

УНИФИКАЦИЯ ПОДХОДА К МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИИ БИЛИАРНОГО ТРАКТА У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ДРЕНИРОВАНИЕ ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКОВ

Ю.И. Захаров, А.Р. Киямов, Е.В. Русанова, А.И. Лобаков, М.В. Нестерова

ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

В статье рассматриваются теоретические предпосылки и практическое решение вопроса об информативности клинического материала для микробиологической диагностики инфекции билиарного тракта в условиях дренирования желчевыводящих путей. На основании многолетнего исследования проводится анализ видового спектра и частоты встречаемости приоритетных патогенов, выделенных из желчи и с поверхности дренажного материала.

Ключевые слова: инфекция билиарного тракта, желчь, дренажный материал, микробиологическое исследование.

UNIFICATION OF APPROACH TO MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF BILIARY TRACT INFECTION IN PATIENTS WHO UNDERWENT BILIARY DUCT DRAINAGE

Yu.I. Zakharov, A.R. Kiyamov, E.V. Rusanova, A.I. Lobakov, M.V. Nesterova

M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

Theoretical prerequisites for clinical material informativeness and practical solution of this problem for microbiological diagnosis of biliary tract infection were analyzed in conditions of biliary tracts drainage. Basing on the long-term investigation, specific specter and incidence of priority pathogens were analyzed following their separation from bile and drainage material surface.

Key words: biliary tract infection, bile, drainage material, microbiological investigation.

Одними из наиболее сложных и актуальных проблем абдоминальной хирургии по-прежнему остаются вопросы лечения больных с обтурационными и обструктивными поражениями билиарного тракта, осложненными механической желтухой и (или) гнойным холангитом.

При развитии непроходимости желчевыводящих путей вследствие холедохолитиаза или новообразований гепатопанкреатодуоденальной зоны прекращается поступление в просвет кишки желчных кислот и их солей, желчных пигментов, билирубина, жирных кислот, ионов и прочих высокоактивных метаболитов. В протоковой системе на фоне нарастающей застойной гипертензии увеличивается концентрация билиарных метаболитов и возникают благоприятные селективные условия для размножения и транслокации в порталный кровоток (бактериемия)

условно-патогенных бактерий, особенно грамотрицательных (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и др.), с высвобождением липополисахарида (эндотоксина – компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий) при их разрушении (системная эндотоксемия) [8]. Кроме того, происходит токсическое повреждение гепатоцитов и угнетается функция ретикулоэндотелиальной системы печени, что приводит к депрессии купферовских клеток и снижению их способности к элиминации эндотоксина из порталного кровотока (потенцирование интоксикации) [6, 15]. Если диагностические и лечебные мероприятия проводятся с задержкой, то развивается синдром системного воспалительного ответа (SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome) с возможным исходом в сепсис и полиорганную недостаточность [2, 5, 9, 13, 18, 22].

Основной терапевтической стратегией в лечении больных с дренированием желчевыводящих путей является хирургическая декомпрессия и санация желчных протоков. При этом, вне зависимости от способа декомпрессии, необходимо оставлять дренажный материал в просвете желчных протоков до достижения клинического эффекта в виде купирования явлений желтухи и холангита. В норме желчные протоки стерильны, и только в дистальных отделах холедоха возможно выявление представителей микрофлоры двенадцатиперстной кишки, что при ненарушенном пассаже желчи не приводит к клинической манифестации. Однако вследствие постоперационного изменения анатомо-физиологических особенностей холекинеза неизбежным становится риск вторичного эндо- и (или) экзогенного инфицирования желчных протоков [1, 11, 14, 20, 21].

Особенно часто нуждаются в пролонгированном дренировании больные с ятрогенными повреждениями и рубцовыми стриктурами желчных протоков, билиодигестивными анастомозами, склерозирующим холангитом, неоперабельными опухолями гепатопанкреатодуоденальной зоны. Рецидивы желтухи и холангита у этих больных являются прогнозируемым следствием окклюзии дренажей и эндопротезов. Среди факторов, способствующих окклюзии, большое значение имеют конструктивные особенности дренажного материала: неровность профиля (изгибы, боковые перфоративные отверстия) и поверхностные физико-химические свойства (микрорельеф, наличие электростатического заряда, гидрофобность), а также дуоденальный рефлюкс. Но ключевым событием становится микробная колонизация поверхности материала высокоадгезивными штаммами микроорганизмов с образованием биопленки. Сочетание перечисленных факторов способствует аккумуляции билиарного сладжа. Формируется порочный круг: холестаз – холангит – дренирование – окклюзия дренажа – холестаз. Таким образом, сладжирование клеточного детрита и микробных тел в просвете искусственного билиарного проводника, с одной стороны, создает трудности для нормального пассажа желчи, с другой – служит постоянным источником бактериобилии и потенциально – бактериемии [7, 10, 12, 15, 17, 19, 21].

На сегодняшний день лаборатории клинической микробиологии как в России, так и за рубежом, руководствуются нормативными документами, которые определяют желчь в качестве основного материала для исследования при инфекции билиарного тракта [3, 4, 16]. Тем не менее, с целью повышения информативности этиологической диагностики микробиологического исследования нами был расширен протокол взятия проб клинического материала за счет дополнительного направления на исследование фрагментов дренажей и стентов, а также проведен всесторонний анализ полученных результатов за период с 2003 по 2010 г.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены больные отделения абдоминальной хирургии, лечение которых хотя бы на одном из этапов обязательно включало дренирование внепеченочных желчевыводящих путей. Сюда вошли пациенты с ятрогенными повреждениями, рубцовыми стриктурами желчных протоков, билиодигестивными анастомозами – 95 (76%), доброкачественными и злокачественными новообразованиями гепатобилиарной зоны – 20 (16%), осложненными формами желчнокаменной болезни (острый холецистит, холедохолитиаз) – 8 (6,4%), с первичным склерозирующим холангитом – 2 (1,6%). Были изучены результаты микробиологических исследований клинического материала с 2008 по 2010 г.: 103 пробы желчи, 3 стента и фрагменты 45 дренажей (полиэтиленовых, без антимикробных компонентов) от 56 больных (основная группа). В группу сравнения вошли данные за 2003-2007 г.: 84 пробы желчи от 69 больных, полученные в соответствии со стандартным протоколом, по которому дренажный материал не направлялся на исследование, а специальные транспортные среды для анаэробов использовались только при тяжелом течении холангита. Возрастные и гендерные различия между основной и контрольной группами были следующими: средний возраст больных составил 47,6 и 58,4 лет, с преобладанием женщин соответственно 95,7 и 78,4%. Материал транспортировался в объеме не менее 1 мл желчи или 1 см² фрагмента дренажа, в пустом герметично закрытом стерильном тубсере/контейнере либо в тубсере с транспортной средой Кэри Блэйр.

Первичный посев проб клинического материала (фрагменты дренажей тщательно промывали) и идентификацию выделенных чистых культур осуществляли классическими микробиологическими методами. Интегральная оценка проб – частота высеваемости, преобладание монокультур/ассоциаций патогенов – производилась с помощью подсчетов:

$$\% \text{ высеваемости} = \frac{\text{Пробы с ростом}}{\text{Всего проб}} \times 100;$$

$$\% \text{ обсемененности} = \frac{\text{Количество изолятов}}{\text{Всего проб с ростом}} \times 100.$$

Для определения этиологической значимости каждого из изолятов использовались следующие показатели.

$$\text{Показатель заражаемости} = \frac{\text{Больные с определенным патогеном}}{\text{Всего больных}} \times 100.$$

Этот показатель представляет собой процент больных, в клиническом материале которых на любом из этапов обследования хотя бы 1 раз выявлен тот или иной патоген.

$$\text{Показатель постоянства} = \frac{\text{Пробы с определенным патогеном}}{\text{Всего проб}} \times 100,$$

т.е. процент проб, содержащих определенный вид патогена.

Десятичный логарифм величины КОЕ/мл был рассчитан по всем пробам, а затем усреднен по годам для каждого вида/группы микроорганизмов. Дополнительно для оценки взаимосвязи между спектром высеваемой микрофлоры и методами оперативного вмешательства все результаты исследования были объединены по группам: в 1-ю вошли пробы от больных с полным блоком холедоха (первичное оперативное вмешательство), во 2-ю – с наличием наружного желчного свища (полного или частичного – гепатикостомы, дренажи Кера), в 3-ю – с билиодигестивным сообщением (гепатикоеюноанастомозом на транспеченочных дренажах; с транспеченочными дренажами Прадери – Смита и эндопротезами).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе из 84 проб желчи положительными были 60, в основной – из 151 пробы (желчь, дренажный материал) – 129. Уровень высеваемости патогенов в контрольной группе оставался стабильным, но невысоким: с 2003 по 2006 г. – только три из четырех проб давали рост; в 2007 г. произошло резкое снижение высеваемости. В основной группе, начиная с 2008 г., на протяжении всего периода наблюдается равномерное увеличение высеваемости, достигшее 96% в 2010 г.

Аналогичная динамика прослеживается и при расчете процента обсемененности проб: из 60 проб с ростом в контрольной группе выделено 92 изолята из 129, в основной – 289 изолятов. Таким образом, данные основной группы свидетельствуют о полиэтиологичном характере инфекционного процесса в гепатобилиарной зоне: преобладание микробных ассо-



Рис. 1. Интегральная оценка проб клинического материала от больных с гнойным холангитом по результатам микробиологического исследования

циаций из двух-трех патогенов над монокультурами. Чаще других в ассоциации вступали кишечная палочка, *K. pneumoniae*, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) и энтерококки. Графическое выражение показателей высеваемости и обсемененности представлено на рис. 1.

Микробный пейзаж желчевыводящих путей больных обеих групп был близок по спектру патогенов: *Enterobacteriaceae spp.* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. agglomerans*, *P. mirabilis*), НГОБ (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*), *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и дрожжеподобные грибы (в т.ч. *C. albicans*). Однако за исключением *A. baumannii* и стрептококков группы D, частота их встречаемости в основной группе была в 1,5-4 раза выше, чем в контрольной (рис. 2).

В целом, несмотря на меньшую выборку в основной группе больных, отрицательные результаты посева были получены только в отношении трех патогенов – *M. morgani*, *E. cloacae* и *P. mendocina*. При этом два последних были высеяны от пациентов контрольной группы лишь однократно. Вместе с тем один вид – *S. marcescens* – был выделен из клинического материала от нескольких пациентов основной группы и отсутствовал в контрольной.

Другие ключевые показатели клинической микробиологии, примененные для оценки эффективности нового протокола, – показатель заражаемости и показатель постоянства – также отразили межгрупповые различия и в то же время – полную внутригрупповую конкордантность результатов микробиологического исследования. В таблице показаны двух-трехкратное увеличение показателей для ведущих патогенов – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, НГОБ (в частности, *P. aeruginosa*), *Enterococcus spp.*, *S. aureus*, *S. pyogenes* и *C. albicans*, – а также тенденция к увеличению либо сохранение прежних уровней для остальных патогенов.

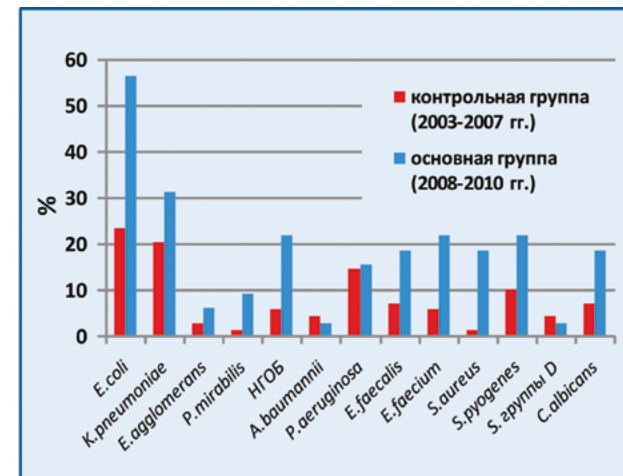


Рис. 2. Основной спектр и частота встречаемости патогенов желчевыводящих путей за 2003-2010 гг.

Мониторинг высеваемости микрофлоры из желчевыводящих путей больных с дренированием желчных протоков

Патоген	Показатель заражаемости, %		Показатель постоянства, %	
	2003-2007	2008-2010	2003-2007	2008-2010
<i>E. coli</i>	23,7	65,0	19,3	51,0
<i>K. pneumoniae</i>	19,9	36,1	22,8	20,1
<i>E. agglomerans</i>	7,5	10,8	6,1	5,0
<i>P. mirabilis</i>	5,0	19,2	4,5	3,9
НГОБ	9,1	27,2	8,2	17,2
<i>A. baumannii</i>	14,1	16,7	11,5	5,6
<i>P. aeruginosa</i>	15,7	23,9	13,1	14,5
<i>E. faecalis</i>	14,0	25,6	12,2	9,5
<i>E. faecium</i>	11,9	31,1	9,8	16,4
<i>S. aureus</i>	10,0	25,6	7,7	7,8
<i>S. pyogenes</i>	16,6	27,2	13,9	8,6
С. группы D	12,5	16,7	10,0	7,7
<i>C. albicans</i>	9,8	38,3	7,8	9,3

Используя величины КОЕ/мл, выраженные через десятичный логарифм для каждого клинического изолята и усредненные по годам, не удалось выявить достоверных различий между исследуемыми группами. Однако средние значения КОЕ/мл, определенные для всей выборки, полностью согласуются с теоретическими представлениями о заселении микроорганизмами тех биотипов, где условия благоприятствуют их жизнедеятельности. Так, кишечная группа патогенов (преимущественно грамотрицательные палочки), относительно резистентная к действию компонентов желчи (за счет липополисахарида), высевается из желчевыводящих путей в большей концентрации, чем грамположительные стафилококки и стрептококки, а также дрожжеподобные грибы (рис. 3). При этом высокая степень обсемененности (10^6 КОЕ/мл и более) подавляющего большинства проб напрямую коррелировала с наличием клинически выраженного гнойного холангита.

При сопоставлении методов оперативного вмешательства с результатами микробиологического анализа образцов желчи и дренажного материала за весь период наблюдения мы пришли к заключению, что, несмотря на принципиальные различия в механизме поступления желчи в кишку (через зону большого дуоденального сосочка или гепатикоеюноанастомоз) и способах дренирования внепеченочных желчных протоков (наружное, наружновнутреннее, внутреннее), достоверных различий в перечне видов и степени обсемененности желчевыводящих путей микроорганизмами нет.

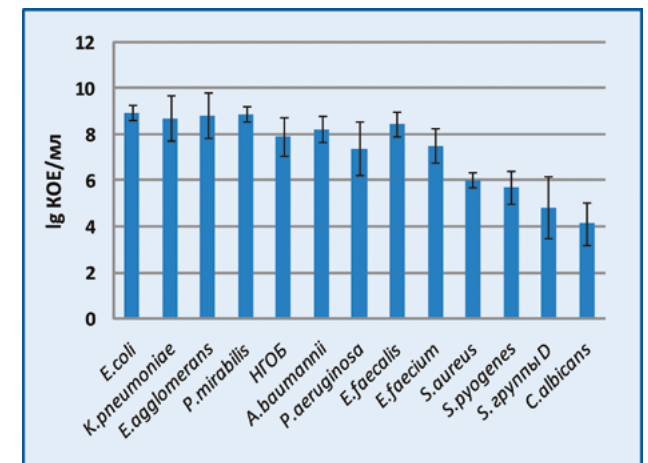


Рис. 3. Усредненные величины КОЕ/мл со стандартным отклонением, выраженные через десятичный логарифм по результатам микробиологического исследования 381 клинического изолята за 2003-2010 г.

ВЫВОДЫ

1. Микробиологическое исследование дренажного материала позволяет повысить эффективность диагностики инфекции желчевыводящих путей в 1,5-2 раза.
2. Приоритетные патогены при гнойных холангитах представлены преимущественно кишечной группой микроорганизмов (*E. coli*, *K. pneumoniae*, НГОБ),

энтерококками, стафило- и стрептококками, а также дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

3. Микробные ассоциации, колонизирующие желчевыводящие пути, выявляются чаще при исследовании дренажного материала, а не образцов желчи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахаладзе Г.Г. Гнойный холангит: вопросы патофизиологии и лечения // Consilium-Medicum (Приложение). 2003. №4. С.3-8.
2. Ахаладзе Г.Г. Патогенетические аспекты гнойного холангита, почему нет системной воспалительной реакции при механической желтухе? // Анн. хир. гепатол. 2009. №2. С.9-15.
3. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
4. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания 4.2.2039-05. МЗ РФ, 2005.
5. Andersson R., Andersson B., Andersson E. et al. Immunomodulation in surgical practice // HPB. 2006. No.8. P.116-123.
6. Bilzer M., Roggel F., Gerbes A.L. Role of Kupffer cell in host defense and liver disease // Liver Internat. 2006. V.26. P.1175-1186.
7. Chan G., Barcun J., Barcun A.N. et al. The role of ciprofloxacin in prolonging polyethylene biliary stent patency: a multicenter double-blinded effectiveness study // J. Gastrointest. Surg. 2005. No.9. P.481-488.
8. Clements W.B.D., Erwin P., McCaigue M. et al. Conclusive evidence of endotoxaemia in biliary obstruction // Gut. 1998. V.42. P.293-299.
9. Clements W.B.D., McCaigue M., Erwin P. et al. Biliary decompression promotes Kupffer cell recovery in obstructive jaundice // Gut. 1996. V.38. P.925-931.
10. Coene P.P., Groen A.K., Cheng J. et al. Clogging of biliary endoprostheses: a new perspective // Gut. 1990. V.31. P.913-917.
11. Donelli G., Guaglianone E., Di Rosa R. et al. Plastic biliary stent occlusion: Factors involved and possible preventive approaches // CM&R. 2007. V.5, No.1. P.53-60.
12. Donelli G., Paoletti C., Baldassari L. et al. Sex pheromone response clumping and slime production in enterococcal strains isolated from occluded biliary stents // J. Clin. Microbiol. 2004. V.42, No.8. P.3419-3427.
13. Gong J.-P., Wu Ch.-X., Liu CH.-A. et al. Liver sinusoidal endothelial cell injury by neutrophils in rats acute obstructive cholangitis // World J. Gastroenterol. 2002. V.8, No.2. P.342-345.
14. Gouma D.J. Stent versus surgery // HPB. 2007. No.9. P.408-413.
15. Gregory S.H., Wing E.J. Neutrophil-Kupffer cell interaction: a critical component of host defenses to systemic bacterial infections // J. Leucocyte Biol. 2002. V.72. P.239-248.
16. Health Protection Agency. «National Standard Method. Investigation of bile». Standards Unit, Evaluations and Standards Laboratory // BSOP. 15i5. Issue 5.
17. Katsinelos P., Paikos D., Kountouras J. et al. Tannenbaum and metal stents in the palliative treatment of malignant distal bile duct obstruction: a comparative study of patency and cost effectiveness // Surg. Endosc. 2006. No.20. P.1587-1593.
18. Kimmings A.N., van Deventer S.J.H., Obertop H. et al. Endotoxin, cytokines, endotoxin binding proteins in obstructive jaundice and after preoperative biliary drainage // Gut. 2000. V.46. P.725-731.
19. Swidsinski A., Schlien P., Pernthaler A. et al. Bacterial biofilm within diseased pancreatic and biliary tract // Gut. 2005. V.54. P.388-395.
20. Van der Gaag N.A., de Castro S.M.M., Rauws E.A.J. et al. Preoperative biliary drainage for periampullary tumors causing obstructive jaundice; Drainage vs (direct) Operation (DROP-trial) // BMC Surgery. 2007. V.7. P.3.
21. Waar K., Van der Mei H.C., Harmsen H.J.M. et al. Adhesion to bile drain materials and physicochemical surface of Enterococcus faecalis strains grown in the presence of bile // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V.68, No.8. P.3855-3858.
22. Wada K., Takada T., Kawarada Y. et al. Diagnostic criteria and severity assessment of acute cholangitis: Tokyo Guidelines // J. Hepatobiliary Pancr. Surg. 2007. V.14. P.52-58.

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧАЮЩИХ ДИАЛИЗНУЮ ТЕРАПИЮ

О.Н. Ветчинникова, В.М. Верещагина, И.С. Пичугина, С.А. Кулибаба, А.В. Ватазин

ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

У больных с хронической почечной недостаточностью, получающих заместительную терапию гемо- и перитонеальным диализом, проведена комплексная оценка содержания белков сыворотки крови, в определенной степени отражающих пищевой статус и выполняющих важные функции в регуляции воспалительной и иммунных реакций.

Ключевые слова: белковый обмен, хроническая почечная недостаточность, гемодиализ, перитонеальный диализ.

PROTEIN STATUS FEATURES IN DIALYSIS-TREATED PATIENTS

O.N. Vetchinnikova, V.M. Vereschagina, I.S. Pichugina, S.A. Kulibaba, A.V. Vatazin

M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

In patients with chronic renal failure receiving substitution therapy with hemo- and peritoneal dialysis, complex estimation of serum protein levels was carried out reflecting to a certain degree their nutritional status and performing important functions in regulation of inflammatory and immune reactions.

Key words: protein metabolism, chronic renal failure, hemodialysis, peritoneal dialysis.

У больных с заболеваниями почек возникают разнообразные метаболические нарушения, среди которых особое место занимают изменения белкового обмена. Гипо- и диспротеинемия более свойственны этапу сохраненных функций почек, но могут наблюдаться и при хронической почечной недостаточности (ХПН) [1]. Современные воззрения позволили отнести ХПН к состоянию белковой недостаточности, для развития которой обнаружен целый спектр причин. Некоторые из них – недостаточное суточное потребление белка, его повышенные потери или смещение равновесия между синтезом и катаболизмом в сторону последнего – более характерны для консервативно-курабельной, другие – для терминальной стадии ХПН [1, 9].

Содержание в крови альбумина – наибольшей по количеству фракции белков, – а также ряда других белков является важнейшим индикатором выживаемости и смертности больных с ХПН, получающих заместительную терапию тем или иным методом диализа: гемодиализом (ГД) или перитонеальным диализом (ПД). Так, Acchiardo S.R. и соавт. [2] показали, что сни-

жение сывороточной концентрации альбумина менее 35 г/л ассоциируется с увеличением смертности больных на ПД, а L.B. Pupin и соавт. [20] – что альбумин и преальбумин сыворотки крови значительно в большей степени, чем С-реактивный белок (СРБ), связаны с общей, а также сердечно-сосудистой летальностью больных на ГД. В опубликованных в последние годы работах обсуждается содержание в крови у больных с ХПН того или иного белка – альбумина, преальбумина, СРБ, трансферрина и некоторых других, но они рассматриваются в отдельности, как маркеры белково-энергетической недостаточности (БЭН), синдрома хронического воспаления, анемии. Комплексные исследования, направленные на изучение состояния и характера нарушений белкового метаболизма у больных с терминальной ХПН, находящихся на лечении ГД или ПД, единичны [15].

В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка состояния и определены факторы, вызывающие нарушения белкового обмена у больных с ХПН, получающих заместительную диализную терапию ГД и ПД.