

ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АНАЭРОБНОЙ НЕКЛОСТРИДАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ ИНФИЦИРОВАННОМ ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ

А. К. Гагуа^{1*}, доктор медицинских наук,
И. М. Иваненков²,
А. Н. Терехов¹

¹ ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8

² ОБУЗ «Ивановская областная клиническая больница», 153040, Россия, г. Иваново, ул. Любимова, д. 1

РЕЗЮМЕ Представлены результаты лечения 52 больных с инфицированным панкреонекрозом, для ранней диагностики которого использована газожидкостная хроматография. Изучена ее эффективность в качестве экспресс-метода выявления анаэробной неклостридиальной инфекции. Установлено ведущее значение анаэробной микрофлоры при наиболее тяжелых формах инфицированного панкреонекроза.

Ключевые слова: инфицированный панкреонекроз, диагностика, анаэробная неклостридиальная инфекция.

* Ответственный за переписку (corresponding author): e-mail: sanata@dsn.ru.

Лечение острого панкреатита (ОП) остаётся сложной проблемой абдоминальной хирургии [2, 4, 10]. Принятая в Атланте в 1992 г. единая классификация ОП способствовала использованию консервативно-выжидательной тактики [11]. В последние годы решением Международной ассоциации панкреатологов и Европейского панкреатологического клуба течение ОП определено как фазовое [8, 12, 13]. Ранняя фаза (первая неделя от начала ОП) характеризуется проявлениями органной недостаточности, являющейся следствием системного воспалительного ответа на некроз тканей. В позднюю фазу заболевание или разрешается (отёчный панкреатит без некроза), или прогрессирует, переходя в длительный некротический процесс. В эту фазу отмечается снижение иммунитета и возникновение осложнений, прежде всего в виде инфицированного панкреонекроза (ИПН). Септические осложнения в результате инфицирования очагов некроза яв-

ляются одной из главных причин летального исхода. Идентификация перехода панкреонекроза (ПН) в инфицированную форму осуществляется по клиническим и лабораторным данным, маркерам повреждения поджелудочной железы (ПЖ), системам оценки тяжести состояния пациента, результатам инструментальных обследований [6]. Однако эти критерии не всегда являются специфическими и чувствительными для ранней диагностики инфекционного процесса в ПЖ. Поэтому до настоящего времени своевременная диагностика ИПН представляет значительные трудности [9].

В качестве экспресс-метода диагностики инфекции все большее распространение получает газожидкостная хроматография [5], отличающаяся от традиционного бактериологического исследования высокой точностью и чувствительностью, а главное – быстротой получения результата. Исследования уровня летучих жирных кислот (ЛЖК)

Gagua A.K., Ivanenkov I.M., Terekhov A.N.

GAS LIQUID CHROMATOGRAPHY IN DIAGNOSIS OF ANAEROBIC NON-CLOSTRIDIAL INFECTION IN INFECTED PANCREONECROSIS

ABSTRACT 52 patients with infected pancreonecrosis were examined and treated; the obtained results were adduced. Gas liquid chromatography was used for early diagnosis of infected pancreonecrosis. The data upon the efficiency of the gas liquid chromatography as an express technique for the identification of non-clostridial anaerobic infection were presented. The decisive importance of anaerobic microflora was revealed in the most severe forms of infected pancreonecrosis.

Key words: infected pancreonecrosis, diagnosis, anaerobic non-clostridial infection.

и других токсических метаболитов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией в биоптатах ПЖ и периферической крови доказали роль анаэробной неклостридиальной инфекции в развитии ИПН [3]. Однако в периферической крови была изучена лишь общая концентрация ЛЖК, являющихся метаболитами только анаэробных микроорганизмов. При этом не определено значение отдельных ЛЖК, являющихся метаболитами не только анаэробной, но и аэробной микрофлоры, которая также принимает активное участие в инфицировании очагов ПН [7].

Цель работы – оценка эффективности определения уровня ЛЖК в диагностике инфицированных форм ПН, вызванных анаэробной неклостридиальной микрофлорой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с 2009 по 2014 г. в хирургическом отделении для взрослых Ивановской областной клинической больницы пролечено 108 больных с ПН (возраст – от 21 до 84 лет, в среднем $44,9 \pm 2,1$ года), среди которых было 86 (79,6%) мужчин и 22 (20,4%) женщины. Причинами ПН были: алкоголизм – у 72 (66,6%), желчнокаменная болезнь – у 20 (18,5%), травма железы – у 4 (3,7%), осложнение ЭРХПГ с ЭПСТ – у 2 (1,9%); причины не установлены у 10 (9,3%) пациентов. Основную группу составили 52 человека с диагностированным ИПН, контрольную – 56 больных со стерильным ПН (СПН). В работе использовалась международная классификация ОП (Атланта, 1992) с учётом пересмотренных и дополнительных критериев, предложенных на Конгрессе Международной ассоциации панкреатологов в Индии (Кочин, 2011) [12].

Диагноз ПН устанавливали на основании клинических и лабораторных данных, а также результатов УЗИ, МСКТ, МРТ. Степень тяжести состояния пациентов оценивалась по интегральным шкалам Glasgow (Imrie, 1984) и APACHE-II (1984). Выполнялось бактериологическое исследование содержимого острых жидкостных скоплений и биопсийного материала. Первоначально проводилось интенсивное консервативное лечение.

После установления диагноза ПН у пациентов производили забор венозной крови в объеме 0,5 мл. Затем, на фоне лечения, в среднем через 3 дня (в зависимости от состояния больного) проводили повторные исследования крови. Подготовка образцов включала добавление к указанному количеству крови 1 капли 10%-ной серной кислоты. Газожидкостную хроматографию для количественного определения уровня уксусной, пропионовой, масляной и изовалериановой кислот выполняли в изотермическом режиме при температуре 200°C на стеклянной колонке длиной 1,0 м (диаметром 3 мм), заполненной «Порапаком» Q (США) и ортофосфорной кислотой. Использовался хроматограф МОЗХ, модель 3700, с пламенно-ионизационным детектором и газом-носителем – гелием. Идентификацию и количественное определение содержания кислот осуществляли при помощи аналитических стандартов [1].

Полученные данные обработаны статистически с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (M), ошибку средней (m). Количественные параметры сравнивали, используя t-критерий достоверности Стьюдента. Для установления взаимосвязей между изучаемыми показателями рассчитывали коэффициент парной корреляции (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 56 пациентов контрольной группы после комплексного обследования с определением уровня ЛЖК диагностирован СПН, а у больных основной группы – ИПН. При этом выявлены статистически значимые различия уровней ЛЖК (табл. 1).

В основной группе диагностированы следующие осложнения: панкреатогенный абсцесс – в 8 случаях (15,4%), парапанкреатическая флегмона – в 16 (30,8%), паракольная флегмона – в 14 (26,9%), тазовая флегмона забрюшинной клетчатки – в 14 (26,9%). Выявлена прямая корреляция между концентрацией уксусной кислоты и распространенностью ИП ($r = 0,98, p < 0,01$). При этом минимальное повышение уровня уксусной кислоты отмечалось у пациентов с панкреатогенным абсцессом, а максимальное – у больных с распространенной забрюшинной флегмоной

Таблица 1. Средние уровни летучих жирных кислот при стерильном и инфицированном панкреонекрозе, $M \pm m$

Форма панкреонекроза	ЛЖК, ммоль/л			
	Уксусная	Пропионовая	Масляная	Изовалериановая
Стерильный	$0,049 \pm 0,007^*$	$0,0055 \pm 0,0005^*$	$0,0022 \pm 0,0002^*$	$0,00012 \pm 0,00002^{**}$
Инфицированный	$0,425 \pm 0,031$	$0,0255 \pm 0,0039$	$0,0038 \pm 0,0003$	$0,00026 \pm 0,00005$

Примечание. Статистическая значимость различий между группами: * – $p < 0,001$, ** – $p = 0,008$.

(табл. 2). Подобной закономерности в отношении пропионовой, масляной и изовалериановой кислот не установлено. Это объясняется тем, что уксусная кислота является общим метаболитом аэробной и анаэробной флоры. У всех больных концентрация уксусной кислоты была больше 0,11 ммоль/л.

По данным бактериологического исследования пункционного и биопсийного материалов выявлена аэробная и анаэробная флора (табл. 3). При этом в 25 (48,1%) наблюдениях преобладала аэробно-анаэробная ассоциация микроорганизмов. Наличие только аэробной флоры установлено в 23 (44,2%), а анаэробной – в 4 (7,7%) случаях.

Из анаэробных возбудителей инфекции выявлены: *Bacteroides* spp. (55,2%), *Peptococcus* (17,3%), *Peptostreptococcus* (13,8%), грамположительные палочки (10,3%) и *Fusobacteria* (3,4%). У 29 (55,8%) человек с выявленной анаэробной неклостридиальной микрофлорой при ретроспективном анализе установлено также значительное повышение концентрации любой из этих кислот:

пропионовой – более 0,0095 ммоль/л, масляной – более 0,0035 ммоль/л, изовалериановой – более 0,0003 ммоль/л.

Диапазон оперативных вмешательств соответствовал общепринятой в последние годы хирургической тактике. Для лечения 23 больных ИПН с аэробной флорой, у которых преобладали ограниченные формы ИПН (панкреатический абсцесс – у 7, парапанкреатическая флегмона – у 10, паракольная флегмона – у 4), применялись пункционно-дренирующие, минимально инвазивные или открытые вмешательства, преимущественно в виде люмботомии. Несмотря на проводимую интенсивную терапию и санацию очагов инфекции, 4 человека погибли. У 29 человек с выявленной анаэробной неклостридиальной инфекцией в очагах деструкции отмечалось наиболее обширное поражение ПЖ и забрюшинной клетчатки, что потребовало выполнения одного из вариантов открытого оперативного вмешательства, а также этапных санаций. В 8 случаях наступил летальный исход вследствие абдоминального сепсиса и полиорганной недостаточности. Нарастающая тя-

Таблица 2. Концентрация уксусной кислоты при гнойных осложнениях инфицированного панкреонекроза

Осложнения ИПН	Уксусная кислота, ммоль/л	
	Среднее значение, $M \pm m$	Диапазон значений
ПА	0,200 ± 0,026	0,11–0,25
Парапанкреатическая флегмона	0,330 ± 0,018	0,26–0,40
Паракольная флегмона	0,440 ± 0,011	0,41–0,55
Тазовая флегмона	0,610 ± 0,034	Более 0,55

Таблица 3. Спектр микрофлоры при инфицированном панкреонекрозе

Микрофлора	Частота выявления	
	абс.	%
<i>Escherichia coli</i>	13	25,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	15,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	13,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	11,5
<i>Klebsiella pneumonia</i>	6	11,5
<i>Streptococcus</i> spp.	4	7,7
<i>Proteus vulgaris</i>	3	5,8
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1,9
Ассоциации аэробов	10	19,2
<i>Bacteroides</i> spp.	16	30,8
<i>Peptococcus</i>	5	9,6
<i>Peptostreptococcus</i>	4	7,7
Грамположительные палочки	3	7,7
<i>Fusobacteria</i>	1	1,9

жесть их состояния сопровождалась постоянным повышением показателей ЛЖК. Следовательно, общая летальность составила 23,1%. При этом в структуре летальности значительную часть составили пациенты ИПН с участием анаэробной микрофлоры.

ВЫВОДЫ

Сравнение данных морфологических и бактериологических исследований с результатами

определения ЛЖК показало их соответствие во всех наблюдениях. При этом изменение показателей ЛЖК при ПН позволяет своевременно диагностировать начальную фазу инфицирования ПН и определить характер микрофлоры. С учётом установленных нами пороговых значений ЛЖК газожидкостную хроматографию можно использовать в качестве экспресс-метода диагностики анаэробной неклостридиальной флоры, вызывающей наиболее тяжёлые формы ИПН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акайзин, Э. С. Новые возможности экспресс-диагностики возбудителей гнойной инфекции и быстрой оценки эффективности лечения / Э. С. Акайзин, В. В. Булыгина // *Клин. лаб. диагностика*. – 1999. – № 6. – С. 45–47.
2. Вопросы классификации острого панкреатита / В. А. Кубышкин [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 86–94.
3. Газовая хроматография в диагностике и прогнозе течения деструктивного панкреатита / А. Ц. Буткевич [и др.] // *Клин. медицина*. – 2007. – № 3. – С. 43–46.
4. Конфигурация некроза поджелудочной железы и дифференцированное лечение острого панкреатита / Т. Г. Дюжева [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2013. – Т. 18, № 1. – С. 92–102.
5. Минушкин, О. Н. Возможности и перспективы изучения короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта на примере заболеваний кишечника и органов гепатобилиарной системы / О. Н. Минушкин, М. Д. Ардацкая // *Клин. лаб. диагностика*. – 2004. – № 2. – С. 19–20, 31–36.
6. Савельев, В. С. Панкреонекрозы / В. С. Савельев, М. И. Филимонов, С. З. Бурневич. – М.: Мед. инф. аг-во, 2008. – С. 36–49.
7. Тактика антибактериальной профилактики и терапии при панкреонекрозе / Б. Р. Гельфанд [и др.] // *Материалы 9-го Всероссийского съезда хирургов*. – Волгоград, 2000. – С. 33–34.
8. Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus / P. A. Banks [et al.] // *Gut*. – 2013. – Vol. 62, № 1. – P. 102–111.
9. Al Mofleh I. A. Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors / I. A. Al Mofleh // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, № 5. – P. 675–684.
10. Antibiotic prophylaxis is not protective in severe acute pancreatitis: a systematic review and metaanalysis / N. S. Jafri [et al.] // *Am. J. Surg.* – 2009. – Vol. 197. – P. 806–813.
11. Bradley, E. L. A clinically based classification system for acute pancreatitis Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992 / E. L. Bradley III // *Arch. Surg.* – 1993. – Vol. 128, № 5. – P. 586–590.
12. Determinant based classification of acute pancreatitis severity: an international multidisciplinary consultation / E. P. Dellinger [et al.] // *Surg.* – 2012. – Vol. 256, № 6. – P. 875–880.
13. Interventions for Necrotizing Pancreatitis. Summary of Multidisciplinary Consensus Conference / M. L. Freeman [et al.] // *Pancreas*. – 2012. – Vol. 41, № 8. – P. 1176–1194.