

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА В ГОМЕЛЬСКОМ РЕГИОНЕ

Ядченко Е.С., Ситников В.П., Шляга И.Д.

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»*

*Кафедра оториноларингологии с курсом офтальмологии*

**Введение.** Результаты систематической оценки чувствительности культур микроорганизмов к антимикробным средствам является неоценимым фактическим материалом для определения уровня приобретенной резистентности возбудителей, циркулирующих в том или ином географическом регионе, а также в определенном стационаре, что позволяет оптимизировать схемы эмпирической стартовой антимикробной терапии, а также выявлять новые гены резистентности [1, 2, 3, 4]. Мониторинг антибиотикорезистентности показывает смену устойчивости возбудителей к антибиотикам, широко используемым в медицинской практике [5, 6]. Использовать зарубежные данные для разработки региональных рекомендаций не всегда возможно, так как существует доказанная высокая вероятность колебаний резистентности в разных регионах [7, 8, 9]. Это диктует необходимость учета региональных особенностей видового состава возбудителей, изучения их резистентности к антибактериальным препаратам. Поскольку резистентность микроорганизмов неизбежна, рациональное использование противомикробных средств становится основным направлением в современных условиях [10, 11]. Изучение структуры микробиоты и ее чувствительности к современным противомикробным препаратам у пациентов, страдающих хроническим гнойным средним отитом (ХГСО), разработка режимов применения этих препаратов на основании клинкомикробиологических данных является одной из актуальных проблем современной оториноларингологии. Поскольку в последнее время нередко встречается смешанная (бактериально-грибковая) биота со стороны уха, очень важным является подбор комбинации нескольких лекарственных средств с учетом вида возбудителей и их чувствительности. При продолжительном течении заболевания, и особенно при длительном местном и (или) общем применении антибиотиков, кортикостероидов, а также у пациентов с выраженной сопутствующей патологией нередко подтверждается грибковая инфекция, вызванная дрожжеподобными и плесневыми грибами, способствующая ухудшению процесса [12, 13, 14, 15]. Выявление и лечение микотической инфекции является наиболее перспективным направлением в решении проблемы отомикоза послеоперационной полости, особенно на этапе предоперационной подготовки, что способствует предотвращению осложнений, вызванных микромицетами, в том числе и при разных вариантах тимпанопластики.

**Цель** настоящей работы – изучение спектра микробиоты, поддерживающей воспалительный процесс в полостях среднего уха у

пациентов, страдающих ХГСО, и определение ее чувствительности к противомикробным препаратам.

**Материал и методы.** Исследования проводились на базе группы бактериологических исследований клинико-диагностической лаборатории ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека» г. Гомеля в течение 2008–2011 гг. Для идентификации, определения чувствительности и анализа полученных данных использовали диагностические системы микробиологического анализатора miniAPI фирмы bioMérieux (Франция).

С целью выявления специфического возбудителя ХГСО использовали следующие методы: бактериоскопический (микроскопия нативного и окрашенного препарата), бактериологическое (культуральное) исследование – посев на общепринятые питательные среды. Также проводилось целенаправленное микробиологическое исследование патологического ушного отделяемого, которое включало микроскопию нативного и окрашенного препаратов по Граму с дополнительным посевом на хромогенную среду Сабуро.

Материалом для микробиологического исследования служило ушное отделяемое из барабанной полости и антрума, а также стенок наружного слухового прохода (НСП).

Забор материала для микроскопии производился стерильной ложкой Фолькмана путем легкого соскоба слизистой оболочки стенок барабанной и послеоперационной полостей, или стерильной ватой, фиксированной на металлическом зонде. Полученное содержимое тонким слоем наносили на предметное стекло и высушивали на воздухе, после чего фиксированный мазок окрашивали по Граму. Микроскопию мазков проводили при увеличениях  $\times 100$  и  $\times 400$ . Бактериологический (культуральный) метод применялся с целью определения следующих возбудителей: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*; анаэробов: (*Bacteroides*, *Peptostreptococcus*); грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Mucor* и определения их чувствительности к антибиотикам и антимикотикам. Взятие материала с поверхности кожи НСП, из барабанной и послеоперационной полостей, антрума производилось тонким ватным тампоном с последующим его помещением в пробирку с транспортной угольной средой Амиеса (Nema-Medica, Индия), где материал хранился не более 2-х часов. В дальнейшем проводился посев биологического материала на специальные твердые и жидкие питательные среды производственного изготовления (bioMérieux, Франция). Идентификация полученных культур основывалась на изучении морфологических признаков при микроскопии, биохимических признаков (цветные реакции – изменение цвета питательной среды с добавлением индикатора) и внешнего вида выросших колоний. Кроме того, проводилась оценка количественных показателей – степени обсемененности (число колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл). Степень обсемененности, при которой определяли  $\geq 10^5$  КОЕ/мл, считали признаком инфекции. Культуры, не имеющие клинического значения, исключались. Для идентификации

применялись планшеты (стрипы), содержащие дегидрированные биохимические субстраты (от 16 до 32 тестов). При определении чувствительности к антибиотикам использовались стандартные диски. Определение чувствительности к противогрибковым препаратам (амфотерицину В, флуконазолу, итраконазолу и вориконазолу) проводилось на стрипах (ATB FUNGUS-3) (bioMerieux, Франция) в полужидкой среде, адаптированной к требованиям стандартного метода разведений Института клинических лабораторных стандартов (CLSI) – NCCLS M-44, (США). Для контроля качества определения чувствительности использовались контрольные штаммы американской коллекции микроорганизмов (ATCC). Преимуществом культурального метода является возможность определения чувствительности и резистентности возбудителей к химиопрепаратам, а также использование его с целью контроля эффективности антибактериальной и антимикотической терапии, так как рост дает только живая микро- и микобиота.

Микробиологическое обследование пациентов проводилось до лечения. У части пациентов в середине лечения (5-7-й день) проводили повторное исследование. После лечения (через 10–14 дней после начала лечения) выполняли контрольную отомикроскопию с исследованием ушного отделяемого с целью определения эффективности проведенного лечения.

**Результаты и обсуждение.** Бактериологическое исследование ушного отделяемого проведено у 138 пациентов (73 мужчин (52,9%), 65 женщин (47,1%)) в возрасте от 12 до 79 лет, страдающих ХГСО.

Положительный результат микробиологического обследования был получен у 75,4% пациентов (n=104). Обобщенные результаты микробного состава отделяемого из уха приведены в табл. 1.

Таблица 1. – Микробный спектр отделяемого из уха у пациентов, страдающих ХГСО

|                              | Золотистый коагулазо-положительный стафилококк |      | Неферментирующие грам-отрицательные бактерии |      | Энтеробактерии |      | Грибы          |      |              |      |
|------------------------------|------------------------------------------------|------|----------------------------------------------|------|----------------|------|----------------|------|--------------|------|
|                              |                                                |      |                                              |      |                |      | Дрожжеподобные |      | Мицелиальные |      |
|                              | п                                              | %    | п                                            | %    | п              | %    | п              | %    | п            | %    |
| Количество монокультур, n=61 | 29                                             | 27,9 | 12                                           | 11,5 | 13             | 12,5 | 3              | 2,9  | 4            | 3,8  |
| Количество ассоциаций n=43   | 7                                              | 6,7  | 5                                            | 4,8  | 3              | 2,9  | 13             | 12,5 | 15           | 14,4 |

При обследовании микробный состав отделяемого из уха был представлен монокультурой (у 61 пациента – 58,6%) и ассоциациями микроорганизмов (у 43 пациентов – 41,4%). Установлено, что при ХГСО преобладает бактериобиота – 69 результатов (66,3%). Среди всех выделенных бактерий преобладал коагулазопозитивный золотистый стафилококк в

диагностически значимом титре ( $>10^5$  КОЕ/мл) – 36 случаев (34,6%). Второй по частоте встречаемости – 17 результатов (16,3%) – группа неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosae*, *Acinetobacter* ( $10^5 - 10^8$  КОЕ/мл)). У 16 пациентов (15,4%) выделены представители семейства энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*). Одновременно несколько бактериальных возбудителей из одного уха выделены в 2-х случаях (1,9%). Полученные результаты соответствуют литературным данным последних лет [16].

При обострении ХГСО из ушного отделяемого грибы выделены в виде монокультуры у 7 (6,7%) пациентов, а в ассоциациях с бактериобиотой у 28 (26,9%) обследованных. Всего грибковый процесс подтвержден у 35 (33,6%) пациентов. Наряду с микромицетами из полостей среднего уха и послеоперационной полости наиболее часто высевали золотистый стафилококк, реже – синегнойную и кишечную палочку. При ХГСО грибковой и грибово-бактериальной природы этиологически значимыми возбудителями являлись мицелиальные грибы *Aspergillus* spp. – 45,7% (*Asp. fumigatus* – 8,6%, *Asp. niger* – 37,1%), *Penicillium* spp. – 8,6%, дрожжевые грибы рода *Candida* – 45,7% (*C. albicans* – 40,0%, *C. parapsilosis* – 5,7%). При этом грибово-грибковая ассоциация (*Asp. niger* и *C. albicans*) выявлена в 2-х случаях (5,7%).

Несмотря на данные микробиологического исследования, клинически наличие грибкового поражения уха наряду с бактериальным было установлено у 107 пациентов (77,5%), что проявлялось рецидивирующим гноетечением из уха, зудом и чувством заложенности уха, мацерацией кожи НСП, резистентностью к антибактериальной терапии. В послеоперационной полости среднего уха у таких пациентов наблюдалось замедление или отсутствие эпидермизации, а также массивный рост грануляционной ткани, большое количество отделяемого в виде пленок и корок черного, серого или белого цвета, отсутствие или плохое приживление неотимпанального лоскута после проведенной тимпаноластики.

Для выбора оптимального антимикробного препарата недостаточно знать только спектр возбудителей, необходимо также учитывать региональные данные по лекарственной устойчивости. Нами проведена оценка региональной чувствительности выделенных микроорганизмов, результаты представлены в таблицах 2-5.

Таблица 2. – Суммарная резистентность к антимикробным препаратам золотистого коагулазопозитивного стафилококка

| Антибактериальный препарат | Резистентность, % |
|----------------------------|-------------------|
| Ампициллин                 | 75,0              |
| Ампициллина/сульбактам     | 30,5              |
| Амоксициллин               | 33,3              |
| Оксациллин                 | 55,5              |
| Цефалексин                 | 33,3              |
| Цефазолин                  | 27,7              |
| Цефтриаксон                | 5,5               |

|                |      |
|----------------|------|
| Цефуроксим     | 11,1 |
| Эритромицин    | 66,7 |
| Рифампицин     | 36,1 |
| Кларитромицин  | 61,1 |
| Тетрациклин    | 33,3 |
| Доксициклин    | 44,4 |
| Амикацин       | 16,7 |
| Гентамицин     | 16,7 |
| Полимиксин     | 83,3 |
| Ципрофлоксацин | 5,5  |
| Ломефлоксацин  | 0,0  |

Как видно из таблицы 2, максимальная чувствительность *S.aureus* отмечается к цефтриаксону, ципрофлоксацину, ломефлоксацину (резистентность не более 5,5%), цефуроксиму (резистентность 11,1%), максимальная резистентность к ампициллину, эритромицину, полимиксину (66,7 – 83,3%).

Таблица 3. – Суммарная резистентность к антимикробным препаратам группы неферментирующих грамотрицательных бактерий

| Антибактериальный препарат | Резистентность, % |
|----------------------------|-------------------|
| Ампициллин                 | 76,4              |
| Ампициллина / сульбактам   | 29,4              |
| Амоксициллин               | 41,2              |
| Оксациллин                 | 58,8              |
| Цефалексин                 | 35,3              |
| Цефазолин                  | 35,3              |
| Цефтриаксон                | 11,8              |
| Цефуроксим                 | 11,8              |
| Имипинем                   | 5,9               |
| Тетрациклин                | 35,3              |
| Доксициклин                | 35,3              |
| Амикацин                   | 11,8              |
| Гентамицин                 | 17,6              |
| Полимиксин                 | 64,7              |
| Ципрофлоксацин             | 5,9               |
| Ломефлоксацин              | 0,0               |

По данным табл. 3, представители группы неферментирующих грамотрицательных бактерий обладают максимальной чувствительностью к ломефлоксацину (100%), имипинему и ципрофлоксацину (94,1%), цефуроксиму и цефтриаксону (88,2%). Резистентность к цефазолину, цефалексину, доксициклину, тетрациклину – до 35,3%, оксацилину, амоксициллину, ампициллину, полимиксину – 41,2 – 76,4%.

Таблица 4. – Суммарная резистентность к антимикробным препаратам энтеробактерий

| Антибактериальный препарат | Резистентность, % |
|----------------------------|-------------------|
| Ампициллин                 | 81,3              |
| Ампициллина / сульбактам   | 31,3              |
| Амоксициллин               | 43,8              |
| Оксациллин                 | 62,5              |
| Цефалексин                 | 43,8              |
| Цефазолин                  | 37,5              |
| Цефтриаксон                | 12,5              |
| Цефуроксим                 | 12,5              |
| Имипинем                   | 6,3               |
| Тетрациклин                | 37,5              |
| Доксициклин                | 43,8              |
| Амикацин                   | 12,5              |
| Гентамицин                 | 18,8              |
| Полимиксин                 | 75,0              |
| Ципрофлоксацин             | 6,3               |
| Ломефлоксацин              | 0,0               |

По данным антибиотикочувствительности, энтеробактерии высокочувствительны к ломефлоксацину, имипинему, ципрофлоксацину (до 93,7%), амикацину, цефтриаксону (87,5%). Максимальная резистентность к антибиотикам из группы пенициллинов, цефалоспоринов I поколения, тетрациклинам, полимиксинам – до 81,3%.

Таким образом, при анализе чувствительности бактериобиоты к антимикробным химиопрепаратам следует отметить высокую чувствительность возбудителей к цефалоспориновым II–III поколений (цефуроксиму, цефтриаксону) – уровень резистентности к данным препаратам не превышает 11,8%, фторхинолонам II–III генерации (ципрофлоксацину, ломефлоксацину) – резистентность не более 6,3%. Резервными препаратами для лечения инфекций, вызванных неферментирующими грамотрицательными микроорганизмами и энтеробактериями, являются карбопенемы (имипинем). Резистентность возбудителей к препаратам доксициклина, полимиксина, ампициллина, эритромицина достигает 44,4-80,3%.

Таблица 5. – Суммарная резистентность микромицетов к противогрибковым препаратам

| Противогрибковый препарат | Резистентность, % |                  |                  |
|---------------------------|-------------------|------------------|------------------|
|                           | Candida spp.      | Aspergillus spp. | Penicillium spp. |
| Флуконазол                | 7,1               | 93,8             | 100,0            |
| Итраконазол               | 0                 | 6,3              | 0                |
| Вориконазол               | 0                 | 6,3              | 0                |
| Флуцитозин                | 7,1               | 93,8             | 100,0            |
| Амфотерицин В             | 0                 | 0                | 0                |

Полученные результаты по антимикотикочувствительности выделенных штаммов грибов рода *Candida* подтвердили высокую чувствительность (92,9%) к таким противогрибковым препаратам, как флуконазол, флуцитозин, и 100,0% чувствительность к итраконазолу, вориконазолу, амфотерицину В, что совпадает с литературными данными [17]. Следует отметить, что, по нашим данным, плесневые грибы в 93,8% резистентны к флуконазолу. Резистентность к итраконазолу и вориконазолу выявлена у *Asp. fumigatus* в 1 случае (6,3%).

### Выводы

1. Этиологически значимыми возбудителями, поддерживающими хронический гнойно-воспалительный процесс в полостях среднего уха, являются бактерии – 66,3%, грибково-бактериальные ассоциации – 26,9%, грибы – 6,7% случаев.

2. Среди бактериобиоты ушного отделяемого преобладает *S.aureus* в диагностически значимом титре ( $>10^5$  КОЕ/мл) – 34,6%. Второй по частоте встречаемости – группа неферментирующих грамотрицательных бактерий (*P.aeruginosae*, *A.baumannii* ( $10^5$ – $10^8$  КОЕ/мл) – 16,3%). У 15,4% обследованных пациентов выделены представители семейства энтеробактерий (*E.coli*, *Proteus* spp.).

3. Среди грибково-бактериальных ассоциаций преобладающими являлись микромицеты в 26,9% случаев (*Aspergillus* spp. – 45,7%, *Penicillium* spp. – 8,6%, *Candida* spp. – в 45,7%).

4. Отмечена высокая чувствительность возбудителей, выделенных из ушного содержимого у пациентов в период обострения хронического гнойного среднего отита к цефалоспорином II–III поколения, фторхинолонам II поколения. При этом выявлена максимальная резистентность выделенных возбудителей (44,4–80,3%) к антибиотикам из группы пенициллинов, цефалоспорином I поколения, тетрациклинам, полимиксинам, эритромицину.

5. В случае часто рецидивирующего течения хронического гнойного среднего отита и отсутствия эффекта от традиционной антибактериальной терапии в большинстве случаев выявлена грибковая и грибково-бактериальная биота, что требует обязательного назначения антимикотических препаратов.

6. Назначение флуконазола оправдано только при подтверждении этиологической роли *C.albicans*; итраконазола и вориконазола – при выделении мицелиальных грибов.

7. Своевременная диагностика и лечение микотической инфекции со стороны наружного и среднего уха на этапе предоперационной подготовки является необходимой и обоснованной с целью предупреждения развития отомикоза послеоперационной полости, а также ряда тяжелых осложнений, обусловленных грибковой инфекцией, нередко приводящих к инвалидизации пациента.

### Литература

1. Пальчун В.Т. Динамическое исследование антибиотикорезистентности микробного фона в оториноларингологическом отделении: Вестник оториноларингологии, 2004; 1: 53 – 56.

2. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. М.: Боргес, 2002; 381.
3. Авдеева Л.В., Войцеховський В.Г., Приходько О.В. Антибіотикорезистентність проблемних видів мікроорганізмів: Актуальні проблеми медицини і біології. – Київ, 2007; 2: 48 – 68.
4. Gül H.C. Microorganisms isolated from middle ear cultures and their antibacterial susceptibility in patients with chronic suppurative otitis media: Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg, 2006; 16: 4: 164 – 168.
5. Bhattacharyya N., Shapiro J. Contemporary trends in microbiology and antibiotic resistance in otolaryngology: Auris Nasus Larynx, 2002; 29: 1: 59 – 63.
6. Yeo S.G. Bacteriology of chronic suppurative otitis media – a multicenter study: Acta Otolaryngol., 2007; 127:10: 1062 – 1067.
7. Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность *Streptococcus pyogenes* в России: результат многоцентрового проспективного исследования ПеГАС-1: Клинический микробиологический журнал, 2005; 7: 2: 154 – 166.
8. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности: Клинический микробиологический журнал, 2005; 7: 3: 271 – 285.
9. Richards M., Thursky K.M., Buisson K. Epidemiology, Prevalence and Sites of infections in intensive Care Units: Semin. Respir. Crit. Care Med., 2003; 24: 3 – 22.
10. Власова Н.В., Мултых И.Г., Гречишкин А.И. Опыт создания протоколов антибактериальной терапии в многопрофильном стационаре: Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2003; 5: 2: 83 – 91.
11. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Инфекции в интенсивной терапии. М.: «Бионика», 2003; 208.
12. Лев Н.А. Грибковые заболевания послеоперационной полости среднего уха: обзор литературы: Журнал ушных, носовых, горловых болезней, 1968; 6: 109 – 112.
13. Пальчун В.Т., Гуров А.В., Гусева А.Л. Особенности микрофлоры различных отделов среднего уха при хроническом гнойном среднем отите: Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции оториноларингологов (Вестник оториноларингологии), 2008; 5 (приложение): 102 – 103.
14. Шляга И.Д. Лечение больных отитами грибково-бактериальной этиологии: V Всероссийская научно – практическая конференция оториноларингологов: Материалы конф. (Вестник оториноларингологии), 2006; 5 (приложение): 131 – 132.
15. Hueghebaert E., Lee J.H. Otitis externa: Pediatr Rev., 2001; 22(6): 191 – 197.
16. Могилівська Н.М., Войцеховський І.А. Особливості мікрофлори у хворих на хронічний гнійний середній отит: Журн. вушних, носових і горлових хвороб, 2006; 6:40 – 48.
17. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. М. – ООО «Бином-пресс», 2004; 440.