

© ВИННИК Ю.С., ПЕРЬЯНОВА О.В., ЯКИМОВ С.В., ОСИПОВА Н.П., АНИШИНА О.В.,
ТЕПЛЯКОВ Е.Ю. – 1999
УДК 616.37-002.4

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОФЛОРЫ, ПОЛУЧЕННОЙ У БОЛЬНЫХ С ПАНКРЕОНЕКРОЗОМ

Ю.С. Винник, О.В. Перьянова, С.В. Якимов, Н.П. Осипова, О.В. Анишина, Е.Ю. Тепляков

(Красноярская государственная медицинская академия, ректор - акад. АН ВШ, д.м.н. проф. В.И. Прохоренков, кафедра общей хирургии, зав. - д.м.н. проф. М.И. Гульман)

Резюме. Исследованы материалы от 22 больных с различными формами деструктивного панкреатита. Определен видовой состав микрофлоры и ее антибиотикорезистентность. Установлена этиологическая роль условно-патогенных микроорганизмов в развитии гнойных осложнений острого панкреатита. Изучены биологические свойства 42 штаммов грамотрицательных микроорганизмов. Показано, что кишечный резервуар является источником персистентной микрофлоры. Наличие способности к инаktivации факторов естественной резистентности микроорганизма у различных представителей кишечной микрофлоры рассматривается как причина развития гнойно-воспалительных процессов поджелудочной железы. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать метод селективной деконтаминации кишечника для профилактики и лечения гнойных осложнений острого панкреатита.

Проблема лечения и профилактики гнойных осложнений при деструктивных формах острого панкреатита остается актуальной и далекой от разрешения. По данным литературных публикаций, гнойные осложнения развиваются у 3.5-15% больных острым панкреатитом [1, 2, 9]. Они значительно отягощают клиническое течение заболевания и в 16-70% являются одним из ведущих факторов танатогенеза. Летальность при гнойном панкреатите составляет от 30 до 97% [10, 13]. Важной причиной, обуславливающей неудовлетворительные результаты лечения больных с гнойными осложнениями острого панкреатита, является недостаточная изученность путей инфицирования некрозов поджелудочной железы [10]. До настоящего времени остается неясной связь различных по локализации очагов инфекции в организме больного с формированием микробного обсеменения в паренхиме поджелудочной железы.

Исследования по оценке состава микрофлоры, динамики ее изменений в различных средах организма носят эпизодический характер и не позволяют сделать принципиальных выводов по обоснованию патогенетических механизмов развития гнойных осложнений острого панкреатита.

В ряде работ показана ведущая роль стафилококков в возникновении и развитии гнойного панкреатита, однако в последние годы все большее патогенетическое значение приобретают энтеробактерии и псевдомонады [8, 12]. Изменение видового состава возбудителей хирургической инфекции сопровождается повышением уровня ре-

зистентности микробов к новым лекарственным препаратам [6, 7].

Данные обстоятельства обуславливают необходимость изучения факторов бактериальной персистенции, обеспечивающих возможность участия условно патогенных микроорганизмов в развитии гнойных осложнений острого панкреатита. В этом отношении особого внимания заслуживают метаболиты, секретируемые микробной клеткой в окружающую среду. Некоторые из них, являясь биологически активными соединениями, активируют или инаktivируют механизмы естественной защиты организма: образование лизоцима, комплемента, интерферона, иммуноглобулинов.

Накопленный экспериментально-клинический материал [3, 11, 14] является подтверждением связи этих секретируемых факторов (лизоцимная, антикомплемментарная, антиинтерфероновая, антииммуноглобулиновая и др. активности) бактерий с источником выделения, что позволяет рассматривать их в качестве экологических маркеров микроорганизмов.

Цель работы заключалась в исследовании этиологической структуры гнойных осложнений острого панкреатита и выяснении источников инфицирования некрозов поджелудочной железы.

Материалы и методы

Бактериологические исследования проведены у 22 больных, оперированных по поводу деструктивных форм острого панкреатита на базе ГКБ №7 г. Красноярск в период с 1996 по 1999 гг. Среди

обследованных были лица обоего пола в возрасте от 35 до 65 лет, из них семь мужчин и 15 женщин. Сроки поступления в стационар колебались от 24 до 48 часов с момента начала заболевания. Этиологическим фактором в пяти случаях было злоупотребление алкоголем, в двух случаях - желчекаменная болезнь, у остальных больных развитие заболевания было связано с погрешностью в диете.

Все больные были прооперированы по поводу панкреонекроза, разлитого ферментативного перитонита. Объем операции состоял в верхне-срединной лапаротомии, абдоминализации поджелудочной железы, марсупиализации, проточном дренировании сальниковой сумки. Субтотальный геморрагический панкреонекроз был обнаружен у восьми больных, субтотальный жировой панкреонекроз - у трех, тотальный смешанный панкреонекроз - у шести, очаговый гнойный панкреонекроз - у пяти больных.

Для бактериологического анализа использовали выпот из брюшной полости, содержимое сальниковой сумки, двенадцатиперстной кишки, кровь, желчь. Посев крови производили на сахарный бульон и среду для контроля стерильности. Перитонеальный экссудат, желчь, содержимое сальниковой сумки и двенадцатиперстной кишки засеивали на 5% кровяной агар и среду Эндо. 390 культур, изолированных у больных, идентифицированы с учетом морфотинкториальных, культуральных и биохимических свойств. Для определения биохимической активности наряду с традиционными дифференциально-диагностическими средами использовались тест-системы «Enterotest» («Lachema», Чехия), API 20 E («Bio-Merieux», Франция).

У выделенных микроорганизмов по описанным методикам [4, 5] были определены маркеры персистенции: антикомплементарная активность (АКА) и способность флоры к инаktivации антибактериальной составляющей лейкоцитарного интерферона («антиинтерфероновая активность» - АИА); а также маркеры патогенности: гемолитическая, лизоцимная, лецитиназная активность.

Чувствительность микрофлоры к антимикробным препаратам определяли методом Е-тестов согласно Стандартам Национального Комитета по клиническим и лабораторным исследованиям США. Обработка результатов Е-тестов велась с использованием компьютерной программы WHONET (ВОЗ).

С целью доказательства этиологической роли кишечной микрофлоры в развитии гнойных осложнений острого панкреатита нами проведено сопоставление видовой принадлежности микрофлоры различных патологических материалов, спектра ее антибиотикорезистентности, персистентных и патогенных характеристик, оцененных в качестве экологических маркеров [3].

Результаты и обсуждения

Спектр выделенных культур был представлен преимущественно ассоциациями грамотрицательных микроорганизмов. Чаще всего ассоциации выделялись из содержимого сальниковой

сумки, желчи и двенадцатиперстной кишки. Встречались следующие сочетания: *Acinetobacter baumannii* и *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila* и *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. В монокультурах были выявлены *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida sp.* Из посевов крови были изолированы *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*.

Грамположительные микроорганизмы выделялись в незначительном количестве и из сред накопления. Они представлены родом *Staphylococcus*, в том числе коагулазоположительными - *Staphylococcus aureus* и коагулазоотрицательными - *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* и стрептококками вида *Streptococcus faecalis*.

Высокая этиологическая значимость грамотрицательных бактерий в развитии гнойных осложнений острого панкреатита [6, 8, 12] определила необходимость изучения их биологических, в том числе персистентных и патогенных характеристик.

Антикомплементарный признак был широко распространен у всех исследованных видов энтеробактерий и ацинетобактера: среди штаммов *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii* активные культуры встречались с частотой от 78.5% (штаммы эшерихий) до 90.0% (штаммы ацинетобактера).

Свойство инаktivировать бактерицидную фракцию препарата лейкоцитарного интерферона среди ассоциантов распределилось следующим образом: у штаммов эшерихий и энтеробактера АИА встречалась с частотой 76.7-82.1%, у штаммов ацинетобактера - с частотой 92.6%. Наличие у выделенных условно патогенных микроорганизмов факторов инаktivации неспецифических защитных сил макроорганизма определяет возможность их участия в развитии гнойных осложнений острого панкреатита.

Выделенные представители энтеробактерий в разной степени обладали факторами патогенности: лизоцимную активность проявляли 29.7% штаммов клебсиелл, 25.6% эшерихий; лецитиназную активность проявляли 15.7% штаммов цитробактера и 21.7% штаммов клебсиелл.

Вид *Pseudomonas aeruginosa*, не обладая маркерами персистенции, имел уникальный по сравнению с другими ассоциантами набор факторов патогенности: 100% штаммов данного вида проявляли гемолитическую и лизоцимную активность.

Спектр антибиотикорезистентности микроорганизмов практически не зависел от места выделения культуры. Все выделенные штаммы: *Acinetobacter baumannii* чувствительны к имипенему, амикацину, ципрофлоксацину и устойчивы или умеренно устойчивы к остальным изученным антимикробным препаратам. Штаммы *Enterobacter cloacae* в основном чувствительны к цефтазиди-

му, тазобактаму, имипенему, гентамицину, ципрофлоксацину и амикацину. Штаммы *Klebsiella pneumoniae* чувствительны к амикацину, ципрофлоксацину, имипенему, а также цефотаксиму в 88% случаев. Штаммы *Escherichia coli* устойчивы в 50% случаев к ампициллину и в 20% случаев к амоксициллину и цефуроксиму. Выделенные штаммы *Pseudomonas aeruginosa* чувствительны к ципрофлоксацину и амикацину, менее чувствительны к цефтазидиму и имипенему.

При сравнительном анализе видовой принадлежности микроорганизмов различных патологических материалов установлена идентичность состава микрофлоры двенадцатиперстной кишки, желчи, содержимого сальниковой сумки и перитонеального экссудата. Аналогичная закономерность выявлена при сопоставлении антибиотикограмм различных изолятов. Однотипные биологические свойства, выявленные у бактерий, свидетельствуют об их генетическом единстве и едином происхождении.

Полученные результаты указывают на ведущую роль кишечного микробиоценоза в развитии гнойных осложнений острого панкреатита. Снижение колонизационной резистентности кишечника способствует контаминации кишечной микрофлорой верхних отделов желудочно-кишечного тракта и транслокации факультативных микроорганизмов из просвета кишки в брюшную полость.

Литература

1. Акжигитов Г.Н., Гребенев А.А., Акжигитов-Нестеренко Ю.А. и др. Панкреатит. - М.: БМЭ, 1982. - С. 256-270.
2. Атанов Ю.П. Гнойный панкреатит// Хирургия. - 1997. - № 8. - С. 20-24.
3. Бухарин О.В. Персистенция бактериальных патогенов как результат отношений в системе паразит-хозяин// Журн. микробиол. - 1997. - № 4. - С. 3-9.
4. Бухарин О.В., Соколов В.Ю. Способ определения «антиинтерфероновой» активности микроорганизмов. - А.с. СССР № 1564191.
5. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Малышкин А.П. и др. Методика определения антикомплементарной активности// Журн. микробиол. - 1984. - № 2. - С. 27-28.
6. Бухарин О.В., Фадеев С.Б., Исачев Б.А. Динамика видового состава, антилизоцимной активности и антибиотикорезистентности возбудителей хирургической инфекции мягких тканей// Журн. микробиол. - 1997. - № 4. - С. 51-54.
7. Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам. - М.: Медицина, 1984. - 396 с.
8. Вальшев А.В., Гильмутдинова Ф.Г., Третьяков А.А. Роль персистирующей условно патогенной микрофлоры кишечника при дисбиозе в возникновении заболеваний гепатобилиарной системы// Журн. микробиол. - 1997. - № 4. - С. 87-88.
9. Лашевкер В.М. Острый панкреатит (клиника, диагностика, лечение). - Киев, 1982. - 378 с.
10. Лищенко А.Н., Лаптев В.В. Гнойные осложнения панкреонекроза// Хирургия. - 1995. - №1. - С. 62-64.
11. Ляшенко И.Э. Факторы персистенции *E. coli*: Дис. ... канд. мед. наук. - Оренбург, 1995. - 200 с.
12. Митрохин С.Д., Минаев В.И., Зайцева О.Н. Факторы персистенции условно патогенных микроорганизмов при дисбактериозе желудочно-кишечного тракта// Журн. микробиол. - 1997. - № 4. - С. 84-87.
13. Пугаев А.В., Багдасаров В.В. Хирургическое лечение гнойных осложнений острого панкреатита// Хирургия. - 1997. - № 2. - С. 79-83.
14. Сурикова Е.В. Факторы персистенции клебсиелл: Дис. ...канд. мед. наук. - Челябинск, 1992.

С целью профилактики и лечения гнойных осложнений острого панкреатита наряду с традиционными методиками важное место необходимо уделять деконтаминации желудочно-кишечного тракта.

PARTICULARITIES OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF MICROFLORA ISOLATED FROM PATIENTS WITH PANCREONECROSIS

Y.S. Vinnik, O.V. Perjanova, S.V. Yakimov, N.P. Osipova, O.V. Anishina, E.Y. Teplyakov
(Krasnoyarsk State Medical Academy)

Materials from 22 patients with various forms of destructive pancreatitis were tested. The species composition of microflora and its antibiotic resistance were determined. The etiological role of opportunistic microorganisms was shown. The study of biological properties of 42 strains was carried out. The intestinal reservoir was shown to be the source of persistent microflora causing the formation of purulent pancreatitis. The presence of the capacity for inactivating natural host resistance factors in different representatives of intestinal microflora were regarded as the cause of the development of purulent inflammatory processes of the pancreas. The data of this study allow recommending method of the selective decontamination of intestine for the prevention and treatment of purulent complications of acute pancreatitis.