические аспекты современной клинической микробиологии / Л.З. Скала, С.В. Сидоренко, А.Г. Нехорошева [и др.] // Лабинформ. М. – 1997. – 184 с.

56. Пути совершенствования лабораторной диагностики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / В.И. Покровский, В.Г. Акимкин, Н.И. Брико [и др.] // Медицинский альманах. – 2012. – № 2(21). – С.12-16.

57. Разработка технологии приготовления панкреатического гидролизата рыбной муки – белковой основы бактериологических питательных сред / А.П. Шепелин, И.А. Дятлов, И.И. Марчихина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 9. – С. 48-49.

58. Ранняя диагностика инфекционных осложнений у пострадавших с тяжёлыми травмами / С.А. Свистунов, А.А. Кузин, Т.Н. Суборова [и др.] // Журнал инфектологии. – 2012. – Т. 4, № 2. – С. 20-25.

59. Резистентность возбудителей амбулаторных инфекций мочевыводящих путей по данным многоцентровых микробиологических исследований UTIAP-1 и UTIAP-11 / В.В. Рафальский, Л.С. Страчунский, О.И. Кречикова [и др.] // Урология. – 2004. – №2. – С. 13-17.

60. Рекомендации европейской урологической ассоциации по ведению больных с инфекциями почек, мочевыводящих путей и инфекциями мужских половых органов / K.G. Naber, M.C. Bishop, T.E. Bjerklund-Johansen [et al.] // Современные клинические рекомендации по антимикробной терапии. Выпуск 2- Смоленск: МАКМАХ – 2007. – 354 с.

61. Рекомендации по оптимизации антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями в отделениях реанимации и интенсивной терапии: пособие для врачей / Л.С. Страчунский, Г.К. Решедько, Е.Л. Рябкова [и др.] – Смоленск : Боргес, 2002. – 22 с.].

62. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патологоанатомическая диагностика: практическое руководство. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2004. – 130 с.

63. Соколов, А.А. Микробиологический мониторинг в системе профилактики и лечения ВБИ в онкологическом стационаре: Автореф. дис. …д–ра мед. наук: 03.02.03/ Соколов Андрей Аркадьевич. – М., 2009. – 231 с.

64. Спектр возбудителей бактериемии у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного происхождения / О.В. Полухина, Т.Н. Суборова, А.А. Кузин [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т.4, №1. – С.43-48.

65. Сравнительный анализ качества питательных сред различных производителей для выделения энтеробактерий / А.П. Шепелин, И.А. Дятлов, Л.П. Шолохова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №9. – С. 41-47.

66. Стандартные операционные процедуры: микробиологическая диагностика госпитальных инфекций / Я.Б. Бейкин, В.А. Руднов, В.П. Шилова [и др.] // Consilium medicum (Инфекции в хирургии). – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 24–27.

67. Страчунский, Л.С. Сравнительная активность антисинегнойных антибиотиков в отношении нозокомиальных штаммов Pseudomonas aeruginosa, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии России / Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Стецюк О.У. // Клин. микроб. и антимикр. химиотер. – 2003. – Т. 5, №1. – С.35–46.

68. Суборова, Т.Н. Совершенствование системы микробиологического мониторинга в специализированном хирургическом стационаре по лечению тяжелых ранений и травм: Автореф. дис. …д–ра биол. наук: 03.02.03, 14.00.46 / Суборова Татьяна Николаевна. – СПб., 2007. – 47 с.

69. Трансплантация почки: пер.с англ. / М. Данович, Габриэль – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2013. –848 с.

70. Трансплантация печени как радикальный метод лечения конечных стадий заболевания печени / М.Ш. Хубутия, А.В. Чжао, К.Р. Джаграев [и др.] // Практика, 2012. – Т. 13. – С. 26-33.

71. Ускоренная культуральная диагностика туберкулеза с использованием автоматизированных систем BACTEC MGIT 960; методические рекомендации. / О.А. Иртуганова, А.М. Мороз, Н.С. Смирнова [и др.] – Пробл. Туб.,2002. – 58с.

72. Хубутия, М.Ш.Состояние и перспективы трансплантации органов в г. Москве. Актуальные вопросы трансплантации органов / М.Ш. Хубутия // Материалы городской науч.- практ. конф. Тверь: Триада. – 2008. – С. 3–15.

73. Цирульникова, О.М. Печень в ранние сроки после ее обширных резекций и трансплантации: Автореф. дисс. … д-ра мед. наук:14.00.27 / Цирюльникова Ольга Мартеновна. – М., 2004. – 37 с.

74. Цитотоксическая миелосупрессия у больных солидными опухолями и фебрильная нейтропения низкого риска развития инфекции / Г.В. Варлан, И.Н. Петухова, Н.А. Аверина [и др.] // Сопроводительная терапия в онкологии. – 2005. – №1. – С. 11-16.

75. Частота и факторы риска развития отторжения печени после трансплантации / Н.С. Павлов, О.И. Андрейцева, С.Г. Мусселиус [и др.] – // РЖГГК. – 2003. – № 1. – С. 26-35.

76. Чиссов, В.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2009 году / В.И. Чиссов, В.В. Старинский. – М: ООО Антиф, 2010. – 64 с.

77. Чувствительность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, к антибиотикам различных групп / В.А. Агеевец, И.В. Партина, Е.С. Лисицына [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58. – С.4-5.

78. Чучукина, О.А. Состояние проблемы инфекций, вызываемых стрептококками серогруппы на современном этапе /О.А. Чучукина, И.А. Бочков // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2013. – №5. – С.52.

79. Шепелин, А.П. Роль и место микробиологии в решении вопросов модернизации здравоохранения. Аналитический обзор/ А.П. Шепелин, И.А. Дятлов // Протвино: А-Принт ЗАО, 2012. – С.112.

80. Шумаков В.И. Трансплантология: Руководство. – Тула: Медицина, 1995. – 212 с.

81. Этиология тяжелых госпитальных инфекций в отделениях реанимации и антибиотикорезистентность среди этих возбудителей / С.В. Сидоренко, С.П. Резван, Л.В. Еремина [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2005. – №2-3. – С.33-41.

82. A comparison of vancomycin and metronidasole for the treatment of *Clostridium difficile* – associated diarrhea, stratified by disease severity / F.A. Zar, S.R. Bakkangari, K.M.Moorthi [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 45. – P.302-307.

83. Adelke, S.I. Urinary tract infection in children with nephritic syndrome in Kano, Nigeria / S.I. Adelke, M.O. Asani // Annals of African Medicine. –Vol. 8(1). – 2009. – P. 38-41.

84. Antibiotic resistance in community-acquired urinary tract infections: prevalence and risk factors / B. Kurtaran, A. Candevir, Y. Tasova [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2010. – Vol. 16(5). – P. 246-251.

85. Antimicrobal therapy for patients with severe sepsis and septic shock: an evidence-based review / P.-Y. Bochud, M. Bonten, O. Marchetti [et al.] // Crit. CareMed. –2004. –Vol. 32, N 11. – P. 495—512.

86. A potential role for daptomycin in enterococcal infections: what is the evidence? / R. Canton, P. Ruiz-Garbajosa, R.L. Chaves, [et al.] // Antimicrob Chemother. – 2010. – P.1126 –1136.

87. AURORA / M.T. Montagna, G. Caggiano, G. Lovero [et al.] // Infection. – 2013. – Vol. 41(3) – P.645-653.

88. Avery, R.K. Update on immunization in solid organ transplantant recipients: what clinicians need to know / R.K. Avery, M. Michaels // Am. J.Transplant. – 2008. – Vol.8. – P.9-14.

89. Bacteremias in Liver Transplant Recipients: Shift Toward Gram-Negative Bacteria as Predominant Pathogens / N. Singh, M.M.Wagener, A. Obman [et al.] // Liver Transplantation. – 2004. – Vol. 10, N. 7. – P.844-849.

90. Bacterial extracellular DNA forming a defined network-like structure / U. Bockelmann, A. Janke, R. Kuhn [et al.] // FEMS Microbiol. Lett. – 2006. – Vol. 262. – 31-39.

91. Bernard, L. The value of bacterial culture during clean orthopedic surgery: a prospective study of 1036 patients / L. Bernard, Ch. Sadowski D. // Mon. Infect. Control Hosp. Epidemiol. – 2004. – P. 512 - 514.

92. Blair, G.E. Bacterial, mycobacterial and protozoal infections after liver transplantation (part1) / G.E. Blair, S. Kusne // Liver Transp. – 2005. –Vol.11-12. – P.1452-1459.

93. Blum, M. Leptin, body composition and bone mineral density in premenopausal women / M. Blum, S.S. Harris, A. Must // Calcif Tissue Int. – 2003. –Vol. 73. – PP. 27-32.

94. Burton, E. Antibiofilm of Gl mU ensime inhibitors against catheter-associated utopathogens / E. Burton, P. Gawande, N.Yakandawala // Antimicrob. Agents Chemother. – 2006. – P.1835 - 1840.

95. Candel, F.J. Bacteremia and septic shock after solid-organ transplantation / F.J. Candel, T. Grima //Matesanz Transplant Proc. – 2005. – Vol. 37. – P.4097 -4099.

96. Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and Klebsiella *pneumoniae* strains isolated from urine of nonhospitalized patients in the Zagreb region / T. Marijan, V. Plecko, J. Vranes [et al.] // Med Glas Ljek komore Zenicko-doboj kantona. – 2010. – Vol. 7(1). – P. 46-53.

97. Characterization of extracellular polymers synthesized intertidal biofilms bacteria / B.O. Ortega-Morales, J.L. Santiago-Garcial, M.J. Chan-Miranda-Tello [et al.] // J Appl. Microbial. – 2007. – Vol. 10(1). – P.254 - 264.

98. Clinical experience of linezolid in bone marrow transplanation patients / H.L. Hogan, R.Y.Hachem, M. Neuhauser [et al.] // J. Pharm. Pract. – 2010. – doi :10.1177/0897190009358773.

99. Comparison des automates VITEK2, VITEK32, PHOENIX et du MICROLOG ML3 pour l'identification d'agents bacteriens selectionnes pour leur interet clinique ou environnemental / E. Hernandez, F. Ramisse, A. Labarre [et al.] // Center d'etudes du Bouchet, Vert le Petit, Hopital d'Instruction des Armees Begin, Saint-Mande, France – 2002. –Vol. 20.№ 9. – P. 419–421.

100. Danzinger-Isakov, L. AST infectious diseases community of practice. Guidelines for vaccination of solid organ transplant candidates and recipients / L. Danzinger-Isakov, D. Kumar // Am J Transpl. – 2009. – Vol. 9(Suppl 4). – P.258–262.

101. Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitativate tip culture / Cristian Brun-Buisson, Fekri Abrouk, Patric Legrand [et al.] //Arch. Intern. Med. – 1987. – Vol. 147. – PP. 873-877.

102. Diversity of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study / M.A. Díaz, J.R. Hernández-Bello, J. Rodríguez-Baño [et al.] // J Clin Microbiol. – 2010. – Vol. 48(8). – P. 2840-2845.

103. Dongari-Bagtzoglou, A. Pathogenesis of mucosal biofilm infections: challenges and progress / A. Dongari-Bagtzoglou // Expert Rev. Anti-Infect. Ther. – 2008. – Vol. 6. – P.201-208.

104. Donor-derived aspergillosis from use of a solid organ recipient as a multi-organ donor / N.J. Mueller, M.Weisser, T. Fehr [et al.] // Transp Infect Dis. – 2010. – Vol. 12 – P.54–59.

105. Early infection in liver transplant recipients: incidence, severity, risk factors and antibiotic sensivity of bacterial isolates / I. Losada, V. Cuervas-Mons, I. Millan [et al.] // Enferm. Infec.Microbiol.Clin. – 2002. –Vol. 20.№ 9. – P. 419–421.

106. Etiological factors of community acquired urinary tract infections in hospitalized patients / D. Piljić, S. Ahmetagić, M. Zildzić [et al.] // Med Arh. – 2009. – Vol. 63(3). – P. 128-132.

107. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectiours Dieases (ESCMID) EUCAST Definitive Document E.Def 1.2, May2000: terminology relating to methods for the determination of bacteria to antibacterial agents. Clin Microbiol Infect 2000. – Vol. 6: – P.503-572.

108. Evaluation of a chromogenic medium for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) –producing Enterobacteriaceae / Ph. Lagace-Wiens, F. Tailor, P. Baudry-Simner [et al.] // ECCMID, Vienna, Austria. 10-13 April 2010. – № 351.

109. Evaluation of a new selective chromogenic agar medium for detection of extended-spectrum beta-lactamase – producing Enterobacteriaceae / Y. Glupczynski, C. Berhin, C.Bauraing [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45, № 2. – P. 501-505.

110. Evaluation of different laboratory tests for the detection of metallo-beta lactamase production in Enterobacteriaceae / I. Galani, H. Giamarellou, P.D.Rekatsina [et al.] // J. Antimicrob.Chemother. – 2008. – Vol. 61. – P.548 -553.

111. Finberg, R.W. Infection in cancer patients. Cancer Medicine and Hematology / R.W., Finberg // Harvard Medical School Department of Continuing Education, October 26, 1999. –P.177.

112. Fishman, J.A. Infections in solid-organ transplant recipients / J.A. Fishman. – N.Engl.J.Med, 2007. – Vol.357. – P.2601-2614.

113. Glauser M.P, Pizzo P.A «Menagement of Infections in Immunocompromised Patients», p.125, 2000. – P.190.

114. Green, M. Guidelines for the prevention and management of infectiours complications of solid organ transplantantation / M. Green, R. Avery, J. Preiksaitis //Am. J. Tansplantant. – 2004. –Vol.4. – P.6-165.

115. Hampton, M.B. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing / M.B. Hampton, A. J. Kettle and C.C. Winterbourn // Blood. –1998. – Vol. 92 (9). – P. 3007-3017.

116. Hashemi, A. A study on prevalence of KPC producing from Klebsiella pneumoniae using modified hodge test and CHROMagar in Iran / A. Hashemi // Annals of biological research. – 2012. – Vol. 3 (12) – P.5659-5664.

117. Herbrecht, R. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis / R. Herbrecht, D.W. Denning, T.F. Patterson et al. // N.Engl.J.Med. – 2002. – Vol.347. – P.408-415.

118. Holfelder, M. Comparative evaluation of selective agar media, MALDI-TOF MS, PCR and phenotypic methods for the detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae 2013 // M. Holfelder, D. Betz, U. Bertsch // - 23rd ECCMID, Berlin. 27-30 April 2013. – P. 681.

119. Hollenbaek, Ch.S. The effect of surgical site infections on outcomes and resource utilization after liver transplantation / Ch.S. Hollenbaek, E.J. Alfrey, W.W. Souba // Surgery. –2001. –Vol. 130. – P. 388-395.

120. Inan, D.// Inf. Control hosp. epidemiol. – 2006. – Vol. 27, N. 4. – P.343–348.

121. Incidence and timing of infections after liver transplant in Italy / P. Piselli, C.Zanfi, V.Corazza [et al.] // Transplant.Proc.Pitout. – 2007. –Vol.39№6. – P.1950-1952.

122. Infection and associated risk factors in the immediate postoperative period of pediatric liver transplantation: a stady of 176 transplantations / S. Garcia, J. Roque, F. Ruza [et al.] // Clin transplant. – 1998. –Vol.12, №3. – P.190-197.

123. Infectious complications in living donor liver transplant recipients: a 9-year single-center experience / Y.J. Kim, S.I.Kim, S.H.Wie [et al.] // Transpl. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 10.№ 5. – P.316-324.

124. Impact of Postoperative Infection on Long-Term Survival After Potentially Curative Resection for Gastric / H. Tsujimoto, T. Ichikura, S. Ono [et al.] // Ann. Surg. Oncol. – 2009. – Vol. 16. – P.311-318.

125. Integron carrying a novel metallo-beta-lactamase gene, blaIMP-16, and a fused form of aminoglycoside-resistant gene aac(6')-30/aac(6')-Ib': report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program / R.E. Mendes, M.A. Toleman, J. Ribeiro [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48, N. 12. – P. 4693–47.

126. Jorgensen, J. M. Controlled clinical laboratory comparison of Bactec Plus Aerobic/F resin medium with Bact/Alert Aerobic FAN medium for detection of bacteremia and fungemia / J. M. Jorgensen // J. Clin.Microbiol. –1997.– Vol.32. – P. 2050-2055.

127. Kawecki, D. Bacteremia in early period after liver transplantation / D. Kawecki, M. Pacholczyk, B. Lagiewska // Experimental and Clinical Hepatology. – 2005. – Vol. 1 № 4. – P.39-44.

128. Leather, H.L. Infections following hematopoetic stem cell transplantation. Infections in the compromised hos t / H.L. Leather, J.R. Wingard // Inf. Dis. Clin. of N Am. – 2001. – Vol. 15(2) – P.487-520.

129. Lessons learned from one hundred right lobe living donor liver transplants / C.M. Lo, S.T. Fan, C.L. Liu [et al.] // Ann. Surg. –2004. – Vol. 240. №1. – P. 151-158.

130. Livermore, D.M. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in Ps. aeruginosa: our worst nightmare? / D.M. Livermore // Clin. Infect. Dis. – 2002. – Vol. 34. – P. 634-640.

131. Lode, H. Management of serious nosocomial bacterial infections: do current therapeutic options meet the need? / H. Lode // Clin Microbiol Infect. – 2005. – Vol. 11 (10). – P. 778–787.

132. Nosocomial Transmission of New Delhi Metallo-β-Lactamase-1- Producing Klebsiella pneumoniae in Toronto, Canada / C.F.Lowe, J.V.Kus, N.Salt [et al.] // Infection control and hospital epidemiology. – 2013. – Vol. 34, № 1. – P.49-55.

133. Mannual of Clinical Microbiology / P. R.Murray [et al.] // Washington D.C:ASM Press . – 1999. – 7-ihed., – P. 46.

134. Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology. Editor: Allan L. Truant. University Hospital and School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania. – 1998. – P.219.

135. McDonald, L.C. Clinical importance of increased sensitivity of Bact/Alert FAN aerobic and anaerobic blood culture bottles / L.C. McDonald //J. Clin.Microbiol. – 1996. – Vol. 34 – P.2180 -2184.

136. Medical microbiology / C. Mims, J. Playfair I. Roit [et al.] // Mosby, Edinburg, 2002. – P. 584.

137. Menagement of multidrug-resistent orgaisms in Healthcare setting. The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee / J.D. Siegel, E. Rhinehart, M. Jackson [et al.] // Centers for Diseases Control and Prevention, USA. – 2006. – P.74.

138. Mueller, A.R. Early postoperative complications following liver transplantation / A.R. Mueller, K.P. Platz, B. Kremer // Best.Pract. Res. Clin.Gastroenterol. – 2004. – Vol. 18.№5. – P. 881–900.

139. Multidrug resistant gram-negative bacilli as predominant bacteremic pathogens in liver transplant recipients / S.H. Shi, H.S.Kong, J. Xu [et al.] // Transpl. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 11. – P.405–412.

140. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard 4th Edition M7-A5 (2002) and M100-S12, 2004. Wayne,PA.

141. Neofytos, D. Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients / D. Neofytos, J.A. Fishman, D. Horn // Transpl Infect Dis. – 2010. – Vol. 12 – P.220–229.

142. Nomoto, K. Prevention of infections by probiotics/ K. Nomoto //J. Bioscience and Bioengineering. – 2005. – Vol. 100. № 6. – P. 582–583.

143. Nordmann, P. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae / P. Nordmann, T.Naas, L. Poirel // Emerg.Infect.Dis. – 2011. – Vol. 17. – P. 1791-1798.

144. Parasuraman, R. Updated principles and clinical caveats in the management of infection in renal transplant recipients / R. Parasuraman, D.Samarapungavan, K.K.Venkat // Transpl Rev. – 2010. – Vol. 24 – P.43–51.

145. PATH ALLIANCE 2004- 2008 г. Neofytos / M. Pfaller, D. Diekema, N. Azie [et al.] // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2012 – Vol. 74(4). – P.323-31.

146. Pfeifer, Y. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens / Y. Pfeifer, A. Cullik, W. Witte // Int J Med Microbiol. – 2010. – Vol. 300(6). – P. 371-379.

147. Pitout, J.D. Extended-spectrum beta- lactamase – producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern / J.D. Pitout, K.B. Laupland // Lancet Infect.Dis. – 2008. –Vol. 8, № 3. – P.159-166.

148. Pohlman, J.K. Controlled clinical evaluation of BACTEC Plus Aerobic/F and Bact/Alert Aerobic FAN bottles for detection of blood-stream infections / J.K. Pohlman // J. Clin.Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P.2856-2858.

149. Poirel, L. Analysis of the resistome of a multidrug-resistant NDM-1-producing Escerichia coli strain by higthroughput genome sequencing / L. Poirel, R.A. Bonnin, P.Nordmann // Antimicrob.Agents Chemother. – 2011. – Vol. 55. – P.4224-4229.

150. Queenan, A.M. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases / A.M. Queenan, K. Bush // Clin.Microbiol.Rev. – 2007. – Vol. 20. – P.440-458.

151. Randall, D. Biofilms and cronic infections / D. Randall, M.D.Wolcott G.D. Ehrich // J. A.M.A. – 2008. – Vol. 299 – P.2682-2684.

152. Randomised clinical trial of symbiotic therapy in elective surgical patients/ A.D. Anderson, C.E. McNaught, P.K.Jain [et al.] // Gut. –2004. –Vol. 53., № 2. – P. 241-245.

153. Randu rapid des resultants en bacteriologie: interets clinique en pratique quotidienne / S. Gabriel, Ph. Repiquet, Ph. Ballerio [et al.] // Laboratoire de Biology Medical, Service de Chirurgie Orthopedique C. H. Princesse J. Clin.Microbiol. –2013. – Vol. 51(1) – P.177.

154. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and typing of genes encoding CTX-M extended-spectrum ß-lactamases / C.I. Birkett, H.A. Ludlam, N. Woodford [et al.] // J Medical Microbiol. – 2007. – Vol.56. – P.52-55.

155. Risk Factors Associated with Surgical Site Infection in Upper and Lower Gastrointestinal Surgery / A. Watanabe, Sh. Kohnoe, R. Shimabukliro [et al.] // Surgery Today. – 2008. – Vol. 38 (5). – P.404-412.

156. Risk Factors for Wound Infection after Surgery for Colorectal Cancer / T. Nakamura, H.Mitomi, A. Ihara [et al.] // World J Surg. – 2008. – Vol. 32– P.1138-1141.

157. Rodloff, A.C. Two decades of imipenem therapy / A.C. Rodloff, E.J.C.Goldstein, A. Torres // J Antimicrob.Chemother. – 2006. – Vol. 58 – P.916-29.

158. Routh, J.C. Increasing prevalence and associated risk factors for methicillin resistant Staphylococcus aureus bacteriuria / J.C. Routh, A.Alt, R.A. Ashley // J. Urol. (Baltimore). – 2009. – Vol. 181(4)1 – P.694-1698.

159. Roy, M.C. Basics of surgical-site infection surveillance / M.C. Roy // Perl Infection Control and Hospital Epidemiology. –1997. – Vol. 18(9). – P.659—668.

160. Schiffman, E.J. Hematologic Pathophysiology / E.J. Schiffman // Lippincott-Raven Publishers Philadelphia-New York. – 2001. – p. 138

161. Schwaber, M.J. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a potential threat / M.J. Schwaber, Y. Carmeli // JAMA. – 2008. – Vol. 300. – p. 2911.

162. Survival strategies of infectious biofilms / C.A. Fux, J.W. Costerton, P.S. Stewart [et al.] // Technol. – 2005. – P.143 -148.

163. The emerging NDM carbapenemases / P. Nordmann, L. Poirel, T.R.Walsh [et al.] // Trends Microbiol. – 2011. – Vol. 19. – pp. 588-595.

164. Tramont, C.E. Innate (general or non-specific) host defense mechanisms / C.E. Tramont, D.L. Hoover // Basic Principles in the Diagnosis and Management of Infectious diseases. Vol.1, 5th ed. Philadelphia: Churchill-Livingstone. – 2000. – 31.

165. Turner, P. MYSTIC: a global overview / P. Turner // J. Antimicrob Chemother – 2000. – P. 9-23.

166. Turner, P. Susceptibility of meropenem and comparators tasted against 30, 634 *Enterobacteriaceae* isolated in the MYSTIC Programme (1997-2003) / P. Turner //

Diag. Microbiol. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 50. – P. 291.

167. Update of the international Banff Schema for Liver Allograft Rejection: An. International Panel: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection / A. Demetris, D. Adams, C. Bellamy [et al.] // Hepatology. –2000. – Vol. 31 (3). – P. 792–799.

168. Urinary tract pathogens and resistance pattern / R. Chakupurakal, M. Ahmed, D.N. Sobithadev i[et al.] // J Clin Pathol. – 2010. – Vol. 63(7). – P. 652-654.

169. Vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in liver transplant candidates and recipients: a prospective surveillance study / S.A. McNeil, P.N. Malani, C.E.Chenoweth [et al.] // Clin Infect Dis. – 2006. – Vol. 15 – P.195–203.

170. Variations in etiology of ventilator-associated pneumonia across four treatment sites: implications for antimicrobial prescribing practices / J. Rello, M. Sa-Borges, H. Correa [et al.] //Am J Respir Crit Care Med. –1999. – Vol. 160 –P.608-13.

171. Variations in the prevalence of strains expessing an extended-spectrum β-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region / P. Winokur, R. Canton, J.M. Callas [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2001. – Vol. 32. – P. 95-103.

172. Weinstein, M.P. Controlled evaluation of Bact/Alert standart aerobic and FAN aerobic blood culture bottles for detection of bacteremia and fungemia / M.P. Weinstein // J. Clin. Microbiol. – 1995.– Vol. 33. – P. 978-981.

173. Wainstein, M. P. Predisposing factors of systemic fungal infections of the genitourinary tract / M. P. Wainstein, R. Graham, M. Resnick // J. Urol. – 1995. – Vol. 154. – P. 160-163.

174. Work-flow analysis and evaluation of the accurancy of VITEK2 versus Walk-A-Way/ Wil. H. F. Goessens, H.J.A Arjen, Van Vliet [et al.] // ESCMID, 1999.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1 – Видовой состав микроорганизмов, выделенных из клинического материала пациентов специализированного хирургического стационара

№ рода	№ вида	Микроорганизмы (род, вид)	Число штаммов	
			Абс.	%
1	2	3	4	5
1		*Escherichia* spp., в том числе:	710	17,60
	1	– *Escherichia coli*	710	17,60
2		*Enterococcus* spp., в том числе:	648	16,07
	2	– *Enterococcus avium*	5	0,12
	3	– *Enterococcus casseliflavus*	4	0,10
	4	– *Enterococcus durans*	4	0,10
	5	– *Enterococcus faecalis*	399	9,89
	6	– *Enterococcus faecium*	203	5,00
	7	– *Enterococcus gallinarum*	19	0,47
	8	– *Enterococcus hirae*	6	0,15
	9	– *Enterococcus raffinosus*	3	0,07
	10	– *Enterococcus sp.*	5	0,12
3		*Staphylococcus* spp., в том числе:	542	13,43
	11	– *Staphylococcus aureus ss. aureus*	124	3,07
	12	– *Staphylococcus auricularis*	6	0,15
	13	– *Staphylococcus capitis ss. capitis*	4	0,10
	14	– *Staphylococcus epidermidis*	185	4,59
	15	– *Staphylococcus equorum*	1	0,02
	16	– *Staphylococcus haemolyticus*	104	2,58
	17	– *Staphylococcus hominis ss. hominis*	34	0,84
	18	– *Staphylococcus intermedius*	5	0,12
	19	– *Staphylococcus saprophyticus*	17	0,42
	20	– *Staphylococcus schleiferi ss. schleiferi*	1	0,02
	21	– *Staphylococcus sciuri ss. sciuri*	11	0,27
	22	– *Staphylococcus simulans*	22	0,55
	23	– *Staphylococcus warneri*	9	0,22
	24	– *Staphylococcus, coagulase negative*	19	0,47
4		*Klebsiella* spp., в том числе:	457	11,33
	25	– *Klebsiella oxytoca*	57	1,41
	26	– *Klebsiella pneumoniae ss. pneumoniae*	400	9,91
5		*Candida* spp., в том числе:	375	9,29
	27	– *Candida albicans*	248	6,14
	28	– *Candida ciferrii*	4	0,10
	29	– *Candida famata*	4	0,10
	30	– *Candida glabrata*	35	0,87
	31	– *Candida guilliermondii*	10	0,25
	32	– *Candida kefyr Candida pseudotropicalis*	2	0,05

1	2	3	4	5
	33	– *Candida krusei*	22	0,55
	34	– *Candida lambica*	5	0,12
	35	– *Candida lipolytica*	1	0,02
	36	– *Candida lusitaniae*	5	0,12
	37	– *Candida parapsilosis*	13	0,32
	38	– *Candida sp.*	18	0,45
	39	– *Candida tropicalis*	8	0,20
6		*Pseudomonas* spp., в том числе:	323	8,00
	40	– *Pseudomonas aeruginosa*	315	7,81
	41	– *Pseudomonas alcaligenes*	1	0,02
	42	– *Pseudomonas fluorescens*	1	0,02
	43	– *Pseudomonas putida*	5	0,12
	44	– *Pseudomonas stutzeri*	1	0,02
7		*Enterobacter* spp., в том числе:	240	5,95
	45	– *Enterobacter aerogenes*	32	0,79
	46	– *Enterobacter asburiae*	5	0,12
	47	– *Enterobacter cloacae*	195	4,84
	48	– *Enterobacter gergoviae*	1	0,02
	49	– *Enterobacter intermedius*	6	0,15
	50	– *Enterobacter (Cronobacter) sakazakii*	1	0,02
8		*Acinetobacter* spp., в том числе:	130	3,22
	51	– *Acinetobacter baumannii*	119	2,95
	52	– *Acinetobacter calcoaceticus*	4	0,10
	53	– *Acinetobacter haemolyticus*	4	0,10
	54	– *Acinetobacter lwoffii*	3	0,07
9		*Streptococcus* spp., в том числе:	90	2,23
	55	– *Streptococcus acidominimus*	1	0,02
	56	– *Streptococcus alactolyticus*	4	0,10
	57	– *Streptococcus anginosus*	3	0,07
	58	– *Streptococcus beta hemolyticus*	1	0,02
	59	– *Streptococcus bovis*	2	0,05
	60	– *Streptococcus constellatus*	4	0,10
	61	– *Streptococcus dysgalactiae*	2	0,05
	62	– *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis*	1	0,02
	63	– *Streptococcus gallolyticus ss. gallolyticus*	11	0,27
	64	– *Streptococcus gordonii*	1	0,02
	65	– *Streptococcus intermedius*	3	0,07
	66	– *Streptococcus mitis*	8	0,20
	67	– *Streptococcus oralis*	3	0,07
	68	– *Streptococcus agalactiae*	37	0,92
	69	– *Streptococcus sanguis*	2	0,05

1	2	3	4	5
	70	– *Streptococcus* spp.	4	0,10
	71	– *Streptococcus uberis*	2	0,05
	72	– *Streptococcus viridans*	1	0,02
10		*Stenotrophomonas* spp., в том числе:	86	2,13
	73	– *Stenotrophomonas (Xantho.) maltophilia*	86	2,13
11		*Proteus* spp., в том числе:	71	1,76
	74	– *Proteus mirabilis*	60	1,49
	75	– *Proteus vulgaris*	11	0,27
12		*Citrobacter* spp., в том числе:	54	1,34
	76	– *Citrobacter amalonaticus*	5	0,12
	77	– *Citrobacter braakii*	5	0,12
	78	– *Citrobacter freundii*	33	0,82
	79	– *Citrobacter koseri (diversus)*	11	0,27
13		*Morganella* spp., в том числе:	53	1,31
	80	– *Morganella morganii ss. morganii*	53	1,31
14		*Kocuria* spp., в том числе:	46	1,14
	81	– *Kocuria kristinae*	43	1,07
	82	– *Kocuria rosea*	3	0,07
15		*Serratia* spp., в том числе:	45	1,12
	83	– *Serratia fonticola*	2	0,05
	84	– *Serratia liquefaciens*	2	0,05
	85	– *Serratia marcescens*	39	0,97
	86	– *Serratia plymuthica*	1	0,02
	87	– *Serratia rubidaea*	1	0,02
16		*Sphingomonas* spp., в том числе:	20	0,50
	88	– *Sphingomonas paucimobilis*	18	0,45
	89	– *Sphingomonas sp.*	2	0,05
17		*Trichosporon* spp., в том числе:	14	0,35
	90	– *Trichosporon asahii*	11	0,27
	91	– *Trichosporon mucoides*	3	0,07
18		*Corynebacterium* spp., в том числе:	12	0,30
	92	– *Corynebacterium aquaticum*	1	0,02
	93	– *Corynebacterium sp.*	9	0,22
	94	– *Corynebacterium xerosis*	2	0,05
19		*Burkholderia* spp., в том числе:	12	0,30
	95	– *Burkholderia cepacia*	12	0,30
20		*Providencia* spp., в том числе:	12	0,30
	96	– *Providencia rettgeri*	10	0,25
	97	– *Providencia stuartii*	2	0,05
21		*Aerococcus* spp., в том числе:	7	0,17
	98	– *Aerococcus urinae*	1	0,02
	99	– *Aerococcus viridans*	6	0,15

1	2	3	4	5
22		*Micrococcus* spp., в том числе:	7	0,17
	100	– *Micrococcus luteus*	7	0,17
23		*Cryptococcus* spp., в том числе:	7	0,17
	101	– *Cryptococcus laurentii*	7	0,17
24		*Leuconostoc* spp., в том числе:	5	0,12
	102	– *Leuconostoc mesenteroides ss. cremoris*	5	0,12
25		*Bacillus* spp., в том числе:	5	0,12
	103	– *Bacillus cereus*	2	0,05
	104	– *Bacillus sp.*	3	0,07
26		*Aeromonas* spp., в том числе:	5	0,12
	105	– *Aeromonas hidrophila*	1	0,02
	106	– *Aeromonas veroni*	3	0,07
	107	– *Aeromonas veronii biovar sobria*	1	0,02
27		*Raoultella* spp., в том числе:	5	0,12
	108	– *Raoultella planticola*	4	0,10
	109	– *Raoultella sp.*	1	0,02
28		*Dermabacter* spp., в том числе:	4	0,10
	110	– *Dermabacter hominis*	4	0,10
29		*Pantoea* spp., в том числе:	4	0,10
	111	– *Pantoea* sp.	4	0,10
30		*Pasteurella* spp., в том числе:	4	0,10
	112	– *Pasteurella multocida*	1	0,02
	113	– *Pasteurella pneumotropica*	3	0,07
31		*Salmonella* spp., в том числе:	4	0,10
	114	– *Salmonella* sp	4	0,10
32		*Propionibacterium* spp., в том числе:	3	0,07
	115	– *Propionibacterium propionicus*	2	0,05
	116	– *Propionibacterium sp*	1	0,02
33		*Hafnia* spp., в том числе:	3	0,07
	117	– *Hafnia alvei*	3	0,07
34		*Alcaligenes* spp., в том числе:	3	0,07
	118	– *Alcaligenes faecalis*	3	0,07
35		*Bacteroides* spp., в том числе:	2	0,05
	119	– *Bacteroides fragilis*	2	0,05
36		*Clostridium* spp., в том числе:	2	0,05
	120	– *Clostridium barati*	1	0,02
	121	– *Clostridium haemolyticum*	1	0,02
37		*Atopobium* spp., в том числе:	2	0,05
	122	– *Atopobium (Strep.) parvulum*	2	0,05
38		*Aspergillus* spp., в том числе:	2	0,05
	123	– *Aspergillus sp.*	2	0,05
39		*Yersinia* spp., в том числе:	2	0,05

1	2	3	4	5
	124	– *Yersinia kristensenii*	2	0,05
40		*Brevundimonas* spp., в том числе:	2	0,05
	125	– *Brevundimonas diminuta*	2	0,05
41		*Rhizobium* spp., в том числе:	2	0,05
	126	– *Rhizobium radiobacter*	2	0,05
42		*Veillonella* spp., в том числе:	1	0,02
	127	– *Veillonella parvula*	1	0,02
43		*Lactococcus* spp., в том числе:	1	0,02
	128	– *Lactococcus garvieae*	1	0,02
44		*Arcanobacterium* spp., в том числе:	1	0,02
	129	– *Arcanobacterium haemoliticum*	1	0,02
45		*Listeria* spp., в том числе:	1	0,02
	130	– *Listeria sp.*	1	0,02
46		*Achromobacter* spp., в том числе:	1	0,02
	131	– *Achromobacter xylosoxidans*	1	0,02
47		*Actinobacillus* spp., в том числе:	1	0,02
	132	– *Actinobacillus urea*	1	0,02
48		*Chryseomonas* spp., в том числе:	1	0,02
	133	– *Chryseomonas luteola*	1	0,02
49		*Sphingobacterium spp*., в том числе:	1	0,02
	134	– *Sphingobacterium thalpophilum*	1	0,02
50		*Ewingella* spp., в том числе:	1	0,02
	135	– *Ewingella americana*	1	0,02
51		*Kluyvera* spp., в том числе:	1	0,02
	136	– *Kluyvera cryocrescens*	1	0,02
52		*Yokenella* spp., в том числе:	1	0,02
	137	– *Yokenella regensburgei*	1	0,02
53		*Malassezia* spp., в том числе:	1	0,02
	138	– *Malassezia furfur*	1	0,02
54		*Torulopsis* spp., в том числе:	1	0,02
	139	– *Torulopsis haemulonii*	1	0,02
		ИТОГО МИКРООРГАНИЗМОВ	4033	100,00