

Т.В. Фадеева¹, И.А. Шурыгина^{1,2}, М.Г. Шурыгин^{1,2}, А.В. Ветохина³, Л.М. Владимирова³,
Н.И. Аюшинова¹, А.И. Панасюк³

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖИВОТА

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», Иркутск, Россия

² ФГБУН Иркутский научный центр СО РАН, Иркутск, Россия

³ ГБУЗ «Иркутская область «Знак почёта» областная клиническая больница», Иркутск, Россия

Показана важность адекватной и своевременной микробиологической диагностики внебольничного острого аппендицита в условиях стационара. Проведён сравнительный анализ результатов микробиологических исследований выпота и биоптата. Установлено, что наиболее информативным материалом является биоптат. В структуре клинически значимой микрофлоры преобладают *E. coli*, неферментирующие грамотрицательные бактерии и *Bacteroides* spp. Крайне неблагоприятным фактором является появление полирезистентных штаммов.

Ключевые слова: острый аппендицит, диагностика, микрофлора, выпот, биоптат, антибиотикорезистентность

MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF PYOINFLAMMATORY ABDOMINAL DISEASES

T.V. Fadeeva¹, I.A. Shurygina^{1,2}, M.G. Shurygin^{1,2}, A.V. Vetokhina³, L.M. Vladimirova²,
N.I. Ayushinova¹, A.I. Panasyuk³

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russia

² Irkutsk Scientific Center SB RAS, Irkutsk, Russia

³ Irkutsk Regional Clinical Hospital, Irkutsk, Russia

The aim of the work was to establish the significance of complex bacteriological research in the diagnostics of acute appendicitis and to determine an optimal material for the research based on the findings.

We examined 19 patients with acute phlegmonous or acute gangrenous appendicitis (males, aged 18–60 years). We performed bacteriological research of abdominal exudate ($n = 19$) and biopsy specimen ($n = 19$) of appendix wall taken before opening the lumen of the intestine. Both abdominal exudate and appendix wall specimen were taken at the same time. Aerobic and anaerobic microorganisms were detected and identified, antimicrobial susceptibility was tested. In total, we detected 25 strains of aerobic and 13 strains of anaerobic microorganisms.

It has been established that a biopate was most informative for testing (68.4 %); the parallel study of an abdominal exudate gave positive results in 21.1 % of cases. In the structure of clinically significant microflora dominated *E. coli* (43.3 %), then went nonfermentative gram-negative bacteria (13.3 %) and *Bacteroides* spp. (16.7 %). We marked growing resistance of detected strains of gram-negative bacteria to some antibiotics. For instance, 62 % of detected *E. coli* strains were resistant to ampicillin, 25 % – to ciprofloxacin. 92 % of strains were resistant to cefepime, 93 % – to ceftriaxone, 77 % – to Amoxiclav, 67 % – to gentamicin, 90 % – to tobramycin. From one biopate a strain of *E. coli* ESBL was separated.

The study of intraoperative biopate of appendix wall increases effectiveness of microbiological diagnostics in comparison with the abdominal exudate research.

Key words: acute appendicitis, diagnostics, microscopic flora, exudate, biopsy specimen, antibiotic resistance

Несмотря на достигнутые успехи в борьбе с абдоминальной хирургической инфекцией, внедрение новых мининвазивных технологий, вопросы профилактики, диагностики и лечения гнойно-деструктивных процессов живота по-прежнему остаются сложной задачей клинической медицины. Растёт число послеоперационных гнойных осложнений, достигающее 5–7 % от всех хирургических вмешательств на органах брюшной полости. Сохраняется высокая летальность [1, 2, 3, 11]. Среди хирургических заболеваний острый аппендицит является наиболее частым заболеванием органов брюшной полости, требующим экстренной хирургической помощи. Из общего числа госпитализированных с острыми заболеваниями органов брюшной полости случаи острого аппендицита зарегистрированы у 20–40 %. Количество послеоперационных осложнений при данной патологии остается достаточно высоким – 5–9 %, летальность – 0,1–0,3 % [4, 8, 12, 14].

Несомненно, что одним из ведущих фактором в возникновении и развитии воспалительного процесса у больных острым аппендицитом является инфекционный агент. В связи с этим во время операции по поводу острого аппендицита всегда требуется проведение бактериологического исследования, которое в идеале должно проводиться как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Микробиологические исследования являются основой идентификации возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, позволяя своевременно оптимизировать назначение антибиотиков для рациональной антибактериальной терапии [6, 7, 10].

Важность микробиологической оценки, своевременной микробиологической диагностики заключается прежде всего в получении адекватного образца для микробиологического исследования. Основным критерием наличия абдоминальной инфекции считается положительный результат микробиологиче-

ского исследования экссудата. У пациентов с перфоративным или гангренозным аппендицитом многие хирурги вообще не производят забор материала для определения возбудителя. Согласно рекомендациям [4, 14], на культуральное исследование при остром аппендиците направляется только один образец (жидкость или ткань). При отсутствии экссудата берется посев с висцеральной брюшины червеобразного отростка или содержимое просвета червеобразного отростка (в большинстве случаев это гной).

Этот вопрос требует дальнейшего изучения при остром аппендиците, что и определило **цель** нашего исследования – обосновать значение комплексного бактериологического исследования в диагностике острого аппендицита и на основании полученных данных определить оптимальный материал для исследования при данной патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 19 больных с острым флегмозным или острым гангренозным аппендицитом (мужчины, возраст 18–60 лет). Проведено бактериологическое исследование взятых одновременно выпота из брюшной полости ($n = 19$) и биоптата стенки аппендикса ($n = 19$), полученного до вскрытия просвета кишечника.

Выпот из брюшной полости в количестве 0,5 мл забирали в транспортную систему фирмы COPAN «Swab transport system» (США). Биоптат – кусочек стенки аппендикса, иссеченный до вскрытия просвета кишечника, размером 3–4 × 3–4 × 3–4 мм, – помещали в другую пробирку (транспортная система фирмы COPAN «Swab transport system» (США)) с помощью тампона вглубь транспортной среды. В дневное время взятый материал немедленно доставлялся в бактериологическую лабораторию. Материал, забранный во время операции в вечернее и ночное время, для исключения роста микрофлоры хранили в транспортных тубах в холодильнике при +4 °C не более 24 часов.

Бактериологический метод включал выделение и идентификацию аэробных и анаэробных микроорганизмов с использованием высокоселективных сред, диагностических экспресс-тестов и полуавтоматического микробиологического анализатора «АТВ Expression» (Biomerieux, Франция). Определение чувствительности к антимикробным препаратам осуществляли, согласно МУК 4.2.1890-04, диско-диффузионным методом в среде Мюллера – Хинтона (Becton, Dickinson and Company, США) и методом пограничных концентраций в жидкой среде с помощью баканализатора. Обнаружение БЛРС (бета-лактамаз расширенного спектра) у грамотрицательных бактерий проводили с помощью фенотипического метода и метода «двойных дисков». Всего выделено 25 штаммов аэробных и 13 штаммов анаэробных микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для абдоминальных хирургических инфекций характерна полимикробная этиология. При этом встречаются как грамотрицательные, так и грамположительные аэробные и анаэробные бактерии.

Нами установлено, что наиболее информативным материалом для исследования является биоптат: выделение возбудителей в данном случае составило 68,4 %, в то время как исследование выпота в брюшную полость дало положительный результат в 21,1 % случаев. Непосредственными возбудителями воспаления являются разнообразные микроорганизмы – 25 аэробов и 13 анаэробов. Бактериальные монокультуры выделялись в 41,2 % случаев. Также в 41,2 % случаев идентифицированы аэробно-анаэробные ассоциации микроорганизмов, что следует учитывать при назначении антибиотикотерапии. В среднем определялись 3–4 штамма микроорганизмов.

В биоптате аэробная флора представлена прежде всего *E. coli* (43,3 %), псевдомонадами (13,3 %), энтерококками (*E. faecalis* – 3,3 %), стрептококками (*S. oralis* – 3,3 %) в количестве от $< 10^3$ до $> 10^7$ КОЕ/г. Анаэробная флора представлена бактероидами (*Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. thetaiotaomicron* – 16,7 %), превотеллами (*Prevotella buccae* – 3,3 %), актиноциетами (*Actinomyces meyeri* – 6,7 %) и анаэробными кокками (3,3 %) в количестве от 10^3 до 10^5 КОЕ/г.

Микрофлора выпотов представлена штаммами *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. oralis* (от $< 10^3$ до 10^3 КОЕ/мл), *B. thetaiotaomicron*, *E. lentum* (10^5 КОЕ/мл).

При остром аппендиците антибактериальная терапия является обязательной. Адекватная эмпирическая антибактериальная терапия приводит к снижению летальности и частоты осложнений [5, 13, 15]. По результатам исследования высокая активность в отношении *E. coli* определена у полимиксина (100 %), имипенема и меропенема (100 %), сульперазона (100 %), амикацина (100 %), цефтазидима (98 %). В то же время нами отмечено возрастание резистентности выделенных штаммов грамотрицательных микроорганизмов к некоторым антибиотикам, например, выявление штаммов *E. coli*, резистентных к ампициллину (62 %), ципрофлоксацину (25 %). К цефепиму чувствительны только 92 % штаммов, к цефтриаксону – 93 %, к амоксиклаву – 77 %, к гентамицину – 67 %, к тобрамицину – 90 %. Из одного биоптата (при отрицательном росте в выпоте) выделен штамм *E. coli* БЛРС, чувствительный только к сульперазону, имипенему и меропинему. Следовательно, в случае внебольничного аппендицита также следует учитывать риск распространения полирезистентных возбудителей, в том числе вырабатывающих β -лактамазы. Нами выявлена высокая частота выделения псевдомонад (13,3 %) при внебольничном остром аппендиците, что согласуется с представленными литературными данными. Неферментирующие грамотрицательные бактерии (*P. aeruginosa*, *C. testosteroni*, *A. hydrophila/caviae*) проявили стопроцентную чувствительность к тестируемым антибиотикам.

Многочисленные исследования свидетельствуют о высокой чувствительности анаэробной флоры к метронидазолу, карбапенемам, некоторым β -лактамам [5, 9, 13, 15]. Согласно проведенной нами экспертной оценке антибиотикорезистентности верифицированной анаэробной микрофлоры, к пенициллину чувствительны только 67 % штаммов, к ампициллину – 75 %, к цефазолину – 67 %, к цефокситину – 50 %, к

имипенему – 83 %. Выделенные анаэробные штаммы демонстрировали стойкую чувствительность к метронидазолу.

Результаты исследований активности хинолонов в отношении анаэробов группы *B. fragilis* противоречивы. В нашем случае к ципрофлоксацину чувствительны только 33 % штаммов *Bacteroides spp.* Линкозамиды также обладают активностью против грамотрицательных анаэробов и обычно рекомендуются в комбинированном использовании, но следует учитывать тенденции к росту устойчивости бактероидов к этим антибиотикам. К широко используемому в лечении анаэробной инфекции клиндамицину чувствительны лишь 25 % выделенных штаммов. В связи с этим в лечении острого аппендицита нежелательно использование клиндамицина из-за возрастающей резистентности к нему анаэробной микрофлоры, особенно микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis*. Данные по этиологической структуре ведущих возбудителей и уровню их антибиотикорезистентности позволили своевременно скорректировать тактику этиотропной антибактериальной терапии.

ВЫВОДЫ

Полученные в работе данные расширяют представления о характере микрофлоры при остром аппендиците и её значении в развитии этой хирургической патологии. Непосредственные возбудители воспаления – разнообразные микроорганизмы, находящиеся в стенке отростка. Клинически значимыми из них являются представители семейства *Enterobacteriaceae*, в особенности *E. coli* (43,3 %), неферментирующие грамотрицательные бактерии (13,3 %) и анаэробы (особенно *Bacteroides spp.* – 16,7 %). Результаты наших исследований подтвердили, что основной путь инфицирования стенки аппендикса – энтерогенный. Перечисленная полимикробная флора является микрофлорой желудочно-кишечного тракта человека, значительная часть которой и принимает участие в инфекционном процессе. Крайне неблагоприятным фактором является снижение её чувствительности к современным антимикробным препаратам.

Показано, что при наличии инфицированного червеобразного отростка (68,4 %), бактериальное обсеменение брюшной полости (выпота) при остром аппендиците является незначительным (21,1 %) или вовсе отсутствует. В связи с этим своевременная микробиологическая оценка гнойно-воспалительных заболеваний живота, основанная на оптимизации интраоперационного забора материала для исследования, позволила в 3 раза повысить результативность микробиологической диагностики, обеспечить адекватную антибиотикотерапию и улучшить исходы лечения данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Абдоминальная хирургическая инфекция (классификация, диагностика, антимикробная терапия): Российские национальные рекомендации / Под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда. – М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2011. – 99 с.

Savelyev VS, Gelfand BR (eds.) (2011). Abdominal surgical infection (classification, diagnostics, antimicrobial therapy): Russian national recommendations [Abdominal'naya khirurgicheskaya infektsiya (klassifikatsiya, diagnostika, antimikrobnaya terapiya): Rossiyskie natsional'nye rekomendatsii], 99.

2. Волков А.Г., Заривчацкий М.Ф. Микробный пейзаж абдоминальных хирургических инфекций у больных многопрофильного стационара // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т. 31, № 1. – С. 53–57.

Volkov AG, Zarivchatsky MF (2014) Microbial picture of abdominal surgical infections in patients of multifield hospital [Mikrobnyy peyzazh abdominal'nykh khirurgicheskikh infektsiy u bol'nykh mnogoprofil'nogo statsionara]. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*, 31 (1), 53–57.

3. Гостищев В.К. Инфекции в хирургии. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2007. – 761 с.

Gostishchev VK (2007). Infections in surgery [Infektsii v khirurgii], 761.

4. Кригер Д.Г., Фёдоров А.В., Воскресенский П.К., Дронов А.Ф. Острый аппендицит. – М.: Медпрактика, 2002. – 244 с.

Kruger DG, Fyodorov AV, Voskresensky PK, Dronov AF (2002). Acute appendicitis [Ostryy appenditsit], 244.

5. Сковлев С.В. Абдоминальные инфекции: значение анаэробной микрофлоры в обосновании режимов эмпирической абдоминальной терапии // РМЖ. – 2006. – Т. 14, № 15. – С. 1066–1068.

Skovlev SV (2006). Abdominal infections: significance of anaerobic microflora in the establishment of empirical abdominal therapy modes [Abdominal'nye infektsii: znachenie anaerobnoy mikroflory v obosnovanii rezhimov empiricheskoy abdominal'noy terapii]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, 14 (15), 1066–1068.

6. Фадеева Т.В., Садах М.В., Верещагина С.А., Григорьев Е.Г. Данные микробиологического мониторинга и антибактериальной терапии инфицированного панкреонекроза // Инфекции в хирургии. – 2010. – № 3. – С. 17–23.

Fadeeva TV, Sadakh MV, Vereshchagina SA, Grigoriev EG (2010) Data of microbiological monitoring and antibacterial therapy of infected pancreonecrosis [Dannye mikrobiologicheskogo monitoringa i antibakterial'noy terapii infitsirovannogo pankreonekroza]. *Infektsii v khirurgii*, (3), 17–23.

7. Фадеева Т.В., Верещагина С.А., Филатова Л.С., Садах М.В., Григорьев Е.Г. Микробиологическая оценка послеоперационной раневой инфекции в многопрофильной хирургической клинике // Инфекции в хирургии. – 2012. – № 4. – С. 14–20.

Fadeeva TV, Vereshchagina SA, Filatova LS, Sadakh MV, Grigoriev EG (2012). Microbiological evaluation of post-operative wound infections in multifield surgical hospital [Mikrobiologicheskaya otsenka posleoperatsionnoy raneyoy infektsii v mnogoprofil'noy khirurgicheskoy klinike]. *Infektsii v khirurgii*, (4), 14–20.

8. Шатобалов В.К. Аппендицит: этиология, патогенез, классификация, а также варианты его рецидивирующего и хронического течения // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2013. – № 4. – С. 87–91.

Shatobalov VK (2013). Appendicitis: etiology, pathogenesis, classification, and its recurrent and chronic

course [Appendicitis: etiologiya, patogenez, klassifikatsiya, a takzhe varianty ego retsidiviruyushchego i khronicheskogo techeniya]. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*, (4), 87-91.

9. Aldridge KE, O'Brien M (2002). In vitro susceptibilities of the *Bacteroides fragilis* group species: change in isolation rates significantly affects overall susceptibility data. *J. Clin. Microbiol.*, (40), 4349-4352.

10. Brook I, Frazier EH (2000). Aerobic and anaerobic microbiology in intra-abdominal infections associated with diverticulitis. *J. Med. Microbiol.*, (49), 827-830.

11. Bratzler DW, Hunt DR (2006). The surgical infection prevention and surgical care improvement projects: national initiatives to improve outcomes for patients having surgery. *Clin. Infect. Dis.*, (43), 322-330.

12. Gladman MA, Knowles CH, Gladman LJ, Payne JG (2004). Intra-operative culture in appendicitis: traditional practice challenged. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, (86), 196-201.

13. Maltezou HC, Nikolaidis P, Lebesii E, Dimitriou L, Androulakis E, Kafetzis DA (2001). Piperacillin/tazobactam versus cefotaxime plus metronidazole for treatment of children with intra-abdominal infections requiring surgery. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, (20), 643-646.

14. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, Goldstein EJ, Baron EJ, O'Neill PJ, Chow AW, Dellinger EP, Eachempati SR, Gorbach S, Hilfiker M, May AK, Nathens AB, Sawyer RG, Bartlett JG (2010). Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Surg. Infect.*, (11), 79-109.

15. Styrdud J, Eriksson S, Nilsson I, Ahlberg G, Haapaniemi S, Neovius G, Rex L, Badume I, Granström L (2006). Appendectomy versus antibiotic treatment in acute appendicitis: a prospective multicenter randomized controlled trial. *World J. Surg.*, (30), 1033-1037.

Сведения об авторах Information about the authors

Фадеева Татьяна Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией функциональной геномики и межвидового взаимодействия микроорганизмов ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; e-mail: fadeevavt@pochta.ru)

Fadeeva Tatyana Vladimirovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Functional Genomics and Microbial Interspecies Interaction at Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, Bortsov Revolutsii str., 1; e-mail: fadeevavt@pochta.ru)

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией функциональной морфологии и патофизиологии клетки ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», главный научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН (тел.: 8 (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com)

Shurygina Irina Aleksandrovna – Doctor of Medical Sciences, Deputy Director for Science of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Chief Research Officer of the Department of Biomedical Researches and Technologies of Irkutsk Scientific Center SB RAS (тел.: +7 (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com)

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», главный научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН (e-mail: mshurygin@gmail.com)

Shurygin Mikhail Gennadyevich – Doctor of Medical Sciences, Head of Research Laboratory Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Chief Research Officer of the Department of Biomedical Researches and Technologies of Irkutsk Scientific Center SB RAS (e-mail: mshurygin@gmail.com)

Ветохина Антонина Владиславовна – заведующая бактериологической лабораторией Центра лабораторных исследований ГБУЗ «Иркутская областного «Знак почёта» областная клиническая больница» (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 40-79-02; e-mail: an.vetohina@yandex.ru)

Vetokhina Antonina Vladislavovna – Head of the Bacteriologic Laboratory at the Center of Laboratory Research of Irkutsk Regional Clinical Hospital (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; тел.: 8 (3952) 40-79-02; e-mail: an.vetohina@yandex.ru)

Владимирова Людмила Михайловна – врач-бактериолог бактериологической лаборатории Центра лабораторных исследований ГБУЗ «Иркутская областного «Знак почёта» областная клиническая больница» (e-mail: lyuda.vladimirova2017@yandex.ru)

Vladimirova Ludmila Mikhaylovna – bacteriologist at the Bacteriologic Laboratory of the Center of Laboratory Research of Irkutsk Regional Clinical Hospital (e-mail: lyuda.vladimirova2017@yandex.ru)

Аюшинова Наталья Ильинична – кандидат медицинских наук, врач отделения гнойной хирургии № 1 ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (e-mail: katnatlove@mail.ru)

Ayushinova Natalya Ilyinichna – Candidate of Medical Sciences, a doctor at the Unit of Purulent Surgery N 1 at Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (e-mail: katnatlove@mail.ru)

Панасюк Александр Иосифович – врач отделения экстренной хирургии ГБУЗ «Иркутская областного «Знак почёта» областная клиническая больница» (e-mail: pana@mail.ru)

Panasyuk Aleksandr Iosifovich – a doctor at the Emergency Surgery Unit at Irkutsk Regional Clinical Hospital (e-mail: pana@mail.ru)