

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

© 2006 А.В. Москалев¹, С.Д. Колпакова, Г.А. Колпакова²

В работе описан метод фотометрического контроля эффективности антибактериальной терапии в реальном режиме времени, который позволяет в кратчайшие сроки (4–6 ч) подобрать рациональную схему лечения больного с гнойно-воспалительными заболеваниями.

Введение

Эффективность мероприятий по экстренной профилактике и лечению многих инфекционных заболеваний во многом зависит от обоснованного и своевременного выбора оптимального лекарственного средства. Этот выбор осуществляется, прежде всего, на основании определения чувствительности выделенного возбудителя инфекции к антибиотикам и химиопрепаратам.

Большинство микробиологических исследований с целью изучения свойств микроорганизмов, в том числе и антибиотикочувствительности, длится достаточно длительное время (72 и более часов), в течение которого выделенные из организма культуры поддерживаются на искусственных питательных средах [1–3]. Этого времени вполне достаточно для появления индуцированных мутаций по таким признакам, например, как изменение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, возникающая в результате замедления процесса размножения, изменения рибосом, возникновения новой энзимной цепи для определенного процесса, связанного с изменением условий существования и т.д. Именно этим можно объяснить часто встречающееся несоответствие антибиотикочувствительности, получаемой *in vitro* и наблюдаемой *in vivo*. Поэтому контроль эффективности антибактериальной терапии приобретает особо важное клинико-диагностическое значение.

В связи с этим для практической медицины предлагается фотометрический метод контроля эффективности антибактериальной терапии в реальном режиме времени.

1. Материалы и методы

Для исследования использовали свежевыделенные из организма больного с раневым гнойно-воспалительным процессом (ГВП) культуры: *Escherichia coli*,

¹Москалев Александр Витальевич, кафедра микробиологии Санкт-Петербургской Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6.

²Колпакова Светлана Дмитриевна, Колпакова Галина Анатольевна, кафедра общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии Самарского государственного медицинского университета, 443090, Россия, г. Самара, ул. Гагарина, 18.

Staphylococcus saprophyticus, *Streptococcus pyogenes*, а также биоматериал (раневое отделяемое).

В качестве антибактериальных препаратов использовали ампициллин и гентамицин.

Динамика развития исследуемой культуры изучалась с помощью фотометра с горизонтальным прохождением света КФК-2МП (ОАО "ЛОМО", г. Санкт-Петербург). Перед исследованием материнскую тест-культуру выращивали в 5 мл мясопептонного бульона $\text{pH } 7,3 \pm 0,2$ при 37°C в течение 24 ч. Клетки отделяли от питательной среды центрифугированием, пятикратно отмывали в физиологическом растворе при $\text{pH } 7,3 \pm 0,2$ от продуктов жизнедеятельности [4]. Из отмытой культуры готовили взвесь в физиологическом растворе $\text{pH } 7,3 \pm 0,2$ в объеме 5 мл, которую использовали в качестве инокулята.

Взвесь инокулята готовилась непосредственно перед проведением эксперимента с целью наибольшей сохранности постоянства биофизических характеристик бактериальных клеток.

Перед исследованием тест-культур проводился подбор кювет и светофильтров фотометра. Контрольную и опытную кюветы заполняли мясопептонным бульоном $\text{pH } 7,3 \pm 0,2$ до метки на боковой поверхности, помещали в кюветное отделение фотометра. В контрольную кювету вносили взвесь инокулята или биоматериал в объеме 0,2 мл на поверхность питательной среды. В опытную кювету вносили антибактериальный препарат в различных дозах и взвесь инокулята или биоматериал в объеме 0,2 мл. Измерение динамики развития бактериальной популяции производилось в реальном режиме времени, т.е. каждые 5 с при длине волны светового потока 540 нм, при температуре 30°C .

2. Результаты и обсуждение

На 11 больных с ГВП в послеоперационном периоде был апробирован метод фотометрического контроля эффективности антибактериальной терапии, который позволяет оценить действие химиотерапевтического препарата как на отдельные штаммы, так и на ассоциации микроорганизмов. При этом время ответа составляет 4–6 часов, тогда как стандартные микробиологические методы дают результат либо на завершающем этапе лечения, либо накануне выписки (в среднем через 6–7 дней). Приводим клинический пример.

Больная М., 1930 г.р., находилась на лечении с диагнозом: "Послеоперационная гигантская переднебоковая вентральная грыжа; сахарный диабет II типа, легкая форма; ИБС; стенокардия напряжения, 2 функциональный класс, H_{II}A ; атеросклероз аорты и ее ветвей; гипертоническая болезнь II стадии; хронический катаральный необструктивный бронхит; диффузный пневмосклероз, ДН₀; гидронефроз обеих почек, ХПН_I".

В марте 1999 года больная перенесла аппендэктомию. В мае 1999 г. появилась послеоперационная грыжа, которая достигла гигантских размеров.

После предоперационной подготовки больной 15.02.2002 г. выполнена операция: грыжесечение, пластика ПВГ комбинированным способом с использованием полипропиленового трансплантата размером 290×200 мм.

После операции назначена антибиотикотерапия (ампициллин по 1,0 г 3 раза в сутки). Динамика раневого отделяемого по дренажам в послеоперационном периоде представлена в таблице.

Таблица

Количество и характер раневого отделяемого у больной М.

Сутки	Дата	Количество экссудата, мл	Характер экссудата
1	16.02.02	100	Геморрагический
2	17.02.02	60	Геморрагический
3	18.02.02	100	Серозно-геморрагический
4	19.02.02	50	Серозно-геморрагический
5	20.02.02	40	Серозно-геморрагический
6	21.02.02	50	Серозный
7	22.02.02	40	Серозно-мутный
8	23.02.02	50	Серозно-мутный
9	24.02.02	60	Серозно-мутный с фибрином
10	25.02.02	70	Серозно-мутный с фибрином
11	26.02.02	50	Серозно-мутный
12	27.02.02	40	Серозно-мутный
13	28.02.02	50	Серозный
14	01.03.02	40	Серозный
15	02.03.02	20	Серозно-светлый

Раневое отделяемое к 7 суткам сохранялось, при этом изменился его характер, свидетельствующий о его инфицировании. При микробиологическом исследовании из раневого отделяемого выделены три вида возбудителей: *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes* и определена их чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом (ответ получен на 5 сутки).

Параллельно со стандартным исследованием был использован метод фотометрического контроля. На рис. 1 представлена кривая динамики роста ассоциации бактерий (*Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*), находящихся в составе раневого отделяемого, в присутствии ампициллина.

Кривая отражает изменения оптической плотности в опытной и контрольной кюветах во времени. Несмотря на добавление ампициллина в дозе 12,5 мкг/мл питательной среды в точке, равной оптической плотности опытного раствора 0,06, рост бактерий не прекратился, о чем свидетельствует повышение оптической плотности. Подсчет достоверности изучаемых параметров показал наличие сильной положительной корреляционной связи (коэффициент корреляции 0,9) в фазу логарифмического роста, что подтверждает одинаковые начальные условия в опытной и контрольной кюветах. Однако сохранение такой связи на прежнем уровне или снижение ее до умеренного после внесения ампициллина в опытную кювету (коэффициент корреляции 0,7) подтверждают отсутствие снижения оптической плотности, а следовательно, и отсутствие действия ампициллина на изучаемую смесь бактерий.

На рис. 2 приведена кривая динамики роста смеси бактерий в составе раневого отделяемого в присутствии гентамицина. Результат исследования, представленный в виде аналогичной кривой, показывает, что после добавления гентамицина в дозе 8 мкг/мл питательной среды на растущую смесь бактерий в точке, равной оптической плотности 0,12, оптическая плотность в опытной кювете начала снижаться и через 1 ч 50 мин популяции бактерий прекратили свое развитие.

С учетом полученных результатов к лечению больной М был добавлен гентами-

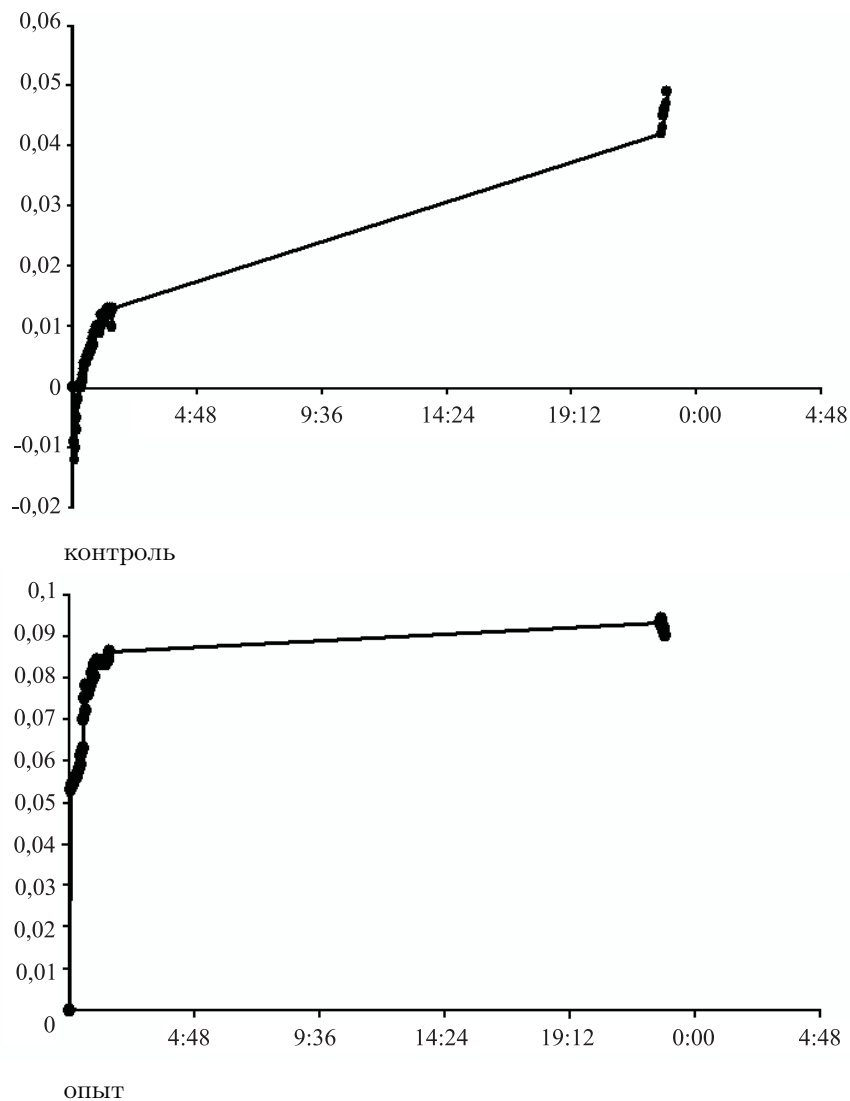
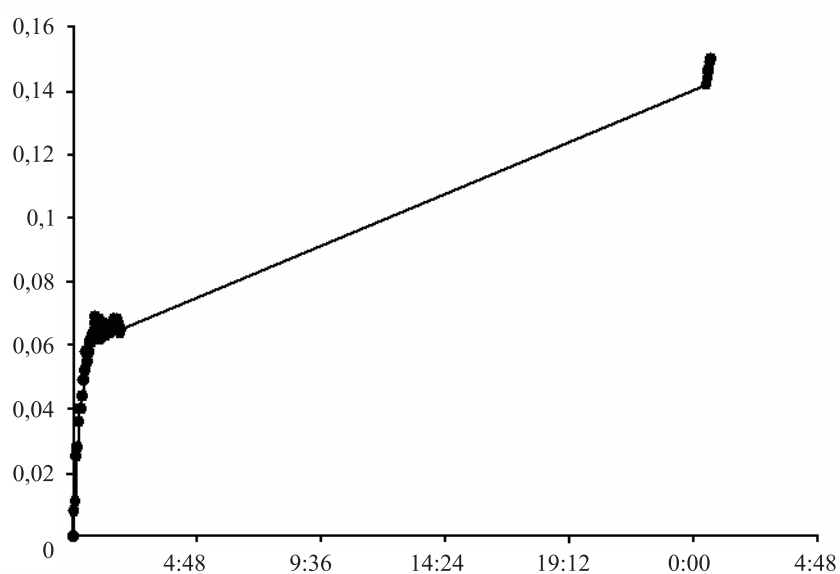


Рис. 1. Диаграмма действия ампициллина на смесь бактерий в составе раневого отделяемого. По оси абсцисс — время (в ч.), по оси ординат — оптическая плотность (в усл. ед.)

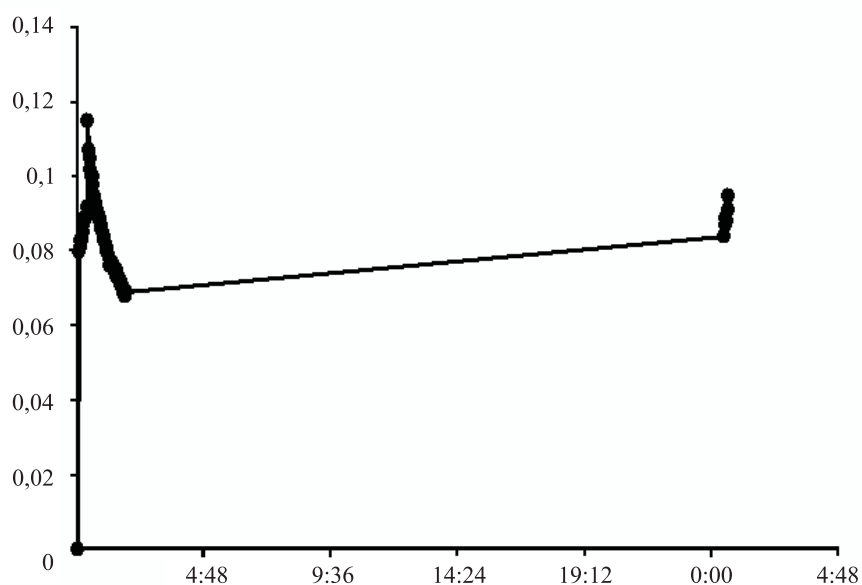
цин в дозе 80 мг 3 раза в день внутримышечно, что способствовало купированию раневого осложнения.

Больная М. выписана с выздоровлением на 18 сутки после операции. При УЗИ-контроле — патологии не обнаружено. При контрольном осмотре в 2002 году рецидива грыжи не выявлено.

Таким образом, фотометрический метод позволяет оценить эффективность антибактериальной терапии не только в отношении отдельных штаммов, но и в отношении ассоциации микроорганизмов в кратчайшие сроки, а потому может быть использован в качестве метода для подбора рациональной схемы лечения больного и контроля эффективности антибактериальной терапии.



контроль



опыт

Рис. 2. Диаграмма действия гентамицина на смесь бактерий, в составе раневого отделяемого. По оси абсцисс — время (в ч.), по оси ординат — оптическая плотность (в усл. ед.)

Литература

- [1] Дьяков, С.И. Современные методы и средства быстрого определения чувствительности возбудителей опасных инфекционных заболеваний к антибиотикам и химиопрепаратам / С.И. Дьяков, И.К. Лебедева, С.В. Сидоренко // Воен.-мед. журн. 1996. Т. 317, №3. С. 44–47.
- [2] Практические аспекты современной клинической микробиологии / Л.З. Скала [и др.] М.: ТОО "Лабинформ", 1997. 184 с.
- [3] Ушаков, Р.В. Этиология и этиотропная терапия неспецифических инфекций в стоматологии / Р.В. Ушаков, В.Н. Царев. Иркутск, 1997. С. 5–29.
- [4] Воздействие неоднородного электрического поля на бактериальные суспензии / В.М. Фомченков [и др.] // Электронная обработка материалов. 1982. №6. С. 68–73.

Поступила в редакцию 17/IV/2006;
в окончательном варианте — 17/IV/2006.

THE PHOTOMETRIC METHOD FOR ANTIBACTERIAL THERAPY EFFICIENCY CONTROL

© 2006 A.V. Moskalev³ S.D. Kolpackova, G.A. Kolpackova⁴

In the present paper the method of photometric control of antibacterial therapy efficiency in the real mode, which allow us at the earliest possible stage (4–6 hours) to determine rational treatment scheme for patient suffering from pyoinflammatory diseases is discussed.

Paper received 17/IV/2006.

Paper accepted 17/IV/2006.

³Moskalev Alexander Vital'evich, Russian Medical Military Academy, Saint Petersburg, 194044, Russia.

⁴Kolpackova Svetlana Dmitrievna, Kolpackova Galina Anatolievna, Dept. of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University, Samara, 443099, Russia.