

На правах рукописи

Осипова Наталья Петровна

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ
ПРИ ГНОЙНЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА
(в условиях комбинированной химиотерапии)**

03.00.07 Микробиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Пермь 2004

Работа выполнена на кафедрах микробиологии и общей хирургии Красноярской государственной медицинской академии

Научный руководитель:

кандидат биологических наук, доцент **Перьянова Ольга Владимировна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Горовиц Эдуард Семенович**

кандидат медицинских наук **Увицкий Андрей Юрьевич**

Ведущая организация:

Челябинская государственная медицинская академия

Защита диссертации состоится «25» июня 2004г.

в 12 ч. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 004.019.01 в Институте экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН по адресу: 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13. Факс: (3422) 44 67 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.

Автореферат разослан «25» июня 2004г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
чл.-корр. РАН

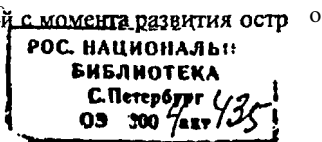
Ившина Ирина Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Проблема инфекционной заболеваемости напрямую связана с загрязнением патогенными и условно-патогенными микроорганизмами окружающей среды и давно уже выходит за рамки здравоохранения [Мамонтова и др., 2000]. Несмотря на достижения научно-технического прогресса и интенсивное продвижение человечества по пути индустриальной цивилизации, заболеваемость инфекционными болезнями не только не снижается, но даже возрастает. Причиной этому являются социальные потрясения, ухудшение экологической обстановки, влияющей на состояние коллективной резистентности населения, появление более устойчивых штаммов микроорганизмов, а также новых, ранее неизвестных возбудителей инфекционных болезней [Воробьев и др., 1997].

Гнойно-воспалительные заболевания продолжают оставаться одной из актуальных проблем современной медицины. Только в области хирургической патологии на их долю приходится 30-35% случаев, то есть одна треть всех больных. Ежегодно регистрируется примерно пять миллионов больных с гнойно-воспалительными заболеваниями, а у 7% умерших в стационаре гнойно-воспалительные заболевания явились основной причиной смерти [Веселое, 1990; Стручков, 1995].

Наиболее тяжелым контингентом больных с острыми воспалительными заболеваниями поджелудочной железы являются пациенты с гнойно-некротическими осложнениями острого панкреатита, летальность при которых не имеет тенденции к снижению и варьирует от 20% до 45% [Савельев и др., 1993; Braadly et al., 1981; Gebhardt, 1984]. Основными причинами летальных исходов при остром панкреатите (деструктивном) являются панкреатогенный шок и полиорганная недостаточность в ранние сроки заболевания и гнойные осложнения в более поздний период [Кубышкин и др., 1989; Гульман и др., 1990; Millat et al, 2001]. Присоединение инфекции при панкреонекрозе резко ухудшает прогноз заболевания и в 1,5-2 раза увеличивает летальность, а среди выживших больных у 73% возникает стойкая утрата трудоспособности. Гнойные осложнения развиваются у 30% больных и диагностируются в сроки от 14 до 36 с момента развития острого панкреатита [Пугаев и др., 1995].



Одним из актуальных направлений исследований в гнойной патологии является расширение и углубление современных представлений об источниках бактериальной контаминации, механизмах реинфицирования, токсинемии и патогенетически обоснованных воздействий на патологический процесс. Принято различать экзогенные и эндогенные источники инфицирования хирургического больного. Ведущую роль в эндогенном инфицировании играет транслокация микроорганизмов желудочно-кишечного тракта, которая может происходить трансперитонеально, гемато-лимфогенным и контактным путем из двенадцатиперстной кишки [Лищенко и др., 1995; Сайтов и др., 1997; Воробьев и др., 1999; Тарасенко 2000]. При экзогенном инфицировании микроорганизмы из внешней среды проникают в зоны некроза через дренажные трубки или тампоны. Этиологическими агентами- гнойно-воспалительных заболеваний чаще являются условно-патогенные микроорганизмы как аэробные, так и анаэробные. Инфекции, вызываемые условно-патогенными бактериями, отличаются от классических отсутствием цикличности процесса, характеризуются затяжным и хроническим течением, нередким длительным носительством инфекционного агента [Покровский, Малеев, 1999]. Успехи в синтезе новых антибиотиков не решили, к сожалению, проблемы лечения гнойных заболеваний. Их широкое применение привело к распространению внутрибольничных инфекций и появлению высоковирулентной антибиотикорезистентной микрофлоры, которая во многом определяет патогенетические особенности течения, клинические проявления и исход гнойно-воспалительного процесса [Фадеева, 1998].

Исследование биоразнообразия микрофлоры, динамики ее изменений в различных средах организма в зависимости от фаз течения острого панкреатита позволяет обосновать патогенетические механизмы развития и лечения гнойных осложнений при остром панкреатите. Прогнозированию характера течения заболеваний бактериальной этиологии способствует изучение комплекса факторов патогенности и персистенции, направленных на инактивацию защитных механизмов макроорганизма и обуславливающих развитие инфекционного процесса [Дерябин и др., 1996].

Цель исследования - изучение биологических особенностей микрофлоры при гнойных осложнениях острого панкреатита в условиях сочетанного применения антибиотиков и гипохлорита натрия.

Задачи исследования:

1. Изучить воздействие гипохлорита натрия и антибиотиков (пенициллина и гентамицина) на рост клинических штаммов *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*.
2. Определить количественный и качественный состав микрофлоры, выделенной от больных с гнойными осложнениями острого панкреатита в условиях использования в комплексной терапии гипохлорита натрия.
3. Исследовать биологические особенности микрофлоры, выделенной от больных с гнойными осложнениями острого панкреатита.
4. Изучить антибиотикочувствительность выделенных культур микроорганизмов.

Научная новизна. Изучено влияние гипохлорита натрия на чувствительность клинических штаммов *E.coli* и *S. aureus* к антибиотикам. Показано, что использование гипохлорита натрия в комплексном лечении больных с гнойными осложнениями острого панкреатита снижает степень микробной обсемененности и приводит к элиминации более вирулентных штаммов возбудителей. Обосновано существенное повышение степени эффективности проводимой терапии больных с гнойными осложнениями острого панкреатита при сочетанном использовании антибиотиков и гипохлорита натрия.

Практическая значимость. Полученные данные свидетельствуют о доминирующей роли грамотрицательных микроорганизмов желудочно-кишечного тракта в развитии гнойных осложнений острого панкреатита. Установлено, что наибольшей активностью по отношению к микрофлоре, выделенной от больных с гнойными осложнениями острого панкреатита, обладают хинолоны II поколения - офлоксацин, ципрофлоксацин; аминогликозиды III поколения - нетилимицин, амикацин; цефалоспорины III поколения - цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, а также карбапенемы.

Основные положения, выносимые на **защиту**.

1. В развитии гнойных осложнений острого панкреатита основную роль играют грамотрицательные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта.

2. С учетом результатов антибиотикочувствительности основных микробных ассоциантов, выделенных от больных с гнойными осложнениями острого панкреатита, эффективными препаратами выбора в лечении больных с деструктивными формами острого панкреатита являются хилолоны II поколения, аминогликозиды III поколения, цефалоспорины III поколения, карбапенемы.

3. Повышение степени эффективности сочетанного использования гипохлорита натрия и антибиотиков связано с увеличением чувствительности микроорганизмов, участвующих в развитии деструктивных форм острого панкреатита, к антимикробным препаратам и элиминацией более вирулентных штаммов.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на VII Всероссийском симпозиуме (с международным участием) «Гомеостаз и окружающая среда», Красноярск, 1997; Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы хирургии», посвященной 130-летию со дня рождения проф.И.И.Напалкова, Ростов-на-Дону, 1998; II Российской научно-практической конференции «Внутрибольничные инфекции - проблемы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики», Москва, 1999; Международной конференции «Антибиотики и антибиотикорезистентность на пороге XXI века», Москва, 2000; X Международном симпозиуме «Концепция гомеостаза: теоретические, экспериментальные и прикладные аспекты», Красноярск, 2000; Научно-практической конференции микробиологов и иммунологов «Актуальные вопросы микробиологии и иммунологии», посвященной 80-летию кафедры микробиологии ИГМУ, Иркутск, 2001; VIII Съезде Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Москва, 2002; I Съезде микологов России «Современная микология в России», Москва, 2002); Конференции молодых ученых и специалистов РФ имени академика Б.С.Гракова, Красноярск, 2003.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 34 печатных работы, из них 15 - в центральной печати, 15 - в местной печати, 4-с международным участием. По результатам исследований оформлено Рационализаторское предложе-

ние «Метод определения интегральной метаболической активности микроорганизмов» №2202 от 30.10.2002, принятое к внедрению в Красноярской государственной медицинской академии.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 11 таблицами, 22 рисунками. Указатель литературы содержит 329 названий, из них 60 зарубежных источников.

Материалы и методы исследования. Для определения совместного действия гипохлорита натрия и антибиотиков на микроорганизмы исследуемые культуры предварительно обрабатывали гипохлоритом натрия, а затем вносили в пробирки с двукратными разведениями антибиотиков. В качестве тест-культур использовались клинические штаммы *E. coli* и *S. aureus*. Для изучения количественного и качественного состава микрофлоры при гнойных осложнениях острого панкреатита у больных, прооперированных по поводу деструктивных форм острого панкреатита, забирали кровь, желчь, содержимое сальниковой сумки, перитонеальный экссудат, содержимое двенадцатиперстной кишки и засеивали на питательные среды, рекомендованные Министерством здравоохранения (Приказ №535 от 22.04.1985 г.) и ВОЗ. Для учета общей численности микроорганизмов исследуемые материалы (за исключением крови) засеивали на плотные питательные среды по методу Gould. При идентификации выделенных культур использовали методы традиционной бактериальной таксономии с учетом морфологических, культуральных, биохимических и антигенных свойств, а также системы индикаторные бумажные (СИБ), энтеротесты 1 и 2 ПО "Lachema" (Чехия) и Арі-системы французской фирмы «bio Merieux».

Изучение чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом и методом Е-тестов. Для контроля определения чувствительности к антибактериальным препаратам использовали референтные штаммы *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853.

При определении биологических особенностей микроорганизмов, выделенных от больных с гнойными осложнениями острого панкреатита, изучали вирулентные (адгезивные свойства, гемолитическая, лизоцимная, цитопатогенная активности) и персистентные (антиинтерфероновая, антикомплементарная и антилизоцимная активности) характеристики. Адгезивные свойства изучали развернутым пробирочным методом [Брилис, 1982]. Для определения гемолитической активности использовали 5% кровяной агар с человеческой и бараньей кровью. Наличие лизоцимной активности у микроорганизмов определяли по подавлению роста лизоцимчувствительной культуры *Micrococcus luteus* ATCC 4698 по методу Nawiger в модификации О.В.Бухарина с соавторами (1994). Цитопатогенную активность микроорганизмов изучали на перевиваемой клеточной культуре Нер-2 [Заторная и др., 1990]. Антикомплементарную активность микроорганизмов определяли чашечным методом с использованием индикаторной культуры *E. coli* 1203, чувствительной к комплементу [Бухарин и др., 1997]. Антиинтерфероновую активность микроорганизмов определяли чашечным методом с использованием тест-культуры *Corynebacterium xerosis* 181, чувствительной к интерферону [Бухарин О.В. и др., 1990]. Антилизоцимную активность микроорганизмов определяли чашечным методом с использованием культуры *M. luteus* ATCC 4698, чувствительной к лизоциму [Бухарин и др., 1994].

Статистическую обработку материалов проводили с использованием пакета компьютерных программ Excel 97 приложения Microsoft office для Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Изучено действие пенициллина, гентамицина, гипохлорита натрия и совместное действие гипохлорита натрия и выше указанных антибиотиков на клинические штаммы *E. coli* и *S. aureus*. Все исследования проводили в трехкратной повторности. Для определения минимальной подавляющей и минимальной бактерицидной концентрации гентамицина для *E. coli* и пенициллина для *S. aureus* готовили двукратные разведения антибиотиков. Пробирка, не содержащая антибиотика, служила контролем роста культуры. В питательную среду, содержащую разведения антибиотиков, вносили 18-часовые культуры *E. coli* и *S. aureus* в кон-

центрации 10^5 КОЕ/мл и инкубировали при 37°C в течение 18-20 ч. Минимальная подавляющая концентрация гентамицина для *E. coli* - 3,13 мкг/мл, пенициллина для *S. aureus* составила 6,25 мкг/мл (табл.1).

Таблица 1.

Минимальная подавляющая концентрация гентамицина для *Escherichia coli* и пенициллина для *Staphylococcus aureus*

Антибиотик		Концентрация антибиотика, мкг/мл												
		200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09	0
<i>S. aureus</i>	Пенициллин	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	Гентамицин	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Примечание. «+» - наличие роста; «-» - отсутствие роста культуры.

Для определения минимальной бактерицидной концентрации антибиотиков из пробирок производили посев на мясопептонный агар по методу Gould и инкубировали в термостате 18-20 ч. По нашим данным, минимальная бактерицидная концентрация гентамицина для *E. coli* составила 3,13 мкг/мл, пенициллина для *S. aureus* - 100 мкг/мл (рис.1,2).

Определение концентрации гипохлорита натрия, при которой происходит угнетение жизнедеятельности культур *K coli* и *S. aureus*, проводили также методом серийных разведений. Готовили двухкратные разведения гипохлорита натрия. Пробирка, без гипохлорита натрия, использовалась в качестве контроля роста культуры.

В первый ряд пробирок с последовательными разведениями гипохлорита натрия вносили взвесь 18-часовой культуры исследуемых микроорганизмов в концентрации 10^5 КОЕ/мл на физиологическом растворе; во второй ряд — взвесь 18-часовой культуры на мясопептонном бульоне в концентрации 10^5 КОЕ/мл.

В стерильные чашки Петри с мясопептонным агаром производили посев из пробирок первого и второго рядов с промежутком 5,10, 15,30 мин. После инкубации при 37°C в течение 18-20 ч по наличию или отсутствию роста определяли ту концентрацию гипохлорита натрия, при которой происходит угнетение роста *E. coli* и *S. aureus*. По нашим результатам, данная концентрация составляет 0,3 мг/л.



Рис. 1. Действие гентамицина (□) и гентамицина в сочетании с гипохлоритом натрия (▨) на *Escherichiacoli*

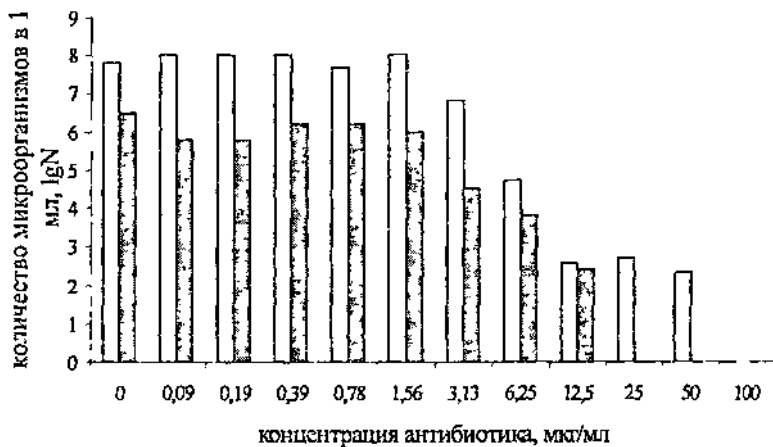


Рис. 2. Действие пенициллина (□) и пенициллина в сочетании с гипохлоритом натрия (▨) на *Staphylococcus aureus*.

Следующим этапом работы являлось изучение совместного действия гипохлорита натрия и антибиотиков на *E coli* и *S aureus*. Разведение антибиотиков

готовили так же, как и ранее, только на 2 ряда. Пробирку без антибиотика и гипохлорита натрия использовали в качестве контроля роста культуры. Культуры микроорганизмов вносили в следующей последовательности: в первый ряд - исследуемые культуры на физиологическом растворе в концентрации 10^5 КОЕ/мл; во второй - исследуемые культуры, предварительно обработанные гипохлоритом натрия в концентрации 0,3 мг/л в течение 10 мин. После инкубации в течение 18-20 ч определяли минимальную подавляющую концентрацию антибиотика по отсутствию видимого роста в среде. Она составляла 1,56 мкг/мл для *E. coli* и *S. aureus* (табл.2).

Таблица 2.

Минимальная подавляющая концентрация гентамицина для *Escherichia coli* и пенициллина для *Staphylococcus aureus* при совместном действии с гипохлоритом натрия

Антибиотик		Концентрация антибиотика, мкг/мл												
		200	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09	0
<i>S. aureus</i>	Пенициллин	•	•	•	•	•	•	•	•	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	Гентамицин	•	•	•	•	•	•	•	•	+	+	+	+	+

Примечание. «+» - наличие роста; «-» - отсутствие роста культуры.

Для определения минимальной бактерицидной концентрации посев производили из пробирок на мясопептонный агар по методу Gould и инкубировали в течение 18-20 ч в термостате. По нашим данным, минимальная бактерицидная концентрация после совместного действия гипохлорита натрия и антибиотика составила: гентамицина для *E. coli* - 3,13 мкг/мл, пенициллина для *S. aureus* - 25 мкг/мл (рис. 1,2).

При обработке данных методом дисперсионного анализа установлено, что совместное действие гипохлорита натрия и антибиотиков и действие каждого в отдельности значимо и достоверно (совместная сила влияния для *S. aureus* равна 0,28, для *E. coli* - 0,37).

Полученные данные свидетельствуют о том, что гипохлорит натрия снижает антибиотикорезистентность, так как минимальная подавляющая концентра-

ция уменьшилась после обработки бактериальных клеток гипохлоритом натрия в 2 раза для *E. coli* и в 4 раза для *S. aureus*.

Нами проведены исследования по определению количественного и качественного состава микрофлоры при гнойных осложнениях острого панкреатита, чувствительности микрофлоры к антибактериальным препаратам. Всего обследовано 66 больных, прооперированных по поводу деструктивных форм острого панкреатита, хирургического отделения и отделения интенсивной терапии городской клинической больницы №7 г.Красноярска за период с 1997 по 2002 г.г. Все обследуемые были разделены на две группы: в первую группу вошли больные, получавшие традиционное лечение; во вторую – больные, получавшие помимо традиционного лечения лаваж сальниковой сумки гипохлоритом натрия и антибиотиками. Всего проанализировано 253 образца и выделено 1457 культур микроорганизмов (957 культур у больных первой группы, 500 культур у больных второй группы).

Из крови выделено 58 культур микроорганизмов: 44 культуры - у больных первой группы и 14 — у больных второй группы. От общего количества микроорганизмов, выделенных в каждой группе больных из различных материалов, это составило 4,6% и 2,8% соответственно.

Нами установлено, что у больных, получавших традиционное лечение, в 42,4% случаев наблюдалась бактериемия, а у больных, получавших помимо традиционного лечения лаваж сальниковой сумки гипохлоритом натрия и антибиотиками, гемокультуры были выделены только в 21,2% случаев.

Гемокультуры, выделенные у больных первой группы, представлены видами - *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, у больных второй группы — *L. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*.

Из желчи было выделено 425 культур микроорганизмов: 266 культур от больных первой группы и 159 — от больных второй группы. От общего количества

микроорганизмов, выделенных в каждой группе больных из различных исследуемых материалов, это составило 27,8% и 31,8% соответственно.

Выделенные культуры в основном грамотрицательными микроорганизмами, которые нами были отнесены к видам: *E. coli*, *A. baumannii*, *Acinetobacter Iwoffii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *E. cloacae*, *Citrobacterfreundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Proteus ntorganii*; грамположительными — *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *Enterococcus faecium*; дрожжеподобными грибами рода *Candida*: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. brumptii*, *C. clausenii*.

Количество микроорганизмов выделенных из желчи у больных первой группы, в 3,32 раза больше, чем таковых у больных второй группы ($1,81 \times 10^7$ КОЕ/мл и $5,46 \times 10^6$ КОЕ/мл, соответственно). Как видно из рис.3, полученные данные статистически достоверны.

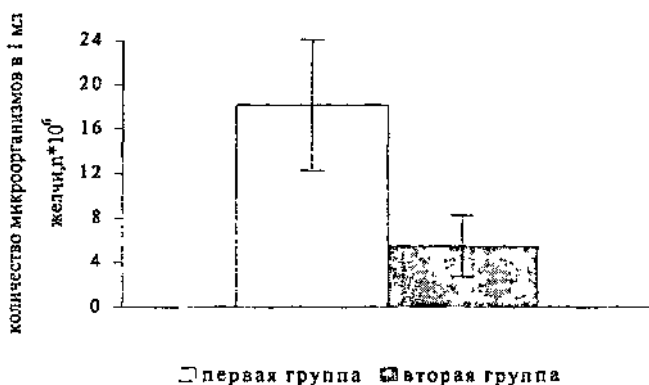


Рис. 3. Количество микроорганизмов в желчи у больных с гнойными осложнениями острого панкреатита.

Нами установлено, что микрофлора желчи больных, получавших традиционное лечение, представлена *E. coli*, *A. baumannii*, *A. Iwoffii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *A. hydrophila*, *A. sobria*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. faecium* и дрожжеподобными

грибами рода *Candida*: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. brumptii*, *C. claussenii*. У больных, получавших помимо традиционного лечения лаваж сальниковой сумки гипохлоритом натрия и антибиотиками, выявлены *E. coli*, *A. baumannii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas salmonicida*, *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Corynebacterium xerosis* и дрожжеподобные грибы рода *Candida*: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. brumptii*.

Из содержимого сальниковой сумки было выделено 360 культур микроорганизмов: 220 культур от больных первой группы и 140 культур от больных второй группы. От общего количества микроорганизмов, выделенных в каждой группе больных из различных исследуемых материалов, это составило 22,98% и 28,0%, соответственно.

Количество микроорганизмов содержимого сальниковой сумки у больных первой группы в 2,9 раза больше, чем таковое у больных второй группы ($1,98 \times 10^7$ КОЕ/мл и $6,83 \times 10^6$ КОЕ/мл, соответственно). Как видно из рис.4, полученные данные статистически достоверны.

Среди микроорганизмов, изолированных из содержимого сальниковой сумки у больных первой группы, обнаружены: *E. coli*, *A. baumannii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Citrobacter inlermedius*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *P. mirabilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *E. faecalis*, *E. faecium* и дрожжеподобные грибы: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*; у больных второй группы — *E. coli*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *P. aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus cohnii*, *E. faecalis*, *C. xerosis*, *Bacillus* spp. и *C. albicans*. Культуры микроорганизмов родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* выделялись в основном из сред накопления и в незначительном количестве.



**Рис. 4. Количество микроорганизмов в содержимом салниковой сум-
ку у больных с гнойными осложнениями острого панкреатита.**

Из перитонеального экссудата нами выделено 245 культур микроорганизмов: 189 культур от больных первой группы и 56 культур микроорганизмов от больных второй группы. От общего числа микроорганизмов, выделенных в каждой группе больных из различных исследуемых материалов, это составило 19,75% и 11,2%, соответственно.

У больных первой группы при исследовании перитонеального экссудата выделены культуры, принадлежащие к *E. coli*, *A. baumannii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *C. intermedius*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. morgani*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *Staphylococcus xylo*, *Staphylococcus warneri*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Bacillus* spp., а также к дрожжеподобным грибам рода *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*; у больных второй группы — *A. baumannii*, *E. cloacae*, *Aeromonas salmonicida*, *P. aeruginosa*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. cohnii*, *C. xerosis*.

Количество микроорганизмов в 1 мл перитонеального экссудата у больных первой группы в 3,76 раза больше, чем у больных второй группы ($1,37 \times 10^7$ КОЕ/мл и $3,64 \times 10^6$ КОЕ/мл, соответственно). Как видно из рис.5, полученные данные статистически достоверны.



Рис. 5. Количество микроорганизмов в перитонеальном экссудате у больных с гнойными осложнениями острого панкреатита.

Из содержимого двенадцатиперстной кишки нами изолировано 369 культур микроорганизмов: 238 культур от больных первой группы и 131 культура от больных второй группы. От общего количества микроорганизмов, выделенных в каждой группе больных из различных исследуемых материалов, это составило 24,87% и 26,2%, соответственно.

Количество микроорганизмов в 1 мл содержимого двенадцатиперстной кишки у больных первой группы в 25,5 раза больше, чем таковое у больных второй группы ($9,69 \times 10^6$ КОЕ/мл и $3,76 \times 10^5$ КОЕ/мл, соответственно). Как видно из рис.6, полученные данные статистически достоверны.

Видовой состав микроорганизмов у больных первой группы представлен *E. coli*, *A. baumannii*, *A. Iwoffii*, *A. faecalis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *A. sobria*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P.morganii*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *C. xerosis*, *Bacillus* spp., *Serratia odorifera* и дрожжеподобными грибами: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. brumptii*, *C. claussenii*; у больных второй группы — *E. coli*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *P. aeruginosa*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. cohnii*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *C. xerosis*, и дрожжеподобными грибами:

C. albicans, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. brumptii*, *C. claussenii*. При этом следует отметить, что в содержимом двенадцатиперстной кишки обнаруживается большее видовое разнообразие дрожжеподобных грибов, чем в других исследуемых материалах.

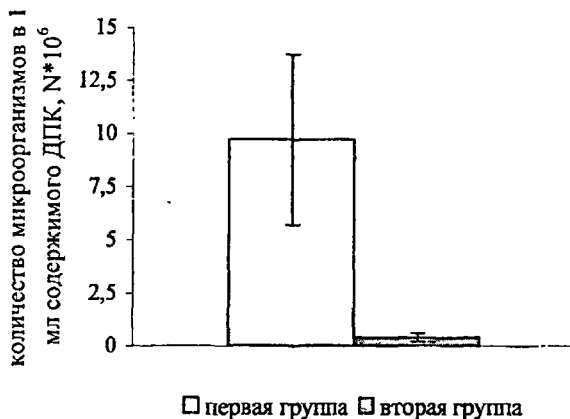


Рис. 6. Количество микроорганизмов в содержимом двенадцатиперстной кишки у больных с гнойными осложнениями острого панкреатита.

В результате проведенных нами исследований установлено, что микрофлора гнойных осложнений острого панкреатита представлена микроорганизмами, принадлежащими к семействам *Enterobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Vibrionaceae*. Следовательно контаминация поджелудочной железы происходит из желудочно-кишечного тракта при нарушении барьерных функций слизистой оболочки кишечника.

В развитии гнойных осложнений чаще всего играют роль ассоциации микроорганизмов, которые были выявлены у 40 больных из 66 обследованных. Причем ассоциации выявлены у 72,2% больных первой группы и у 48,5% больных второй группы. Основные ассоцианты - *A. baumannii* и *E. cloacae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, *E. coli* и *A. baumannii* и *A. Iwoffii*, *P. aeruginosa* и *S. aureus*, *A. hydrophila* и *K. pneumoniae*, *S. maltophilia* и *P. aeruginosa* и другие.

Биологические особенности изучены у 163 клинических штаммов, выделенных у больных с гнойными осложнениями острого панкреатита и принадлежащих к 7 видам микроорганизмов.

Известно, что адгезия микроорганизмов на эпителии является пусковым и наиболее важным этапом в развитии инфекционного процесса. В качестве клеток макроорганизма для изучения адгезивной активности микроорганизмов использовали эритроциты человека, имеющие на своей поверхности гликофорины - вещество идентичное гликокаликсу эпителиальных клеток, на которых расположены рецепторы для адгезинов микроорганизмов. Адгезивные свойства изучали у 163 штаммов, принадлежащих к *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. faecalis*, *E. cloacae*, *C. freundii*. Адгезивные свойства выделенных культур определяли по индексу адгезивности микроорганизмов - среднему количеству микробных клеток на одном, участвующем в адгезивном процессе, эритроците.

По нашим данным, наиболее выраженной адгезивной активностью обладали основные ассоцианты микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита *A. baumannii* (73,3% штаммов) и *P. aeruginosa* (55,9% штаммов), что определяет их участие в развитии гнойного панкреонекроза.

У бактерий видов *K. pneumoniae*, *E. coli* и *A. faecalis* также выявлены адгезивные свойства со средними и высокими значениями (63,2%, 45,8%, 90,9% штаммов, соответственно), но представители данных видов встречаются значительно реже в патологическом материале, что говорит о меньшей роли их в развитии гнойных осложнений острого панкреатита.

Нами установлено, что степень адгезивности штаммов, выделенных от больных, получавших дополнительное лечение гипохлоритом натрия (вторая группа), достоверно снижается по сравнению с адгезивными свойствами микроорганизмов, выделенных от больных, получавших традиционное лечение (первая группа). Снижение адгезивной активности у изученных микроорганизмов с высокого и среднего до низкого уровня адгезии свидетельствует об эффективности проводимого лечения и элиминации гипохлоритом натрия культур с высокой вирулентностью.

Адгезия является свойством, характерным для нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Способность микроорганизмов к адгезии обеспечивает возможность их персистенции в кишечнике. В тоже время при попадании их в ткани поджелудочной железы данное свойство становится фактором вирулентности, обуславливающим возможность участия микроорганизмов в развитии гнойных осложнений острого панкреатита.

Факторы персистенции (антикомплементарную, антиинтерфероновую, антилизоцимную активности) изучали у 163 штаммов микроорганизмов, принадлежащих к *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *A. faecalis* и *C. freundii*. У основного ассоцианта микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита *A. baumannii* обнаружена способность инактивировать неспецифические факторы иммунитета, о чем свидетельствовало наличие антиинтерфероновой (88,7% штаммов), антикомплементарной (100% штаммов) и антилизоцимной (74,2% штаммов) активности.

У других ассоциантов микрофлоры гнойного панкреонекроза также обнаружены способность инактивировать комплемент (у 94,7% штаммов *K. pneumoniae*, 83,3% штаммов *E. coli*, 87,5% штаммов *E. cloacae*, 81,8% штаммов *A. faecalis*, 100% культур *C. freundii*), интерферон (у 94,7% культур *K. pneumoniae*, 91,6% культур *E. coli*, 87,5% культур *E. cloacae*, 81,8% культур *A. faecalis* и 83,3% культур *C. freundii*) и лизоцим (у всех изученных штаммов *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *A. faecalis*, а также у 50% штаммов *E. coli* и 66,7% штаммов *C. freundii*).

В табл.3 представлены результаты изучения антилизоцимной активности у представителей разных видов микроорганизмов. Высокий уровень антилизоцимной активности выявлен только у *A. baumannii* (9,7% штаммов) и *K. pneumoniae* (36,8% штаммов), причем среднее значение признака для *K. pneumoniae* было наиболее высокое и составляло $6,15 \pm 0,56$ мкг/мл, а у представителей *A. baumannii* - в 2 раза меньше и составляло $3,27 \pm 0,28$ мкг/мл.

У культур остальных изучаемых видов выявлен только низкий уровень антилизоцимной активности, и среднее значение данного признака составляло меньше 2 мкг/мл, за исключением *A. faecalis*, у которых обнаруживалась средняя

антилизоцимная активность (27,3% штаммов). При этом среднее значение признака составляло $2,63 \pm 0,45$ мкг/мл.

Таблица 3.

Антилизоцимная активность микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита

Виды микроорганизмов	Диапазон антилизоцимной активности, мкг/мл	Уровни антилизоцимной активности, мкг/мл			Среднее значение антилизоцимной активности ($\bar{x} \pm m$), мкг/мл
		Низкий 1 - 3	Средний 4 - 6	Высокий 7 - 10	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1-8	26 (41,9%)	11 (17,7%)	6 (9,7%)	$3,27 \pm 0,28$
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1-10	3 (15,8%)	9 (47,4%)	7 (36,8%)	$6,15 \pm 0,56$
<i>Escherichia coli</i>	1-3	12 (50%)	0	0	$1,67 \pm 0,11$
<i>Enterobacter cloacae</i>	1-3	8 (100%)	0	0	$1,88 \pm 0,32$
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1-5	8 (72,7%)	3 (27,3%)	0	$2,63 \pm 0,45$
<i>Citrobacter freundii</i>	1-2	4 (66,7%)	0	0	$1,25 \pm 0,22$

Микроорганизмы нормальной микрофлоры кишечника обеспечивают свое пребывание в данном биотопе за счет секреции факторов, инактивирующих защитные механизмы организма человека: антилизоцимной, антикомплемментарной, антиинтерфероновой активностей. Наличие факторов персистенции у представителей нормальной микрофлоры, вероятно, является адаптационным механизмом в условиях усиленного антимикробного прессинга со стороны макроорганизма. Большая распространенность персистентных признаков у изучаемых микроорганизмов, с одной стороны, свидетельствует об их высокой потенции к колонизации биотопа, а с другой - определяет этиологическую роль в возникновении инфекционного процесса в несвойственных для них местах обитания, то есть при транслокации из желудочно-кишечного тракта в другие ткани.

У представителей *P. aeruginosa* нами не обнаружена способность инактивировать защитные факторы иммунитета. Это свидетельствует о том, что данные

штаммы являются госпитальными и попадают в участки панкреонекроза путем гематогенной диссеминации.

Лизоцимная активность не обнаружена у *A. baumannii*, *E. coli*, *C. freundii*. Лизоцимная активность выявлена у 100% изученных штаммов *P. aeruginosa*, 31,6% культур *K. pneumoniae*, 37,5% штаммов *E. cloacae* и 36,4% штаммов *A. faecalis*. Обладая выраженным бактериолигическим действием, лизоцим является фактором, наличие которого даст микроорганизмам преимущество в борьбе за эконишу.

Гемолитическая активность нами выявлена у представителей *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *C. freundii*. Способность разрушать эритроциты человека уже на первые сутки обнаружена у 100% изученных штаммов *P. aeruginosa*. Гемолитическая активность в отношении эритроцитов человека, выявленная на вторые сутки, обнаружена у 31,6% исследованных штаммов *K. pneumoniae*, у 37,5% изученных штаммов *E. cloacae* и у 33,3% штаммов *C. freundii*. Способность лизировать эритроциты барана обнаружена на вторые сутки у 50% исследованных культур *P. aeruginosa* и 27,3% культур *K. pneumoniae*.

Гемолитическую активность в отношении эритроцитов кролика изучали у представителей трех видов: *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. При этом гемолитическая активность обнаружена на первые сутки только у 100% штаммов, принадлежащих к *P. aeruginosa*.

Принимая во внимание цитотоксический характер действия гемолизина, обнаруженных у микроорганизмов, можно ожидать проявление их повреждающего действия на ткани поджелудочной железы, опосредованного тесным контактом гемолизинпродуцирующих бактерий с эпителиальными клетками за счет специфических адгезинов. Цитопатогенное действие на культуру клеток Нер - 2 изучали у трех штаммов каждого вида: *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. В результате проведенных исследований показано, что все изученные штаммы микроорганизмов обладают способностью активно разрушать монослой. При этом процесс протекает более интенсивно под воздействием штаммов *P. aeruginosa*; уже через 6 часов процент разрушения монослоя составляет 60,6% и к 48 часам этот показатель возрастает до 73,2%.

Под воздействием штаммов *A. baumannii* процент разрушения монослоя через 6 часов составляет 54,2% и к 48 часам возрастает до 65,1%, а у *K. pneumoniae* данный показатель несколько ниже и через 6 часов составляет 48,5% и через 48 часов - 57,7%. Полученные данные статистически достоверны ($P < 0,05$).

Нами установлено, что наибольшее количество клеток с морфологическими признаками апоптоза в монослойной культуре Нер - 2, подвергнутой воздействию штаммов *A. baumannii*, отмечается к 24 ч. Причем их количество с 24 до 48 ч снижается с 4,13% до 0,36%. Под воздействием штаммов *P. aeruginosa* количество апоптических клеток снижается с 3,8% (через 6 ч) до 1,6% (через 24 ч).

Апоптические клетки в монослойной культуре Нер - 2 не обнаружены при воздействии *A. baumannii* через 6 часов и *P. aeruginosa* через 48 часов. У *K. pneumoniae* не выявлена способность вызывать апоптоз. Вакуолизированные клетки в монослое Нер — 2 не обнаружены.

В результате проведенных исследований установлено, что штаммы разных видов отличаются по показателям цитопатогенной активности. Выделенные культуры *K. pneumoniae* не форсируют процессы апоптоза, то есть при их воздействии разрушение клеток происходит не за счет индукции запрограммированной клеточной гибели, а, вероятно, за счет прямого токсического действия (некроз) или нарушения адгезии клеток. В то же время штаммы *A. baumannii* проявляют менее выраженную цитопатогенную активность, но заметно форсируют процессы апоптоза. Штаммы *P. aeruginosa* более активно разрушают монослойную культуру Нер - 2, что проявляется в почти полной деструкции монослоя.

Таким образом, нами установлено, что основные ассоцианты микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита обладают цитопатогенной активностью, индуцируя процессы запрограммированной клеточной гибели путем апоптоза и нарушают адгезию клеток к субстрату.

Определение чувствительности изолированных культур показало, что все выделенные штаммы *A. baumannii* чувствительны к имипенему, амикацину и устойчивы к ампициллину, цефотаксиму, цефтриаксону, цефтазидиму, гентамицину, цефуроксиму, ко-амоксиклаву.

Штаммы *A. hwoffii* чувствительны к цефотаксиму, цефуроксиму, имипенему, пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму, ко-амоксиклаву; умеренно устойчивы к цефтриаксону, цефтазидиму и проявляют различную степень чувствительности к другим препаратам.

Все изученные штаммы *E. coli* в 100% случаев чувствительны к цефотаксиму, цефтриаксону, амикацину, цiproфлоксацину, имипенему, пиперациллин/тазобактаму; в 60-86% случаев чувствительны к цефтазидиму, гентамицину, цефуроксиму, пиперациллину, ко-амоксиклаву и в 86% случаев устойчивы к ампициллину.

Из числа изученных антимикробных препаратов *P. aeruginosa* в 100% случаев чувствительны к цефтазидиму, цiproфлоксацину, амикацину и в 100% случаев устойчивы к ампициллину, цефуроксиму, ко-амоксиклаву.

Штаммы *K. pneumoniae* чувствительны к цiproфлоксацину и имипенему в 100% случаев, к цефтазидиму и амикацину в 80%. Все изученные штаммы устойчивы в 100% случаев к ампициллину, в 60-86% к гентамицину, ко-амоксиклаву и пиперациллину.

Из числа изученных антибактериальных препаратов *K. oxytoca* в 100% случаев умеренно устойчивы к ампициллину, к амикацину, цефотаксиму, цефуроксиму, цiproфлоксацину, гентамицину; к имипенему, пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму, ко-амоксиклаву, цефтриаксону, цефтазидиму штаммы в 100% чувствительны.

Штаммы *L. hydrophila* устойчивы к ампициллину, умеренно устойчивы к ко-амоксиклаву, чувствительны к цефтазидиму, гентамицину, амикацину, цiproфлоксацину, цефуроксиму, имипенему, пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму.

Все выделенные штаммы *E. cloacae* чувствительны к амикацину, цiproфлоксацину, гентамицину, имипенему, пиперациллин/тазобактаму, цефтазидиму; 33% штаммов чувствительны к цефотаксиму, пиперациллину, цефтриаксону, ампициллину. Обнаружили устойчивость изученных штаммов к ко-амоксиклаву в 100% случаев; к цефотаксиму, цефуроксиму, пиперациллину, цефтриаксону, ампициллину в 67%.

Штаммы *A. faecalis* чувствительны к имипенему, пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму, ко-амоксиклаву, цефтазидиму. К остальным изученным препаратам выделенные штаммы устойчивы в 100% случаев.

Выделенные штаммы *C. Jreundii* чувствительны только к амикацину, ципрофлоксацину, имипенему, пинерациллин/тазобактаму; к остальным антибактериальным препаратам устойчивы.

Из числа изученных антибактериальных препаратов штаммы *S. aureus* чувствительны к нетилмицину и офлоксацину, умеренно устойчивы к ристомицину. К амикацину и ципрофлоксацину чувствительно только 50% штаммов. К остальным изученным препаратам наблюдается 100%-ная устойчивость.

Штаммы *S. haemolyticus* чувствительны в 100% случаев к нетилмицину, амикацину, офлоксацину, ципрофлоксацину, эритромицину, ристомицину, в 50% к цефазолипу, цефотаксиму, тобрамицину.

Штаммы *S. epidermidis* чувствительны к цефазолину, цефотаксиму, цефтриаксону, нетилмицину, амикацину, офлоксацину, ципрофлоксацину, ристомицину в 100% случаев. Чувствительность к ампициллину, цефоперазону, цефтазидиму, канамицину, тобрамицину, азлоциллину, эритромицину, линкомицину варьирует от 25% до 58% выделенных штаммов.

Выделенные штаммы *E. faecalis* устойчивы к пенициллину, цефазолину, цефотаксиму, цефоперазону, цефтриаксону, цефтазидиму, тобрамицину, нетилмицину, линкомицину, ристомицину и в различной степени чувствительны к офлоксацину, ципрофлоксацину, азлоциллину.

Все дрожжеподобные грибы рода *Candida*, выделенные при изучении микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита, чувствительны к противогрибковым препаратам: нистатину, клотримазолу, амфотерицину В.

Таким образом, из полученных данных видно, что микрофлора гнойных осложнений острого панкреатита чувствительна к амикацину, цефотаксиму, цефуроксиму, ципрофлоксацину, гентамицину, имипенему, пиперациллину, пиперациллин/тазобактаму, ко-амоксиклаву, цефтриаксону, ампициллину, цефтазидиму, нетилмицину, офлоксацину, амикацину, ристомицину, эритромицину.

Выводы

1. Установлено, что обработка клинических штаммов микроорганизмов гипохлоритом натрия в минимальной подавляющей концентрации повышает чувствительность *Escherichia coli* к гентамицину в 2 раза, *Staphylococcus aureus* к пенициллину в 4 раза.

2. Показано, что в развитии гнойных осложнений острого панкреатита основную роль играют ассоциации грамотрицательных микроорганизмов желудочно-кишечного тракта, удельный вес которых составляет более 80%. Наиболее часто ассоциации представлены видами *Acinetobacter baumannn*, *Pseudomonas aeruginisa*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*. Обсемененность исследуемых материалов у больных, получавших помимо традиционного лечения лаваж сальниковой сумки гипохлоритом натрия и антибиотиками, по сравнению с больными, получавшими только традиционное лечение, достоверно снижается в 3 раза.

3. Обнаружено, что микроорганизмы, выделенные при изучении микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита (за исключением *Pseudomonas aeruginosa*) обладают комплексом факторов персистенции, выраженных в разной степени у разных видов. Это отражает их этиологическую роль в возникновении инфекционного процесса при транслокации из желудочно-кишечного тракта. Установлено, что штаммы *Pseudomonas aeruginosa* характеризуются отсутствием персистентных характеристик при четко выраженных вирулентных свойствах. Это свидетельствует об их госпитальном происхождении и гематогенном инфицировании тканей поджелудочной железы.

4. Установлено, что наибольшей активностью по отношению к микрофлоре гнойных осложнений острого панкреатита обладают хинолоны II поколения: офлоксацин, ципрофлоксацин; аминогликозиды III поколения: нетилмицин, амикацин; цефалоспорины III поколения: цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, а также карбапенемы.

Практические рекомендации.

1. По данным проведенного исследования видового состава возбудителей гнойных осложнений острого панкреатита и их чувствительности к антибиотикам для эмпирической антибактериальной терапии рекомендуется использовать хинолоны II поколения: офлоксацин, ципрофлоксацин; аминогликозиды III поколения: нетилмицин, амикацин; цефалоспорины III поколения: цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, а также карбапенемы.

2. На основании изучения действия гипохлорита натрия на чувствительность возбудителей гнойных осложнений острого панкреатита к антибиотикам и на элиминацию возбудителей с более выраженными адгезивными свойствами рекомендуется сочетанное использование антибиотиков и гипохлорита натрия в комплексной терапии больных.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Перьянова О.В., Винник Ю.С., Анишина О.В., Степанова А.И., Осипова Н.П., Якимов С.В., Рогов М.Г. Микрофлора гнойных осложнений острого панкреатита //Современные вопросы функциональной анатомии и хирургической патологии: Тез. докл. конф. молодых ученых КрасГМА. - Красноярск, 1997. - С. 33-35.
2. Осипова Н.П., Перьянова О.В., Якимов С.В. Изучение совместного действия антибиотиков и гипохлорита натрия на микроорганизмы //Сб. трудов Студенческой междунар. научно-практ. конф., посвященной 100-летию И.И. Гитelsona. - Красноярск, 1997. - С. 75.
3. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Картель С.И., Осипова Н.П., Вахрунин А.А., Фаттахов В.Л., Петрушко С.И. Повышение эффективности антибиотикотерапии при сочетанном применении с гипохлоритом натрия //Гомеостаз и окружающая среда: Мат. VII Всерос. симп. (с международным участием). - Красноярск, 1997. - С. 56-58.
4. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П. Выделение аэромонад при гнойном панкреонекрозе //Бюллетень лабораторной службы (Красноярск). - 1998, № 5. - С. 41-43.
5. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Черданцев Д.В., Вахрунин А.А. Исследование состава микрофлоры при панкреонекрозе // Сб. науч. трудов Всерос. науч. конф. «Актуальные проблемы хирургии», посвященной 130-летию со дня рождения профессора Напалкова Н.И. - Ростов-на-Дону, 1998.-С. 141.
6. Осипова Н.П., Анишина О.В., Степанова А.И. Микрофлора гнойных осложнений острого панкреатита //Сб. трудов 62-ой Студенческой научно-практ. конф. - Красноярск, 1998. - С. 23.

7. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Черданцев Д.В., Фаттахов В.Л., Картель С.И. Сочетанное применение гипохлорита натрия и антибиотиков в лечении и профилактике гнойных осложнений острого панкреатита //Юбилейный сборник научных трудов педиатрического факультета. - Красноярск, 1998. - С 174-178.
8. Вшик Ю.С, Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Черданцев Д.В. Особенности состава микрофлоры при гнойных осложнениях острого панкреатита //Гомеостаз и инфекционный процесс. - Саратов, 1998. - С 53-54.
9. Анишина О.В., Степанова А.И., Осипова Н.П., Борзых Ю.А., Тепляков Е.Ю. К вопросу об этиопатогенезе, способах лечения гнойных осложнений острого панкреатита //В кн.: Молодежь и наука — третье тысячелетие. - Красноярск, 1998. - С 3-4.
- Ю.Перьянова О.В., Якимов С.В., Степанова А.И., Осипова Н.П., Анишина О.В., Тепляков Е.Ю. Биологические особенности микрофлоры при развитии пьюно-воспалительных процессов //Актуальные вопросы хирургии и педиатрии: Тез.1 междунар. конф. и молодых ученых, посвященная памяти академика Б.С.Гракова. - Красноярск, 1998. - С 35-36.
- 11.Анишина О.В., Степанова А.И., Осипова Н.П., Тепляков Е.Ю. Роль биологических особенностей грамотрицательной микрофлоры в патогенезе гнойных осложнений острого панкреатита //Сб. науч. работ 63-ей Междунар. итоговой студенческой научно.-практ. конф. КрасГМА. - Красноярск, 1999. - С 15-17.
- 12.Осипова Н.П. Дрожжеподобные грибы при гнойных осложнениях острого панкреатита //Там же. - С 225-226.
- 13.Осипова Н.П., Анишина О.В., Тепляков Е.Ю., Степанова А.И. Антибиотикотерапия в сочетанном лечении больных острым деструктивным панкреатитом //Там же. - С 227-228.
- 14.Осипова Н.П., Анишина О.В., Степанова А.И., Тепляков Е.Ю. Факторы вирулентности и персистенции грамотрицательных микроорганизмов, выделенных у больных с панкреонекрозом //В кн.: Молодежь и наука - третье тысячелетие. - Красноярск, 1999. - С. 28.
- 15.Винник Ю.С, Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Анишина О.В. Состав, биологические свойства микрофлоры при деструктивных формах острого панкреатита /Тез. докл. II Российской научно-практ. конф. «Внутрибольничные инфекции - проблемы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики». - Москва, 1999. - С. 45-46.
- 16.Перьянова О.В., Винник Ю.С, Осипова Н.П., Якимов С.В., Анишина О.В. Выделение псевдомонад при панкреонекрозе //Там же. - С 52-53.
- 17.Винник Ю.С, Перьянова О.В., Осипова Н.П., Анишина О.В., Тепляков Е.Ю. Особенности биологических свойств микроорганизмов, полученных у больных с панкреонекрозом //Сибирский медицинский журнал. - 1999. - № 4. - С 24-26.
- 18.Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Борзых Ю.А., Анишина О.В., Степанова А.И. Чувствительность к антимикробным препаратам микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.- 2000. -№ 2. - С. 31-32.

19. Анишина О.В., Осипова Н.П., Карапетян Г.Э., Евдокименко В.В. Сочетанное применение озонированного физиологического раствора и антибиотиков в лечении и профилактике гнойных осложнений острого панкреатита //Сб. тез. 64-й итоговой Студенческой научно-практ. конф. с международным участием. - Красноярск, 2000. - С. 10-12.
20. Анишина О.В., Осипова Н.П., Степанова А.И. Применение озонотерапии в деконтаминации желудочно-кишечного тракта у больных с деструктивным панкреатитом//Там же. - С. 13-15.
21. Якимов С.В., Анишина О.В., Осипова Н.П. Исследование видового состава и биологических свойств микрофлоры у больных с деструктивным панкреатитом //Матер. 57 итогов, науч. конф. студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины». - Хабаровск, 2000. - С. 15-16.
22. Гульман М.И., Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Анишина О.В., Осипова Н.П. Выделение псевдомонад при панкреонекрозе //Сб. науч. трудов «Актуальные вопросы охраны здоровья населения», посвященный 5-летию Красноярского отделения Российской медицинской ассоциации. - Красноярск, 2000. - С. 332-333.
23. Перьянова О.В., Осипова Н.П., Якимов С.В., Анишина О.В., Степанова А.И. Микрофлора гнойных осложнений острого панкреатита //В кн.: Актуальные вопросы микробиологии и иммунологии. - Иркутск, 2000. — С. 44-46.
24. Гульман М.И., Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Осипова Н.П., Анишина О.В. Особенности этиопатогенеза, лечения деструктивных форм панкреатита //Коррекция гомеостаза организма при экстремальных состояниях: Сб. науч. тр. - Новосибирск, 2000. - С. 179-199.
25. Якимов С.В., Мальцева О.Е., Осипова Н.П., Анишина О.В., Карапетян Г.Э. Применение озонотерапии в деконтаминации ЖКТ у больных с панкреонекрозом //Мат. XXXV юбилейной межвузовской науч. конференции «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины». -- Тюмень, 2001. - С. 136-137.
26. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Анишина О.В., Осипова Н.П., Дунаевская С.С. Применение озонотерапии в деконтаминации ЖКТ больных деструктивным панкреатитом //Мат. II Междунар. научно-практ. конф. «Здоровье и образование в XXI веке». - Москва, 2001. - С. 55-56.
27. Анишина О.В., Мальцева О.Е., Осипова Н.П., Карапетян Г.Э. Применение озонотерапии в деконтаминации кишечника у больных панкреонекрозом //Вестник российского государственного медицинского университета. - 2001, №2(17). - С. 33-34.
28. Мальцева О.Е., Анишина О.В., Осипова Н.П., Якимов С.В., Карапетян Г.Э. Состояние микроэкологии брюшной полости и желудочно-кишечного тракта у больных деструктивным панкреатитом //Здравоохранение Башкортостана. - 2001.-№ 8. - С. 153-155.
29. Перьянова О.В., Осипова Н.П., Анишина О.В. Чувствительность к антимикробным препаратам микрофлоры гнойных осложнений острого панкреатита //Мат. VIII съезда всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. - Москва, 2002. - Т.4. - С. 109-110.

30. Перьянова О.В., Осипова Н.П. Дрожжеподобные грибы при гнойных осложнениях острого панкреатита //Тез. докладов 1 Съезда микологов России «Современная микология в России». - Москва, 2002. - С. 370-371.
31. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Мальцева О.Е., Анишина О.В., Осипова Н.П., Карапетян Г.Э. Применение озонотерапии в дсзонтаминации ЖКТ у больных панкреонекрозом //В кн.:Новые технологии медицины: коррекция гомеостаза: Мат. X Междунар. симп. «Концепция гомеостаза: теоретические, экспериментальные и прикладные аспекты». - Новосибирск: Наука, 2002. - С. 37-39.
32. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Мальцева О.Е., Анишина О.В., Осипова Н.П., Карапетян Г.Э. Энтеральная озонотерапия в деконтаминации ЖКТ у больных с панкреонекрозом //Сб. работ научно-практ. ежегодной конф. ассоциации хирургов Санкт-Петербурга. - Санкт-Петербург, 2002. - С. 65-67.
- 33-Якимов С.В., Мальцева О.Е., Анишина О.В., Осипова Н.П. Состояние микроэкологии ЖКТ и брюшной полости у больных панкреонекрозом в динамике заболевания //В кн.: Актуальные вопросы медицины и новые технологии: Сб. науч. статей молодых ученых и специалистов Российской Федерации, посвященный конференции им. академика Б.СГракова. - Красноярск, 2003. - С. 36-37.
34. Винник Ю.С., Гульман М.И., Перьянова О.В., Анишина О.В., Осипова Н.П., Якимов С.В., Белецкий И.И. Применение озонотерапии в деконтаминации желудочно-кишечного тракта у больных с панкреонекрозом //В кн.: Коррекция гомеостаза при остром панкреатите методом озонотерапии. - Красноярск, 2003.-Гл. 4. - С 78-122.



Отпечатано в типографии ООО «Аспазия»

Заказ № 85, количество 130 экз.

Подписано в печать 25.05.2004 г.

660025, г. Красноярск, ул. Семафорная, 321
тел. 8(3912) 65-48-89

№ 10866