

Ю.С. ВИННИК, Е.В. СЕРОВА, Р.А. ПАХОМОВА,
О.В. ПЕРЬЯНОВА, Т.В. РУКОСУЕВА

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБНОГО ФАКТОРА В РАЗВИТИИ ОСТРОГО КАЛЬКУЛЕЗНОГО ХОЛЕЦИСТИТА

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,
Российская Федерация

Цель. Улучшить результаты лечения пациентов с острым калькулезным холециститом.

Материал и методы. Обследовано 125 пациентов с острым калькулезным холециститом (ОКХ). 1 группа – пациенты, которым проводилось традиционное консервативное лечение (49 человек). 2 группа – пациенты, которым проводилась этиотропная предоперационная антибиотикопрофилактика и рациональная послеоперационная антибиотикотерапия (76 человек). В обеих группах проведено бактериологическое исследование пузырной желчи, биоптата стенки желчного пузыря и желчных конкрементов. Во 2 группе выполнялась ПЦР – идентификация анаэробной микрофлоры в крови, пузырной желчи и биоптате стенки желчного пузыря.

Результаты. Высокий процент положительных результатов посевов был получен при флегмонозном калькулезном холецистите – 85,7% и гангренозном калькулезном холецистите – 84,2%. В исследуемых образцах преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae*. Второе место среди всех выделенных культур занимали *E. faecium*. Грамположительные кокки также были представлены *S. epidermidis* и анаэробными кокками *P. constellatus*. Выделены *Moraxella spp.* и *Pseudomonas spp.*

Наибольший процент идентифицированных монокультур анаэробов получен при исследовании пузырной желчи (86,2%) и биоптата стенки желчного пузыря (92,1%) при деструктивных формах калькулезного холецистита.

Этиологическая роль анаэробных микроорганизмов в развитии осложненных форм ЖКБ установлена методом ПЦР в 65,5% случаев.

Резистентность к амикацину, гентамицину, спарфлоксацину и ципрофлоксацину выявлена у *E.coli*. Синегнойная палочка резистентна к цефоперазону. Штаммы *P. constellatus* устойчивы к метронидазолу.

Заключение. Одним из ведущих этиологических факторов в развитии деструктивных форм калькулезного холецистита являются анаэробные микроорганизмы, которые практически не идентифицируются бактериологическим методом. Методом выбора в диагностике анаэробов является ПЦР.

Большинство выделенных штаммов микроорганизмов чувствительно к изученным антибактериальным препаратам. Выявлена устойчивость анаэробных микроорганизмов к метронидазолу.

Назначение антимикробных химиопрепаратов на основании результатов определения чувствительности микроорганизмов достоверно позволяет снизить процент послеоперационных осложнений у пациентов с ОКХ.

Ключевые слова: желчнокаменная болезнь, острый калькулезный холецистит, микрофлора билиарной системы, рациональная антимикробная химиотерапия

Objectives. To improve the treatment results of patients with acute calculous cholecystitis.

Methods. 125 patients with acute calculous cholecystitis (ACC) were examined. The first group included the patients in whom traditional conservative treatment was performed (49 patients). The second group was made up of the patients in whom pre-surgical etiotropic preventive antibiotics and rational post-surgical preventive antibiotics were used (76 people). In both groups bacteriologic examination of cystic bile, biopsy material of the gall bladder wall and biliary calculus was carried out. In the second group PCR method was applied – the identification of anaerobic microflora in the blood, cystic bile and biopsy material of the gall bladder wall.

Results. High percentage of positive results of inoculation was received at phlegmonous calculous cholecystitis – 85,7% and at gangrenous calculous cholecystitis – 84,2%. In the investigated samples the representatives of family *Enterobacteriaceae* prevailed. *E. faecium* hold the second place among all isolated cultivations. Gram-positive cocci were also represented by *S. epidermidis* and anaerobic cocci *P. constellatus*. *Moraxella spp.* and *Pseudomonas spp.* were also marked.

The highest percentage of the identified monocultures of anaerobic organisms was received during the examination of cystic bile (86,2%) and biopsy material of the gall bladder wall (92,1%) at the deconstructive forms of calculous cholecystitis.

Etiological role of anaerobic microorganisms in the progression of complicated forms of cholelithiasis was determined by PCR method in 65,5% cases.

Resistance to amikacin, gentamicin, sparfloxacin and ciprofloxacin was determined in *E.coli*. *Pseudomonas aeruginosa* is resistant to cefoperazone. Strains of *P. constellatus* are resistant to metronidazole.

Conclusions. One of the leading etiological factors in the progression of deconstructive forms of calculous cholecystitis is anaerobic microorganisms, which can hardly be identified by bacteriological method. PCR method is the method of choice in diagnostics of anaerobes.

Most allocated strains of microorganisms are sensitive to investigated antimicrobials. Resistance of anaerobic microorganisms to metronidazole was revealed.

Prescription of antimicrobial chemical drugs on the basis of the evaluation of microorganism sensibility results authentically allows decreasing the percentage of postoperative complications that patients with ACC can have.

Keywords: *cholelithiasis, acute calculous cholecystitis, microflora of biliary system, rational antimicrobial chemotherapy*

Введение

Желчнокаменная болезнь (ЖКБ) считается одним из самых распространенных заболеваний и уступает лидерство лишь атеросклерозу, оставив позади язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки [1, 2, 3, 4, 5]. В патогенезе ЖКБ существенная роль принадлежит микрофлоре кишечника и гепатобилиарной зоны. Однако результаты бактериологических исследований желчи не всегда сопоставимы. Крайне мало работ, посвященных изучению роли анаэробных микроорганизмов при ЖКБ, значение которых в патогенезе осложненных форм холелитиаза велико. Отсутствуют методы микробиологической экспресс-диагностики возбудителей инфекционного процесса в желчном пузыре. Противоречивы результаты определения чувствительности к антимикробным химиопрепаратам культур микроорганизмов, выделяемых из желчи [6, 7].

Цель исследования: улучшить результаты лечения пациентов с острым калькулезным холециститом.

Материал и методы

Всего обследовано 125 пациентов обоего пола с острым калькулезным холециститом (ОКХ) в возрасте от 25 до 80 лет. Средний возраст составил — $52,5 \pm 1$ лет. В исследование вошли 97 (77,6%) женщин и 28 (22,4%) мужчин. Пациенты были разделены на 2 группы. 1 группа — пациенты с ОКХ, которым проводилось традиционное консервативное лечение до и после операции (49 человек). 2 группа — пациенты с ОКХ, у которых проводилась этиотропная предоперационная антибиотикопрофилактика и рациональная послеоперационная антибиотикотерапия (76 человек).

У пациентов 1 и 2 групп проводились скрининговые лабораторные и традиционные инструментальные методы исследования. Во 2 группе дополнительно выполнялась ПЦР — идентификация анаэробной микрофлоры в крови (до начала антибактериальной терапии), пузырной желчи и биоптате стенки желчного пузыря (интраоперационно). В 1 и 2 группах проведено бактериологическое исследование пузырной желчи, биоптата стенки желчного пузыря и желчных конкрементов.

Пациентам 1 группы в зависимости от времени начала заболевания и выраженности

клинических проявлений назначались эмпирическая антибактериальная терапия — цефалоспорины III и IV поколений, аминогликозиды или препараты группы пенициллина.

У пациентов 2 группы предоперационная антимикробная профилактика и антимикробная терапия в послеоперационном периоде назначались с учетом результатов ПЦР и бактериологического исследования.

Определение чувствительности выделенных культур к антибактериальным препаратам проводилось диско-диффузионным методом на агаре Мюллера — Хинтона в соответствии со стандартами CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Интерпретация результатов осуществлялась на основании сопоставления размеров диаметра зоны задержки роста с пограничными значениями этих параметров, дифференцирующих чувствительные штаммы от промежуточных и промежуточные от устойчивых.

Параллельно с тестированием клинических изолятов проводили контроль качества исследования с использованием референс-штаммов, принадлежащих к ATCC (American Type Culture Collection) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 в соответствии с видовой принадлежностью выделенных культур. Выбор антимикробных препаратов для тестирования клинических штаммов осуществлялся на основании рекомендуемых перечнем антимикробных препаратов согласно Методическим указаниям 4.2.1890-04 от 04.03.2004 года «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (МУК 4.2.1890-04), с учетом рекомендаций клинического фармаколога и данных о природной чувствительности отдельных видов микроорганизмов или их групп. Для определения чувствительности к антимикробным препаратам аэробных и факультативно-анаэробных культур микроорганизмов использовались диски с препаратами группы пенициллина (ампициллин), цефалоспорины I (цефазолин) и III поколений (цефотаксим, цефоперазон, цефтазидим, цефтриаксон), аминогликозидами (амикацин, гентамицин) и фторхинолонами (спарфлоксацин, ципрофлоксацин).

Для определения чувствительности к антимикробным химиопрепаратам анаэробных микроорганизмов использовалась тест-система ATB ANA (BioMerieux, Франция), включающая

пенициллин, амоксициллин, амоксиклав, пиперацillin, кефокситин, кефотетан, имипенем, клиндамицин, клорамфеникол, метронидазол.

Все пациенты были оперированы в экстренном или отсроченном порядке, преимущественно с использованием видеолапароскопии и минилапаротомного доступа.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с помощью программы «Microsoft Excel» с соблюдением принципов статистического анализа, принятых для исследований в биологии и медицине. Для сопоставления выборок по частоте встречаемости явления использован угловой критерий Фишера (φ).

Результаты и обсуждение

У 125 пациентов морфологически диагностированы следующие формы ОКХ: острый обтурационный калькулезный холецистит (ООКХ) — 31 (24,8%), флегмонозный калькулезный холецистит (ФКХ) — 56 (44,8%) и гангренозный калькулезный холецистит (ГКХ) — 38 (30,4%) случаев.

Высокий процент положительных результатов посевов был получен при ФКХ — 85,7% и ГКХ — 84,2%. При ООКХ высеваемость микроорганизмов составила всего 12,9%. Изучение биоматериалов показало высокую степень общей бактериальной обсемененности (10^7 – 10^8 КОЕ/г) всех образцов при разных гистологических формах ОКХ, но чаще при флегмонозном и гангренозном холецистите.

При анализе полученных результатов отмечен высокий процент высеваемости *P. aeruginosa* при деструктивных формах острого холецистита. Наиболее часто данная культура выделялась у пациентов с ФКХ. При этой форме ЖКБ из содержимого желчного пузыря и его стенки удалось выделить бактериологическим методом в монокультуре представителя анаэробной флоры — *Peptococcus constellatus* при эмпиеме желчного

пузыря и местном гнойном перитоните. Но при разлитом перитоните, перивезикальном и шеечном инфильтрате, перивезикальном абсцессе у 48 (85,7%) пациентов при ФКХ и у 38 (100%) при ГКХ анаэробные микроорганизмы бактериологическим методом выявлены не были.

Бактериологическое исследование показало, что в исследуемых образцах желчи, биоптата стенки желчного пузыря и желчных конкрементов преобладали представители семейства Enterobacteriaceae (61,0%) (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.aerogenes*, *C.freundii*). Второе место среди всех выделенных культур занимают *E. faecium* — 14%. Грамположительные кокки также были представлены *S. epidermidis* — 7,2% и анаэробными кокками *P. constellatus* — 3,6%. Удельный вес неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) *Moraxella spp.* и *Pseudomonas spp.* составил 14,4%.

Из таблицы 1 видно, что наибольший процент идентифицированных монокультур анаэробных микроорганизмов получен при исследовании пузырной желчи (86,2%) и биоптата стенки желчного пузыря (92,1%). Это является доказательством патогномичности полученных результатов и свидетельствует об отсутствии ложноположительных результатов идентификации этих микроорганизмов при возможном наличии сопутствующих воспалительных процессов в других органах и системах.

В монокультуре анаэробы идентифицированы всего в 144 (69,6%) образцах.

Микробные ассоциации были представлены в 63 (30,4%) случаях в 6 комбинациях. При сопоставлении результатов идентификации анаэробов с гистологической формой ОКХ установлено, что при обследовании 76 пациентов 2 группы у 6 (33,3%) с катаральным холециститом были идентифицированы культуры *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides spp.* и *Fusobacterium spp.* При ФКХ у 26 (76,4%) пациентов был выявлен наиболее разнообразный микробный пейзаж.

Таблица 1

Идентифицированные монокультуры анаэробных микроорганизмов в различных биологических материалах

Культуры анаэробных микроорганизмов	Исследуемые материалы		
	Кровь	Желчь	Биоптат
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 (6,6%)	7 (12%)	11 (14,5%)
<i>Bacteroides spp.</i>	19 (25%)	7 (12%)	14 (18,4%)
<i>Porphyromonas spp.</i>	—	—	—
<i>Prevotella melaninogenica</i>	—	4 (6,9%)	5 (6,6%)
<i>Prevotella spp.</i>	—	7 (12%)	7 (9,2%)
<i>Fusobacterium spp.</i>	—	25 (43,1%)	33 (43,4%)
Всего	24 (31,6%)	50 (86,2%)**	70 (92,1%)**

Примечание. ** — $p < 0,01$ (при $F > 2,31$) (по сравнению с образцами крови).

Выявлена взаимосвязь между количеством идентифицированных анаэробов и развитием осложнений ЖКБ. Из 58 пациентов с ФКХ и ГКХ у 47 (81%) были выявлены анаэробные микроорганизмы. Именно у этих пациентов имели место осложнения, такие, как: местный перитонит, эмпиема желчного пузыря, перивезикальный инфильтрат, перивезикальный абсцесс, перфорация желчного пузыря.

Во 2 группе в 94,8% случаев аэробная микрофлора была диагностирована бактериологическим методом, анаэробная — в 5,2% случаев. Анаэробы были идентифицированы методом ПЦР у 56,9% пациентов, что достоверно превышает этот показатель по сравнению с бактериологическим методом ($p < 0,01$). Этиологическая роль в развитии осложненных форм ЖКБ установлена методом ПЦР в 65,5% случаев, что превышает аналогичный показатель при катаральном холецистите ($p < 0,01$). Можно предположить, что при наличии анаэробной инфекции, которая очень часто не диагностируется бактериологическим методом, в большом проценте случаев развиваются деструктивные формы ОКХ и его осложнения (таблица 2).

Среди энтеробактерий резистентность к антимикробным препаратам выявлена только у культур *E.coli*. При этом 9% штаммов были устойчивы к амикацину и гентамицину, 18% — к спарфлоксацину и цiproфлораксацину. Штаммы синегнойной палочки были резистентны только к цефоперазону и чувствительны к ампициллину, цефтазидиму, цiproфлораксацину. Штаммы *P.putrefaciens* были чувствительны ко всем антисинегнойным препаратам. При определении чувствительности *P.constellatus* к антимикробным препаратам выявлено, что все выделенные штаммы устойчивы к метронидазолу и чувствительны к остальным изученным препаратам.

Во 2 группе назначались цефалоспорины III-IV поколений с аминогликозидами; β -лактамы антибиотики с аминогликозидами или фторхинолоны и аминогликозиды на основании результатов бактериологического исследования.

Как видно из таблицы 3, у пациентов 2 группы по сравнению с 1 группой (15 (30,6%)),

был отмечен значительно меньший процент осложнений — 5 (6,6%).

Таким образом, видовой спектр выделенных микроорганизмов позволяет предположить, что у пациентов с желчнокаменной болезнью контаминация гепатобилиарной системы происходит в основном из желудочно-кишечного тракта в результате избыточного заселения тонкой кишки, нарушения барьерных функций слизистой оболочки кишечника и нарушения функции сфинктерного аппарата билиарного тракта.

Большинство штаммов микроорганизмов, выделенных из различных материалов у пациентов с острым калькулезным холециститом, чувствительно к изученным антибактериальным препаратам, которые включены в формуляр эмпирической антимикробной химиотерапии. Выявлена устойчивость анаэробных микроорганизмов к метронидазолу — препарату, часто используемому в клинической практике.

Назначение антимикробных химиопрепаратов на основании результатов определения чувствительности выделенных микроорганизмов достоверно позволяет снизить процент послеоперационных осложнений у пациентов с острым калькулезным холециститом.

Выводы

1. Одним из ведущих этиологических факторов в развитии деструктивных форм калькулезного холецистита являются анаэробные микроорганизмы, которые практически не идентифицируются бактериологическим методом.

2. Методом выбора в диагностике анаэробной инфекции при остром калькулезном холецистите является полимеразная цепная реакция, посредством которой анаэробы были идентифицированы у 65,5% пациентов уже в первые сутки поступления в стационар.

3. Микробиологическое исследование у пациентов с острым калькулезным холециститом позволяет определить спектр микроорганизмов (аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных) и назначать эффективную этиотропную, рациональную антимикробную профилактику и химиотерапию, позволяющую

Таблица 2

Идентификация возбудителей инфекции при осложненных формах ОКХ

Культуры микроорганизмов	Метод идентификации возбудителя		ООКХ	Осложненные формы ЖКБ
	Бактериологический метод	ПЦР		
Аэробная микрофлора	55 (94,8%)	—	13 (72,2%)	20 (34,5%)
Анаэробная микрофлора	3 (5,2%)	33 (56,9%)**	5 (27,8%)**	38 (65,5%)**

Примечание. ** — $p < 0,01$ (при $F > 2,31$) (по сравнению с бактериологическим методом, острым обтурационным калькулезным холециститом)

Таблица 3

Послеоперационные осложнения у пациентов 1 и 2 групп

Осложнения после ХЭ	1-ая группа (49 пациентов)	2-ая группа (76 пациентов)
Открытая ХЭ		
Количество пациентов	5 (10,2%)	7 (9,2%)
Серома п/о рубца	2 (40%)	1 (14,3%)
Абсцесс п/о рубца	1 (20%)	—
Общий % осложнений при открытой ХЭ	3 (60%)	1 (14,3%)*
ХЭ из мини-доступа		
Количество пациентов	17 (34,7%)	23 (30,3%)
Серома п/о рубца	3 (17,6%)	2 (8,7%)
Инфильтрат п/о рубца	2 (11,7%)	1 (4,3%)
Серома ложа ЖП	2 (11,7%)	—
Общий % осложнений при ХЭ из мини-доступа	7 (41%)	3 (13%)*
Лапароскопическая ХЭ		
Количество пациентов	27 (55,1%)	46 (60,5%)
Серома п/о рубца	3 (11,1%)	1 (2,2%)
Серома ложа ЖП	1 (3,7%)	—
Абсцесс ложа ЖП	1 (3,7%)	—
Общий % осложнений при ЛХЭ	5 (18,5%)	1 (2,2%)**
Общий % осложнений	15 (30,6%)	5 (6,6%)**

Примечание.* — $p < 0,05$ (при $F > 1,64$); ** — $p < 0,01$ (при $F > 2,31$) (по сравнению с 1-ой группой).

достоверно снизить процент послеоперационных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

- Максименко, В. Б. Нарушения концентрационной и моторно-эвакуаторной функций желчного пузыря при холецистолитиазе / В. Б. Максименко // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2006. — № 4. — С. 24-28.
- Малярчук, В. И. Заболевания большого дуоденального сосочка / В. И. Малярчук, Ю. Ф. Пауткин, Н. Ф. Плавун. — М.: Камерон, 2004. — 167 с.
- Abdominal symptoms: do they predict gallstones? A systematic review / M. Y. Berger [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 35. — P. 70-76.
- Bellows, C. F. Management of gallstones / C. F. Bellows, D. H. Berger, R. A. Crass // Am. Fam Physician. — 2005. — Vol. 72, N 4. — P. 637-642.
- Schirmer, B. D. Cholelithiasis and cholecystitis / B. D. Schirmer, K. L. Winters, R. F. Edlich // J. Long.

Term. Eff. Med. Implants. — 2005. — Vol. 15, N 3. — P. 329-338.

- Бородач, А. В. Некоторые патогенетические аспекты хирургического лечения осложненной желчнокаменной болезни / А. В. Бородач, В. А. Бородач, А. Л. Попов. — Новосибирск: Сибир. ун-т. изд-во, 2008. — 188 с.
- Петухов, В. А. Желчнокаменная болезнь и синдром нарушенного пищеварения / В. А. Петухов. — М.: ВЕДИ, 2003. — 128 с.

Адрес для корреспонденции

660022, Российская Федерация, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, Красноярский государственный медицинский университет, кафедра общей хирургии, тел. раб.: 8 391 212-53-85; тел. моб.: 8 913 599-17-18, e-mail: ekaterina_s_07@mail.ru, Серова Екатерина Валерьевна

Сведения об авторах

Винник Ю.С., д.м.н., профессор, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Серова Е.В., к.м.н., ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Пахомова Р.А., к.м.н., ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный

медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Перьянова О.В., к.б.н., доцент, заведующая кафедрой микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Рукусуева Т.В., старший преподаватель кафедры микробиологии им. доц. Б.М. Зельмановича ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого».

Поступила 27.06.2011 г.