

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОПЛЕНКИ У ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ

¹Плоткин Л.Л., ¹ Парфенова О.В., ¹Бордуновский В.Н., ² Шапко И.П.

¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

² Костонайская областная больница (Казахстан)

До настоящего времени распространенный перитонит остается одним из самых частых осложнений в абдоминальной хирургии. Одна из проблем, которые возникают в ходе лечения перитонита, – это проблема резистентности микроорганизмов, являющихся этиологической причиной перитонита, к проводимой антимикробной терапии. В статье показана взаимосвязь между наличием биопленки у пациентов с распространенным перитонитом и поддержанием уровня системного воспаления, проявляющимся достоверным увеличением длительности лихорадки, длительно сохраняющимся лейкоцитозом, увеличением времени полной санации брюшной полости, увеличением показателя 7-дневной летальности. Применение же кларитромицина в комплексе антимикробной терапии приводит к деструкции и исчезновению биопленки.

Ключевые слова: распространенный перитонит, биопленка, ИБП-индекс брюшной полости, кларитромицин.

CLINICAL VALUE OF A BIOFILM AT PATIENTS WITH WIDESPREAD PERITONITIS

¹Plotkin L.L., ¹Parfyonov O. V., ¹Bordunovsky V.N., ²Shapko I.P.

¹ It is southern - the Ural state medical university (Chelyabinsk)

² Kostonaysky regional hospital (Kazakhstan)

Up to the present time the diffuse peritonitis remains one of the most frequent complications of the abdominal surgery. One of the problems, which arise in the course of treatment of peritonitis, is a problem of microbial resistance, which are the etiologic cause peritonitis, to the antimicrobial therapy. The article shows the relationship between the availability of a biofilm in patients with the diffuse peritonitis and the maintenance of the level of systemic inflammation, resulting reliable increase in the duration of fever, the long-term persistence of leukocytosis, the increase of the time of the complete rehabilitation of the abdominal cavity, the increase of 7-day case fatality rate. The use of clarithromycin in a complex of antimicrobial therapy leads to the destruction and disappearance of the biofilm.

Keywords: widespread peritonitis, biofilm, UPS index of an abdominal cavity, Clarithromycinum.

Введение. До настоящего времени распространенный перитонит остается одним из самых частых осложнений в абдоминальной хирургии. Несмотря на постоянное совершенствование методов лечения перитонита, результаты его нельзя признать утешительными. Средний показатель летальности при распространенном перитоните удерживается на уровне 40-50% и не имеет существенной тенденции к снижению на протяжении последних десятилетий [1-7]. Одна из проблем, которые возникают в ходе лечения перитонита, – это проблема резистентности микроорганизмов, являющихся этиологической причиной перитонита, к проводимой антимикробной терапии, включающая способность бактерий образовывать биопленку, которая может быть одной из причин резистентности [8; 9]. В настоящее время признан факт существования биопленки, который позволяет по-новому взглянуть на развитие инфекции в организме человека. Доказано, что биопленка способствует прогрессированию местных и системных воспалительных реакций [9; 10]. Возможность формирования биопленки следует учитывать в разработке схем лечения перитонита [11].

Цель исследования: найти зависимость клинического течения распространенного перитонита от наличия биопленки, образованной микроорганизмами в брюшной полости. Изучить клиническую эффективность антибактериальной терапии, направленной на эрадикацию биопленки.

Материалы и методы. Проведено проспективное рандомизированное контролируемое исследование, в которое было включено 40 пациентов с распространенным перитонитом, находящихся на лечении в клинике факультетской хирургии ЮУГМА в период 2010–2012 годов. Нулевая гипотеза: микробиологический феномен образования биопленки на органах брюшной полости в случае развития перитонита не влияет на его клиническое течение.

Критерий включения пациентов в исследования: старше 18 лет, распространенный перитонит, диагностируемый при первой операции, оценка по индексу брюшной полости (ИБП) более 13 баллов [12], более одной релапаротомии «по программе». Для включения в исследование было необходимо наличие всех критериев. Критерий исключения: отсутствие хоть одного из критериев включения.

Бактериальная пленка диагностировалась в мазках-отпечатках, которые брались на границе краев раны брюшной полости с помощью устройства для забора биологического материала, на который получен патент (№ 121144 от 20.10.12). Мазок окрашивался кристаллическим фиолетовым и верифицировался с помощью световой иммерсионной микроскопии (x 1000) [10]. Всем больным после лапаротомии забирался экссудат из брюшной полости на микробиологическое исследование. Микробиологическое исследование экссудата из брюшной полости проводилось стандартным методом. В комплексе лечения распространенного перитонита был применен кларитромицин 500 мг/сутки в течение трех дней. Препарат разрешен к применению Фармакопеей РФ.

Статистическая обработка материала проводилась общепринятыми методами вариационной статистики. Статистическая достоверность отличия количественных показателей определялась по Манну – Уитни (в случае отсутствия нормального распределения). Достоверность отличия качественных показателей определялась с помощью расчета χ^2 .

Результаты. Спектр микроорганизмов брюшной полости изменялся в зависимости от количества оперативных вмешательств. Посевы экссудата брюшной полости, взятые в момент проведения первой лапаротомии, дали рост в 52% случаев *E. coli* и в 38% представителей анаэробной флоры. На момент проведения третьей релапаротомии спектр микробной флоры в брюшной полости изменился. Доминирующими, по результатам посевов перитониального экссудата, стали неферментирующие микроорганизмы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.), а также *Klebsiella pneumoniae*. Для названных микроорганизмов характерна выраженная резистентность к антимикробной терапии, одной из причин которой

считается их склонность к образованию биопленки [9]. С целью верификации биопленки у 40 пациентов с распространенным перитонитом был сделан мазок – отпечаток с поверхности операционной раны. Вся субпопуляция изучаемых больных была рандомизирована в зависимости от значений ИБП на две группы. Первая группа (n=20) образована из пациентов с ИБП 13-18 баллов соответственно, вторая группа (n=20) из больных с ИБП 19-23 балла. В ходе исследования биопленка была определена в 27 мазках – отпечатках, что соответствовало 68% взятых мазков. В результате разделения пациентов в зависимости от величины ИБП получены данные о преимущественном образовании биопленки у больных с ИБП 19-23 балла. Биопленка была верифицирована у 9 (45%) пациентов первой группы и у 18 (90%) больных второй группы ($\chi^2 = 9,210$, $p=0,01$). Микробиологическое исследование перитонеального экссудата выявило наиболее частые бактерии, продуценты биопленки: *Ps. aeruginosa* (53%), *Acinetobacter spp.* (32%), грибы рода *Candida* (12%), *E. coli* (3%). С целью получения клинических данных о влиянии биопленки на течение распространенного перитонита были произвольно выбраны седьмые сутки после первой операции как одна из конечных точек оценки. Пациенты обеих групп были стратифицированы в зависимости от величин показателя тяжести состояния, выраженности воспаления, количества релапаротомий и показателя летальности (табл. 1).

Согласно полученным результатам исследования пациенты групп сравнения достоверно не отличались по средним значениям ИБП, хотя исходные величины ИБП, благодаря которым были образованы группы сравнения, в абсолютных значениях были отличимые.

Таблица 1

Оценка клинического значения биопленки на седьмые сутки после первой операции у пациентов с распространенным перитонитом (n=40)

Показатели	1 группа (n=20)	2 группа (n=20)	p
Наличие биопленки, абс. (%)	9 (45)	18 (90)	0,01
ИБП, баллы	15±1,5	21±2,0	0,18
АРАСНЕ II, баллы	15±2,1	24±2,2	0,03
Длительность лихорадки, сутки	3±1,6	8±0,5	0,04
Тахикардия, уд. в 1 ¹	90±6,5	102±10,4	0,2
Лейкоцитоз 10 ⁹ /л	12±1,5	17±0,5	0,05
Время полной санации брюшной полости, сутки	14±2,5	28±2,3	0,025

Показатель летальности, абс. (%)	3(15)	7 (35)	0,05
----------------------------------	-------	--------	------

Оценка данных таблицы показала, что пациенты с распространенным перитонитом, в случае образования в брюшной полости биопленки, характеризуются более тяжелым состоянием (достоверное различие в оценке по шкале APACHE II), у них более длительный период лихорадки и достоверно выше уровень лейкоцитоза. Полная санация брюшной полости была достоверно длительной по времени у пациентов второй группы.

В результате оценки показателя 7-дневной летальности последний оказался достоверно выше у пациентов второй группы, у которых в 90% случаев верифицировалась биопленка. Количество релапаротомий у пациентов второй группы было больше, хотя достоверных данных на седьмые сутки проспективного исследования получить было трудно.

Таким образом, биопленка, образованная патогенами брюшной полости у больных с распространенным перитонитом, не только является микробиологическим феноменом, но и обладает важным клиническим эффектом, заключающимся в персистенции инфекционного процесса брюшной полости. У когорты таких больных была более выражена тяжесть состояния и проявления системного воспаления. Наличие в брюшной полости биопленки является одной из возможных причин длительности наступления полной санации брюшной полости.

Результаты, полученные в ходе исследования, логично привели к возникновению проблемы микробиологической санации, направленной на уничтожения биопленки. С целью решения этой задачи было проведено проспективное простое рандомизированное исследование, в котором участвовало 27 пациентов с распространенным перитонитом, у которых в результате микробиологического исследования в брюшной полости была найдена биопленка. Все больные методом случайных чисел были разделены на две группы. В первую (опытную) группу вошли 15 пациентов, которым в схему антимикробной терапии был включен кларитромицин в дозе 500 мг/сутки. Вторую группу образовали 12 пациентов, получавших стандартную антимикробную терапию. Все больные были сопоставимы по возрасту, сопутствующей патологии, объему проводимого лечения. Индивидуальное согласие пациента на применения кларитромицина не бралось потому, что этот антибиотик разрешен Фармакопеей РФ. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты применения кларитромицина у пациентов с распространенным перитонитом (n=27)

Показатели	1 группа (n=15)	2 группа (n=12)	p
Время полной санации брюшной полости, сутки	11±2,0	16±0,4	0,05
Количество осложнений, абс. (%) (нагноение операционной раны, кишечные свищи, эвентрация)	3 (20)	6 (50)	0,025*
Показатель летальности, абс. (%)	4 (30)	5 (42)	0,07**
Длительность госпитализации, сутки	28±2,4	37±1,3	0,05

Примечание: * $\chi^2 = 9,208$; ** $\chi^2 = 8,067$

Применение кларитромицина в комплексе антимикробной терапии приводит к деструкции и исчезновению биопленки (рис. 1). Согласно полученным данным, в опытной группе отмечено достоверное снижение времени полной санации брюшной полости, количества осложнений и, соответственно, длительности госпитализации. Показатель летальности в опытной и контрольной группах был сопоставим.

Таким образом, эффективность кларитромицина, направленная на деструкцию биопленки, является еще одним фактором, подтверждающим клиническое значение биопленки в оценке риска повторных оперативных вмешательств у пациентов с распространенным перитонитом.

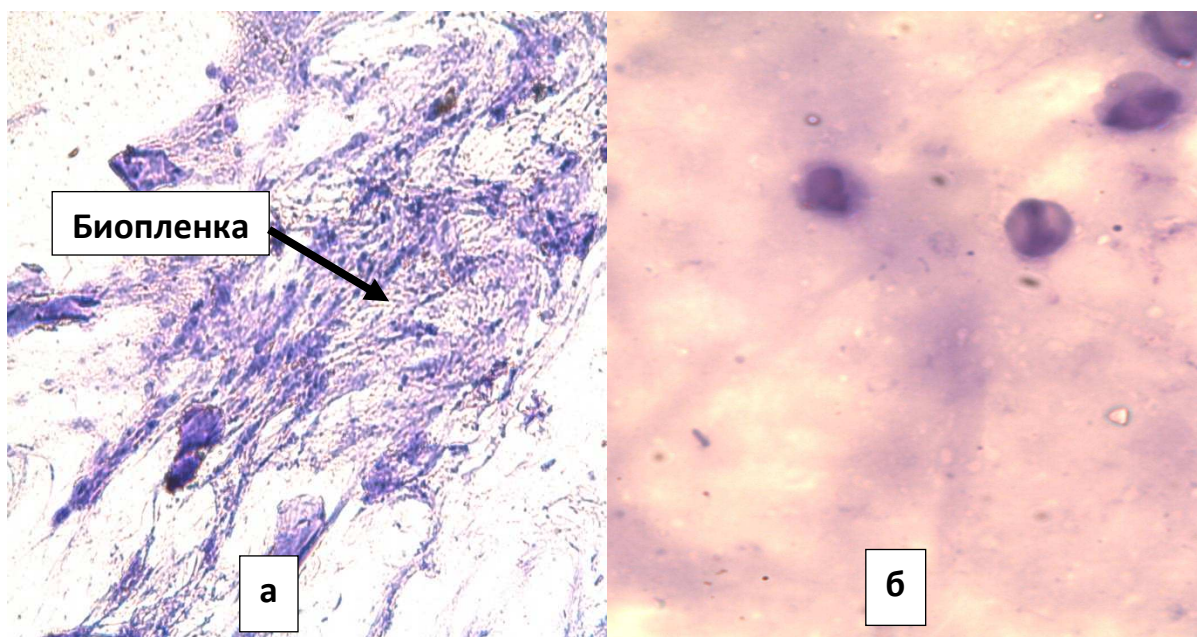


Рис. 1: а) мазок-отпечаток, полученный при исследовании больного с распространенным перитонитом (в посеве перитониального экссудата - *Ps. aeruginosa*); б) мазок-отпечаток после применения кларитромицина (окраска кристаллический фиолетовый x1000).

Ограничение исследования: малая выборка больных и короткий срок наблюдения не позволяют формировать заключение обо всей популяции пациентов с распространенным перитонитом.

Выводы. Биопленка, которую образуют патогены, в случае развития распространенного перитонита, поддерживает уровень системного воспаления, что проявляется достоверным увеличением длительности лихорадки ($p=0,01$), длительно сохраняющимся лейкоцитозом ($p=0,05$). Более того, удлиняется время полной санации брюшной полости ($p=0,025$) и увеличивается показатель 7-дневной летальности ($p=0,05$). Деструкция биопленки кларитромицином приводит к улучшению клинических показателей: достоверному уменьшению времени полной санации брюшной полости ($p=0,05$), снижению количества осложнений ($p=0,025$) и сокращению длительности госпитализации ($p=0,05$).

Список литературы

1. Киршина О.В. Лапаротомия в лечении распространённого перитонита // Хирургия. - 2000. - № 3. - С. 30-32.
2. Лаберко Л.А. Индивидуальный прогноз тяжести течения послеоперационного периода и исхода распространенного перитонита / Л.А. Лаберко, Н.А. Кузнецов, Г.В. Родоман и др. // Хирургия. – 2005. - № 2. – С. 29–33.
3. Савельев В.С. Выбор режима этапного хирургического лечения распространенного перитонита / В.С. Савельев, М.И. Филимонов, Б.Р. Гельфанд, П.В. Подачин, С.В. Чубченко // Анналы хирургии. – 2009. - № 4. – С. 5-10.
4. Руднов В.А. Бактериальная биопленка: механизмы формирования, структурные особенности и клиническая значимость / В.А. Руднов, А.А. Никитина // Интенсивная терапия. – 2010. - № 1. – С. 1-8.
5. Сидоренко С.В. Роль бактериальной пленки в патологии человека // Инфекции в хирургии. - 2004. - № 2. – С. 16-20.
6. Фадеев С.Б. Способность возбудителей флегмоны мягкой тканей формировать биопленку / С.Б. Фадеев, Н.В. Немцов, Н.Б. Переднова и др. // Инфекции в хирургии. – 2009. - № 2. – С. 41-45.
7. Billing R.P. Treatment of acute bacterial peritonitis // Scand. J. Inf. Dis. – 2010. – Vol. 52. – P. 7-10.

8. Chromik A.M. Identification of patients at risk for development of tertiary peritonitis on a surgical intensive care unit / A.M. Chromik, A.Meiser, J. Hölling et al. // J. Gastrointest Surg. – 2009. – Vol. 13. - № 7. – P. 1358-1367.
9. Maloman E. Peritoneal biofilms: microscopic features / E. Maloman, C. Lepadatu, A. Ciornăiet al. // Chirurgia (Bucur). - 2007. – Vol. 102. - № 1. – P. 65-70.
10. Van Goor H. Complications of planned relaparotomy in patients with several general peritonitis // Eur. J. Surg. – 2012. – Vol. 163. – P. 88-91.

Рецензенты:

Бычковский В.А., д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии ГБОУ ВПО «ЮУГМУ Минздрава РФ», г. Челябинск.

Гамза В.Н., д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии ГБОУ ВПО «ЮУГМУ Минздрава РФ», г. Челябинск.