

3.1.9. Хирургия
(медицинские науки)

УДК: 616.381-002:616.153.96
doi: 10.17021/2021.2.3.33.37

СПОСОБЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Артур Абдулханрович Мусагалиев¹, Виктор Ардоваздович Зурнаджьянц², Элдар Абдурагимович Кчибеков³, Александр Владимирович Коханов⁴

^{1, 2, 3, 4} Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

¹ art-v7@mail.ru

² zurviktor@yandex.ru

³ eldar_76@inbox.ru

⁴ kokhanov@mail.ru

Аннотация. Обнаружена способность некоторых сывороточных белков специфически инактивировать определенные виды микроорганизмов, преимущественно грамотрицательные. На этом принципе разработан способ диагностики абдоминальной хирургической инфекции, заключающийся в исследовании биологических жидкостей у пациентов с послеоперационным перитонитом.

Ключевые слова: диагностики абдоминальной хирургической инфекции, лактоферрин, лизоцим, продукты деградации фибриногена и иммуноглобулин G.

Для цитирования: Мусагалиев А.А., Зурнаджьянц В.А., Кчибеков Э.А., Коханов А.В. Способы ранней диагностики грамотрицательной абдоминальной хирургической инфекции // Прикаспийский вестник медицины и фармации. 2021. Т. 2, № 3. С. 33–37.

METHODS FOR EARLY DIAGNOSIS OF GRAM-NEGATIVE ABDOMINAL SURGICAL INFECTION

Artur A. Musagaliev¹, Victor A. Zurnadzhlyants², Eldar A. Kchibekov³, Alexander V. Kokhanov⁴

^{1, 2, 3, 4} Astrakhan State Medical University

¹ art-v7@mail.ru

² zurviktor@yandex.ru

³ eldar_76@inbox.ru

⁴ kokhanov@mail.ru

Abstract. The ability of some whey proteins to specifically inactivate certain types of microorganisms, mainly gram-negative, was found. Based on this principle, a method for the diagnosis of abdominal surgical infection has been developed, which consists in the study of biological fluids in patients with postoperative.

Key words: diagnostics of abdominal surgical infection, ilactoferrin, lysozyme, fibrinogen degradation products, mmmunoglobulin G

For citation: Musagaliev A.A., Zurnadzhlyants V.A., Kchibekov E.A., Kokhanov A.V. Methods for early diagnosis of gram-negative abdominal surgical infection // Caspian Journal of Medicine and Pharmacy. 2021 : 2 (3): 33–37 (In Russ.).

Введение. Анализируя структуру летальных исходов пациентов с абдоминальной хирургической патологией за последние годы, было установлено, что среди основных причин их смерти как был, так и остается перитонит. Лечение острого распространенного перитонита до настоящего времени остаётся одной из актуальнейших проблем абдоминальной хирургии, что подтверждается высокими

цифрами летальности, которые по данным различных авторов могут составлять от 17% до 36%, а при тяжелых формах, в случае развития инфекционно-токсического шока и полиорганной недостаточности доходят до 76-90 % [6].

Клинически важной особенностью интраабдоминальных инфекций, во многом определяющей неудовлетворительный прогноз, является быстрое развитие генерализованной реакции макроорганизма в ответ на инфекционный процесс, которая обусловлена действием бактериальных эндо- и экзотоксинов и различных медиаторов воспаления. Диагностические трудности обусловлены скудностью клинических проявлений гнойных осложнений, что связано с применением мощных антибактериальных средств, анальгетиков и мероприятий, направленных на коррекцию всех нарушений гомеостаза [2].

Наиболее важные отличительные черты интраабдоминальных инфекций:

- полиэтиологичность – широкий круг потенциальных возбудителей;
- полимикробная этиология – в большинстве случаев удается выделить два микроорганизма и более;
- ассоциация аэробных и анаэробных микроорганизмов;
- сложности клинической оценки результатов микробиологического исследования (установление ведущего возбудителя).

В настоящее время важнейшим фактором, затрудняющим лечение заболеваний инфекционной природы у хирургических пациентов, является быстрое снижение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам [3]. При этом, многие антибактериальные препараты, несмотря на быстрый лечебный эффект, оказывают нежелательное побочное действие на отдельные органы и даже на организм в целом (аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, кандидозы и др.). Кроме того, частое и неправильное применение антибиотиков приводит к выработке у возбудителей инфекций антибиотикорезистентных свойств [5].

В связи с этим, изучение связи БОФ с характером возбудителя абдоминальной инфекции имеет большое значение для ранней диагностики гнойно-септических осложнений и своевременного начала этиотропной антибиотикотерапии при перитонитах [4].

Цель: разработать способ ранней диагностики граммотрицательной абдоминальной хирургической инфекции.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть исследования посвящена моделированию перитонита у крыс путем их внутрибрюшинного инфицирования наиболее значимыми штаммами патогенных бактерий и поиску взаимосвязей характера высеваемой микрофлоры с уровнями БОФ. Работа выполнена на 90 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-240 г из питомника лабораторных животных ФГБУ «НИИ по изучению лепры» МЗ РФ (г. Астрахань). В период экспериментальных исследований животных содержали в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных».

В соответствии с задачами, животные были распределены на 5 групп по 12 крыс, которым однократно внутрибрюшинно вводились пять различных культур условно патогенных бактерий. В 6-й группе сравнения из 30 животных воспроизводили асептический перитонит однократным внутрибрюшинным введением каррагинана.

Для заражения животных использовали суточные агаровые культуры аэробных грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (серовар А) и аэробных грамотрицательных бактерий *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, приготовленные на 0,9 % растворе натрия хлорида. Внутрибрюшинное заражение животного проводили инъекцией предварительно оттитрованных доз, содержащих в объеме 0,5 мл 1×10^8 микробных тел стафилококка и стрептококка и 1×10^7 микробных тел протея, клебсиеллы и синегнойной палочки. Выбор этих 5 штаммов бактерий объясняется наиболее частым обнаружением именно их в перитонеальном экссудате при разлитом гнойном перитоните. Выбор дозы каждой бактериальной культуры обеспечивал 0,5 LD₅₀ и обеспечивал выживание всех лабораторных животных более 3-х суток. Для замедления резорбции бактерий в кровь и профилактики летального сепсиса всем животным одновременно с заражением внутрибрюшинно вводился раствор каррагинана по схеме и в дозах животных 6-й группы сравнения. Через 24, 48 и 72 часа после внутрибрюшинных инъекций под эфирным наркозом путем декапитации осуществляли эвтаназию 4 животных каждой экспериментальной группы и 10 животных группы сравнения с последующим забором материала.

Весь клинический материал (сыворотки крови, перитонеальный экссудат) был протестирован на общую концентрацию белка, активность лизоцима (ЛЗЦ), уровни острофазовых белков лактоферрин (ЛФ), альфа2-макроглобулин (МГ), С-реактивный белок (СРБ), ферритин (Фр), прокальцитонин (ПКТ), продукты деградации фибриногена (ПДФ) и уровни иммуноглобулинов трех классов с использованием коммерческих и самостоятельно разработанных тест-систем для иммунохимического анализа.

Бактериологические исследования выполнены в КДЛ АМОКБ на бактериологическом анализаторе гемокультур (Bact/Alert 3D 60, bioMerieux Inc. США) и автоматическом анализаторе чувствительности к антибиотикам (Vitek 2 Compact 30, bioMerieux Inc., США) [4].

Результаты исследования и их обсуждение. Наблюдение за поведением животных показало, что крысы через сутки после воспроизведения перитонита характеризовались вялым поведением, адинамичностью, шерсть взъерошена, глаза мутные, животные отказывались от воды и пищи, живот у них поддут, стула нет. На вскрытии у животных – разлитой перитонит. В брюшной полости жидкость в различном количестве и пласты фибрина, брюшина тусклая.

В первые 24 часа у крыс, зараженных бактериальными культурами одновременно с моделированием перитонита каррагинаном, в их крови не наблюдалось статистически значимого повышения уровня белков относительно контрольных значений, кроме ЛЗЦ всегда и иммуноглобулины только при инфицировании стафилококком.

Через 48 и 72 часа после инфицирования грамотрицательными бактериями в крови крыс статистически достоверно повышается концентрация СРБ, ЛФ, ПДФ и ЛЗЦ.

В перитонеальной жидкости в первые 24 часа у крыс, зараженных бактериальными культурами одновременно с моделированием перитонита каррагинаном, статистически значимое повышение уровня белков относительно контрольных значений наблюдается у ЛФ, ПДФ и ЛЗЦ всегда и снижение ниже нормы IgM.

Таким образом, определяя некоторые белки экспресс-методом в двух биологических жидкостях и рассчитывая коэффициент отношений концентрации ЛЗЦ в крови и перитонеальной жидкости, можно с определенной степенью вероятности с первых дней предположить характер бактериальной обсемененности брюшной полости.

Для решения стоящих перед нами задач экспресс диагностики абдоминальной хирургической инфекции из десяти белков вообще вполне достаточно только четырех белков: ЛФ, ПДФ, ЛЗЦ и IgG.

Нами разработан способ диагностики абдоминальной хирургической инфекции, заключающийся в исследовании биологических жидкостей у подопытных животных с перитонитом, отличающийся тем, что одновременно в сыворотке крови и перитонеальной жидкости определяют концентрацию лактоферрина, лизоцима, продуктов деградации фибриногена, иммуноглобулина G и содержание общего белка, вычисляют коэффициенты их отношения по каждому специфическому белку по формулам:

$$K_{IGG} = \frac{OB_S \times C_{ПЖ}}{OB_{ПЖ} \times C_S},$$

- при значении ДК равном или выше 2,4 только K_{IGG} и $K_{ПДФ}$ с высокой степенью достоверности диагностируют наличие у пациента с перитонитом именно стафилококковую инфекцию;

- при значении ДК равном или выше 3,8 только $K_{ЛФ}$ и $K_{ПДФ}$, с высокой степенью достоверности диагностируют наличие у пациента с перитонитом именно стрептококковую инфекцию;

- при значении ДК равном или выше 2,8 только $K_{ЛФ}$ и $K_{ЛЗЦ}$, с высокой степенью достоверности диагностируют наличие у пациента с перитонитом именно грамотрицательную абдоминальную инфекцию;

- при значении ДК равном или выше 5,5 для всех четыре К диагностируют смешанную абдоминальную инфекцию.

По результатам проведенного исследования разработан способ ранней добактериологической диагностики грамотрицательной абдоминальной хирургической инфекции на который получен патента РФ на изобретения № 2705415 [1]. Изобретение относится к абдоминальной хирургии и может быть использовано для экспресс-диагностики характера абдоминальной хирургической инфекции и своевременного начала этиотропной антибиотикотерапии.

Выводы. Обнаружена способность некоторых сывороточных белков специфически инактивировать определенные виды микроорганизмов, преимущественно грамотрицательные. На этом прин-

ципе разработан способ диагностики абдоминальной хирургической инфекции, заключающийся в исследовании биологических жидкостей у пациентов с послеоперационным перитонитом.

Список источников

1. Савельев В.С., Гельфанда В.Р. Абдоминальная хирургическая инфекция: клиника, диагностика, антимикробная терапия: Практическое руководство / Под редакцией В.С. Савельева, В.Р. Гельфанда. М.: Литтерра, 2006. 168 с.
2. Журнаджьянц В.А., Кчибеков Э.А., Сердюков М.А., Бондарев В.А. Ферритин и лактоферрин в оценке степени тяжести состояния больных с перитонитом // Инфекции в хирургии. 2014. Т. 12, №2. С. 26–28.
3. Коханов А.В., Кчибеков Э.А., Луцева О.А., Мусагалиев А.А. Уровни сывороточного ферритина и термостабильной фракции альбумина в крови у больных аппендикулярным перитонитом // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6. URL: <http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=25588>
4. Мусагалиев А.А., Кчибеков Э.А., Журнаджьянц В.А., Луцева О.А., Коханов А.В. Сравнительная эффективность некоторых современных биохимических маркеров в оценке степени тяжести перитонита // Вестник хирургической гастроэнтерологии. 2018. № 1. С. 56.
5. Мусагалиев А.А., Коханов А.В., Воронкова М.Ю., Серебряков А.А., Муртузалиев И.М. Уровни ферритина в сыворотках крови и перитонеальном экссудате крыс при внутрибрюшинном инфицировании монокультурой бактерий // Современные проблемы науки и образования. 2017. №5. URL: <http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=26748>
6. Журнаджьянц В.А., Коханов А.В., Кчибеков Э.А., Мусагалиев А.А., Голубкина С.А. Способ диагностики грамотрицательной абдоминальной хирургической инфекции. Пат. № 2705384 Рос. Федерации. Опубл. 07.11.2019 Бюл. №31. 11 с. Заявка № 2019100767. Приоритет от 10.01.2019 г.

References

1. Savel'ev V.C., Gel'fanda V.R. Abdominal surgical infection: clinical picture, diagnostics, antimicrobial therapy: Practical guide, ed. V.C. Savelyeva, V.R. Gelfand. Moscow: Litterra. 2006: 168. (In Russ.).
2. Zurnadzh'yants V.A., Kchibekov E.A., Serdyukov M.A., Bondarev V.A. Ferritin and lactoferrin in assessing the severity of the condition of patients with peritonitis. *Infektsii v khirurgii = Infections in Surgery*. 2014; 12 (2): 26–28. (In Russ.).
3. Kokhanov A.V., Kchibekov E.A., Lutseva O.A., Musagaliev A.A. Levels of serum ferritin and thermostable albumin fraction in blood in patients with appendicular peritonitis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education* 2016; 6. URL: <http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=25588> (In Russ.).
4. Musagaliev A.A., Kchibekov E.A., Zurnadzh'yants V.A., Lutseva O.A., Kokhanov A.V. Comparative effectiveness of some modern biochemical markers in assessing the severity of peritonitis // *Vestnik khirurgicheskoy gastroenterologii = Herald of surgical gastroenterology*. 2018; (1): 56. (In Russ.).
5. Musagaliev A.A., Kokhanov A.V., Voronkova M.Yu., Serebryakov A.A., Murtuzaliev I.M. Ferritin levels in blood serum and peritoneal exudate of rats with intraperitoneal infection with a monoculture of bacteria. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*. 2017; 5. URL: <http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=26748> (In Russ.).
6. Zurnadzh'yants V.A., Kokhanov A.V., Kchibekov E.A., Musagaliev A.A., Golubkina S.A. Method for diagnosing gram-negative abdominal surgical infection. Patent RF, no. 2705384, 2019. (In Russ.).

Информация об авторах

А.А. Мусагалиев, аспирант кафедры хирургических болезней педиатрического факультета, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

В.А. Журнаджьянц, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней педиатрического факультета, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия.

Э.А. Кчибеков, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры хирургических болезней педиатрического факультета, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия.

А.В. Коханов, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биологической химии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

Information about the authors

A.A. Musagaliev, post-graduate student of Department of Surgical Diseases of the Pediatric Faculty, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

V.A. Zurnadzhants, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Surgical Diseases of the Pediatric Faculty, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

E.A. Kchibekov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Surgical Diseases of Pediatric Faculty, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

A.V. Kokhanov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Biochemistry, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia.

* Статья поступила в редакцию 22.07.2021; принята к публикации 29.08.2021.
The article was submitted 22.07.2021; accepted for publication 29.08.2021.