

СПОНТАННЫЙ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ПЕРИТОНИТ: ТРАДИЦИОННЫЕ И НЕКОТОРЫЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Д.А. Гавриленко

Гомельский государственный медицинский университет

Приводится обзор литературы по спонтанному бактериальному перитониту, а также результаты собственных наблюдений случаев данного инфекционного осложнения у госпитализированных пациентов с циррозом печени. Парацентез выполнен 57 больным циррозом печени с асцитом. Диагноз «спонтанный бактериальный перитонит» устанавливался при получении положительной культуры асцитической жидкости и/или увеличении абсолютного числа нейтрофилов асцитической жидкости более 250 клеток/мкл. Распространенность спонтанного бактериального перитонита среди обследованных лиц составила 10,5 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

цирроз печени,
спонтанный бактериальный
перитонит,
подсчет нейтрофилов,
автоматический
гематологический анализатор

KEY WORDS

cirrhosis,
spontaneous bacterial peritonitis,
neutrophils count,
automated cell counter

A literature review on spontaneous bacterial peritonitis and also results of personal observations of the cases of infective complication in hospital patients with liver cirrhosis are presented here. Paracentesis has been carried out in 57 patients with liver cirrhosis and with ascites. Diagnosis such as spontaneous bacterial peritonitis is given only after receiving a positive ascitic fluid culture and/or increase of absolute number of neutrophil of ascitic fluid more than 250 cells/microliter. Prevalence of spontaneous bacterial peritonitis among examined patients is 10,5 %.

Спонтанный бактериальный перитонит (СБП) – инфицирование асцитической жидкости (АЖ) в отсутствие очевидного интраабдоминального, требующего хирургического лечения источника инфекции [1].

Термин «спонтанный» впервые использовал Н. Сопп в 1964 г. вследствие отсутствия очевидного механизма и источника инфицирования асцита. О клинических состояниях, связанных с инфицированием АЖ, сообщалось уже в 1956 г., а затем в 1963 г. [2, 3].

В 1964 г., когда СБП был впервые подробно описан, смертность среди пациентов с этим инфекционным осложнением цирроза печени (ЦП) составляла 100 % [4]. Спустя 35 лет, благодаря результатам исследований относительно патогенеза, диагностики и лечения СБП, стали приводиться данные о том, что смертность при госпитализации была уменьшена до 10 % [5]. Такое колоссальное сокращение смертности – достижение западной медицины и результат внимания к проблеме тяжелых бактериальных осложнений при ЦП. Фактически на современном этапе западные исследователи выделяют новую, ранее не описанную, стадию бактериальных осложнений ЦП.

Патогенез спонтанного бактериального перитонита. Основным механизмом в развитии СБП при ЦП признана бактериальная транслокация (БТ). Бактериальная транслокация – миграция жизнеспособных микроорганизмов и/или их продуктов из просвета кишечника в мезентериальные лимфатические узлы и другие внекишечные участки [6]. Доказательством данного механизма является то, что большинство микроорганизмов, которые вызывают СБП, – пред-

ставители кишечной флоры. В случае прогрессирующего ЦП 2 основных фактора способствуют транслокации бактерий и/или их продуктов – избыточный кишечный бактериальный рост и повышение проницаемости стенки тонкой кишки. Избыточному кишечному бактериальному росту способствуют уменьшение кишечной моторики при ЦП, гипохлоргидрия при использовании ингибиторов протонной помпы (ИПП), нарушение секреции желчных кислот [7, 8]. Миграция бактерий через кишечный барьер не является гарантией инфекционного процесса. Об этом свидетельствует обнаружение суррогатных маркеров транслокации (бактериальная ДНК, липополисахаридсвязывающий белок) в крови и АЖ пациентов с ЦП без признаков воспалительного ответа [9, 10]. В то же время указывается, что наличие бактериальной ДНК в сыворотке крови и асцитической жидкости – фактор риска смерти пациентов с ЦП без инфекций [11]. Механизмом в данном случае является провоспалительный статус вследствие выброса TNF- α , NO, синтез которых индуцируется связыванием транслоцированных микробных компонентов с toll-подобными рецепторами (TLR) [12–14].

Преодолев барьер кишечной стенки, бактерии контактируют с резидентными макрофагами, которые представляют первую линию защиты брюшной полости. Если фагоциты не в состоянии уничтожить колонизирующие бактерии, активируется система комплемента, высвобождаются цитокины. Привлеченные нейтрофилы распознают и уничтожают внедрившиеся микроорганизмы. Однако в условиях дисфункции

печени как органа ретикулоэндотелиальной системы уровни комплемента недостаточны, наблюдается дисфункция нейтрофилов, что не сдерживает колонизацию АЖ и приводит к развитию инфекции [15].

Основными микроорганизмами, вызывающими СБП, являются *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* (80 %), однако в последнее время все чаще сообщается о воз-

растании роли полирезистентных бактерий с продукцией расширенного спектра β-лактамаз (ESBL), грамположительных микроорганизмов, таких как *Enterococcus faecium* и метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA). В сокращенном виде патогенез развития вариантов СБП представлен на рис. 1 (адаптировано из [18]).

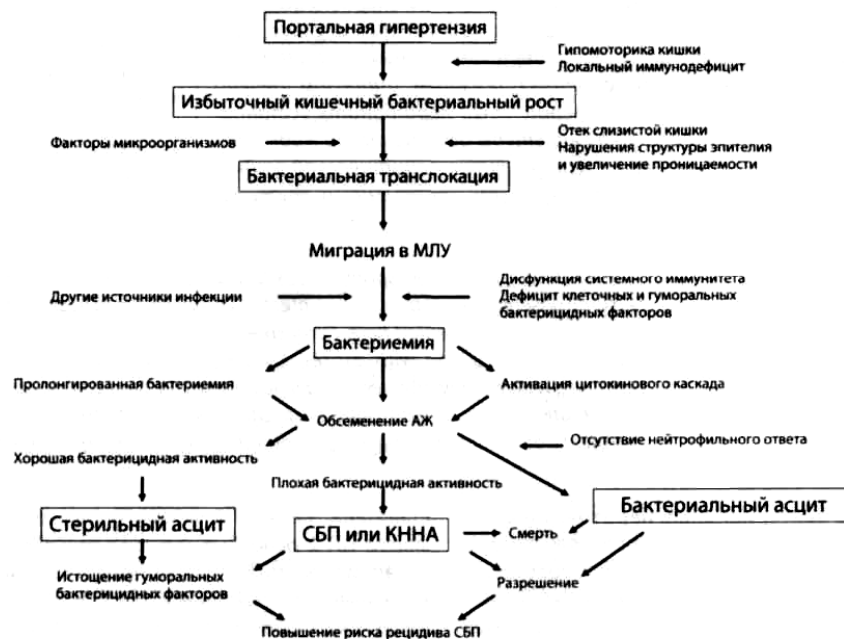


Рис. 1. Механизмы, задействованные в патогенезе спонтанного бактериального перитонита и его вариантов

Источниками инфицирования АЖ могут быть другие, кроме кишки, участки, например мочевая инфекция, инфекция дыхательных путей, инфекции кожи и мягких тканей и т. д. При этом и СБП, и другие инфекции при ЦП встречаются гораздо чаще у госпитализированных пациентов в сравнении с амбулаторными. Такая особенность связана с тем, что причиной госпитализации является декомпенсация ЦП, а с другой стороны, в стационаре, прежде всего в отделении интенсивной терапии, пациенты чаще подвергаются инвазивным манипуляциям – катетеризации, эндоскопическому исследованию, интубации [15, 16].

Основной фактор риска развития СБП – прогрессирующий ЦП (≥ 9 пунктов по шкале Child-Pugh). Среди других факторов указываются низкий уровень белка АЖ (< 10 г/л), уровень общего билирубина крови $\geq 42,7$ ммоль/л, наличие эпизода СБП в анамнезе, варикозное кровотечение, мальнутриция и, как упоминалось выше, использование ИПП. При комбинации нескольких факторов у одного пациента необходимо рассмотреть вопрос о профилактическом назначении антибиотиков [15].

Асцит у пациентов с неоплазмой инфицируется крайне редко. Микроорганизмы, вызывающие СБП в таких случаях, вирулентные и экстраординарные (например, *Salmonella spp.*) [15].

Варианты спонтанного бактериального перитонита. Выделение вариантов СБП основано исключительно на исследовании АЖ (табл. 1). Исследования по объяснению различий между вариантами СБП способствуют пониманию последовательности событий при инфицировании АЖ (рис. 1). Кроме того, формы СБП определяют тактику ведения пациентов с таким бактериальными осложнениями, а также прогноз.

Термин «культуroneгативный нейтрофильный асцит» (КННА) был предложен в 1984 г. [17]. Диагноз устанавливается при увеличении числа нейтрофилов в АЖ ≥ 250 /мкл и отрицательных культурах АЖ в отсутствие очевидного, требующего хирургического лечения источника инфекции в брюшной полости. Некоторое время диагноз КННА устанавливался при значении ≥ 500 нейтрофилов/мкл, однако впоследствии этот критерий был пересмотрен. Очевидно, что

Клинические варианты спонтанного бактериального перитонита		
Варианты	Число нейтрофилов в 1 мкл асцитической жидкости	Культуры асцитической жидкости
Классический спонтанный бактериальный перитонит	≥ 250	+
Культуронегативный нейтрофильный асцит	≥ 250	-
Мономикробный бактериальный асцит	< 250	+
Полимикробный бактериальный асцит	< 250	+

увеличение числа нейтрофилов в АЖ более 100/мкл также является патологическим, но с учетом возможных ошибок при подсчете и дифференцировке лейкоцитов во время микроскопии более высокий диагностический порог является вполне оправданным.

Необходимо отметить, что, кроме СБП, существует ряд состояний, при которых в АЖ наблюдается нейтрофилез (карциноматоз брюшины, туберкулезный перитонит). Нейтрофильная реакция объясняется гибелью клеток с последующей активацией системы комплемента, выработкой цитокинов, что привлекает в брюшную полость нейтрофилы [15].

Одна из причин ошибочного диагностирования КННА – геморрагический характер АЖ (травматичный парацентез). При числе эритроцитов ≥ 10 000/мкл необходимо пересчет числа нейтрофильных лейкоцитов – минус 1 нейтрофил на каждые 250 эритроцитов. Например, абсолютное число нейтрофилов АЖ – 270/мкл, число эритроцитов – 30×10⁹/мкл (30 000/мкл). В результате перерасчета абсолютное число нейтрофилов составило 150/мкл.

В одном из проспективных исследований оценивалось естественное течение КННА. Через 8 ч после первого парацентеза всем пациентам до начала антибиотикотерапии выполнялся повторный прокол. В 20 случаях (66 %) повторные культуры АЖ снова были отрицательными, при этом в 18 из них наблюдалось снижение числа нейтрофилов. В остальных 10 случаях при повторном культуральном исследовании АЖ были получены положительные результаты, т. е. наблюдался исход в СБП [18]. Возможность спонтанного (без антибиотиков) разрешения КННА может объяснять низкую смертность у данной категории пациентов с ЦП. Однако это явление не должно снижать осторожности клиницистов в отношении эмпирического назначения антибиотиков в таких случаях.

После многочисленных оригинальных публикаций по проблеме КННА стало ясно, что часть отрицательных бактериальных культур была результатом использования нечувствительной методики. Старые подходы к бактериологическому исследованию АЖ были основаны на предположении, что в инфицированной АЖ, как и при хирургическом перитоните, должен быть высокий уровень микробных колоний. Однако в большинстве случаев в инфицированной

АЖ обнаруживаются мономикробные колонии в низком титре. Исследование с посевом АЖ «у кровати» пациента во флаконы со средой для гемокультуры продемонстрировало увеличение числа положительных результатов с 50 до 80 % у лиц с числом нейтрофилов ≥ 250 клеток/мкл (в отсутствие антибиотикотерапии, без панкреатита, туберкулезного перитонита, опухоли) [19].

Ожидание результатов культурального исследования АЖ ни в коей мере не должно задерживать эмпирического назначения антибиотиков первой линии при обнаружении числа нейтрофилов ≥ 250 клеток/мкл [15, 20–22]. Получение положительных культур АЖ больше необходимо для возможной последующей коррекции антибиотикотерапии.

Мономикробный анейтрофильный бактериальный асцит (МБА) представляет собой фазу колонизации в инфицировании АЖ. Микроорганизмы, обнаруживаемые при этом, аналогичны таковым при классическом СБП. В большинстве случаев МБА спонтанно разрешается (62–86 %), но может и прогрессировать в СБП [23].

Увеличение числа выполняемых парацентезов стало причиной роста случаев диагностирования МБА. В то же время клиницист может и не знать обо всех эпизодах колонизации АЖ из-за высокого уровня спонтанного разрешения данного варианта. В одном из исследований всем амбулаторным пациентам (n = 427) без признаков инфекции, после терапевтического парацентеза, выполнялось культуральное исследование АЖ. Сообщается, что только в 2 % случаев была обнаружена микробная флора, включающая представителей микробиоценоза кожи [24]. В другом исследовании из 278 парацентезов положительные культуры были получены в 3 случаях (1,1 %) [25]. Следовательно, при отсутствии локальных и системных признаков инфекционного процесса культуральное исследование после парацентеза может лишь увеличить стоимость исследования.

В прогностическом смысле при МБА важно оценить наличие признаков инфекционного процесса. Прогрессирование в СБП наблюдается у пациентов с лихорадкой, периферическим лейкоцитозом, абдоминальной болью и другими признаками. Причем происходит это может крайне быстро, в течение часа [15].

Естественно, что спонтанное разрешение обычно наступает у пациентов с бессимптомным МБА [23].

Полимикробный бактериальный асцит чаще всего является следствием травматического парацентеза, когда игла повреждает стенку кишки, при этом содержимое просвета попадает в АЖ. Распознать такое осложнение можно уже во время парацентеза, если аспирируются воздух или каловые массы. Также подозрение должно вызывать обнаружение в мазке по Граму множества разнообразных бактерий или полимикробная культура при числе нейтрофилов в АЖ ≤ 250 /мкл [15].

Особое значение имеет дифференциальный диагноз между СБП и **вторичным бактериальным перитонитом**. Смертность при вторичном бактериальном перитоните при лечении антибиотиками и в отсутствие хирургического вмешательства составляет 100 % [15]. Смертность при выполнении пациентам со СБП ненужной лапаротомии приближается к 80 % [15]. Вторичный бактериальный перитонит имеет те же диагностические критерии, что и СБП, а кроме того, еще один – наличие абдоминального источника инфекции, требующего хирургического лечения. Клиническая картина СБП и хирургического перитонита может быть очень схожей. Мало того, даже при перфорации толстой кишки и попадании каловых масс в брюшную полость классическая ригидность передней брюшной стенки не развивается вследствие разделения висцерального и париетального листков брюшины АЖ [15]. Поэтому диагноз вторичного бактериального перитонита устанавливается на основании анализа АЖ. Существуют критерии, предложенные В. Рунуоп (1990) для диагностики вторичного бактериального перитонита: белок АЖ > 10 г/л, глюкоза $< 2,8$ ммоль/л, ЛДГ $>$ верхней границы нормы для сыворотки крови.

Диагностика спонтанного бактериального перитонита. Диагноз СБП основывается на подсчете нейтрофилов в АЖ. «Золотой стандарт» – подсчет нейтрофилов АЖ при микроскопии в сетке Горяева. Культуральное исследование не является необходимым для подтверждения диагноза, но выполняется всем пациентам для рационального назначения антибиотиков [15, 20].

Диагноз СБП без исследования АЖ, установленный только на основании клинических данных, – неприменим для пациентов с ЦП и асцитом. Длительное время парацентез не имел должного распространения из-за необоснованных опасений в отношении этой простой манипуляции. Так, ряд клиницистов не выполняют парацентез из-за риска развития кровотечения у пациентов с коагулопатией. Кровотечение после парацентеза действительно возможно, например в случае, когда установлен синдром ДВС. Риск кровотечения при выполнении парацентеза у пациентов с ЦП составляет 1 на каждую тысячу процедур [15].

Прокол брюшной стенки осуществляется на 2 см ниже пупка по срединной линии или в правой или

левой подвздошной области на 2–4 см выше и медиальнее от передней верхней подвздошной ости. При наличии возможности парацентез необходимо выполнять под ультразвукографическим контролем, чтобы найти оптимальное место для прокола, которое содержит достаточно асцитической жидкости, лишено кишечных петель или паренхиматозных органов. Это особенно актуально для пациентов с избытком массы тела или имеющих рубцы передней брюшной стенки после многократных хирургических вмешательств [26].

Точность подсчета общего числа лейкоцитов и количества нейтрофилов в АЖ полностью зависит от квалификации и заинтересованности специалиста, выполняющего исследование. Кроме того, для выполнения подсчета и дифференцировки клеток в асцитической жидкости лаборант должен быть свободен от других обязанностей. Не допускается формальный контроль качества подсчета [15].

Следует отметить, что метод «золотого стандарта» для диагностики СБП является трудоемким и отнимает много времени, вследствие чего лаборатории часто предоставляют результаты слишком поздно в день исследования, а иногда и на следующий день. В это время возможно прогрессирование инфекции от ранней стадии до фатального исхода [16, 27, 28]. Кроме того, метод подсчета нейтрофилов при микроскопии не всегда своевременно доступен во всех стационарах, принимающих пациентов с асцитом, особенно на региональном уровне, ночью или по выходным. Такие причины задерживают иницирование антибиотикотерапии и подвергают пациентов более высокому риску развития осложнений, вплоть до летального исхода. Так, в одном из ретроспективных исследований указывается, что каждый час промедления в назначении антибактериального лечения пациентам с септическим состоянием снижает выживаемость на 7,6 % [27]. Поэтому не удивительно, что, несмотря на существование надежного, относительно дешевого метода подсчета нейтрофилов при микроскопии, ввиду наличия у него указанных выше недостатков продолжается поиск и стандартизация более простых и быстрых методов определения нейтрофильных лейкоцитов для диагностики СБП.

Один из методов, позже предложенный как альтернатива подсчету нейтрофилов при микроскопии, – измерение лактоферрина в АЖ. Лактоферрин выделяется активированными нейтрофильными лейкоцитами, и его содержание в биологических жидкостях пропорционально уровню нейтрофилов. Следовательно, определение уровня лактоферрина также может быть полезным для диагностики СБП. Однако данные о диагностической ценности этого метода ограничены единственным исследованием [29]. Кроме того, количественное определение лактоферрина, использованное в этом исследовании, коммерчески недоступно.



Point-of-care testing для диагностики спонтанного бактериального перитонита. Зачастую физико-химическое исследование состава биологических жидкостей представляет собой достаточно длительный и сложный процесс, требующий множества реактивов, лабораторной посуды и другого оборудования. В последнее время стратегия получения информации при лабораторных исследованиях стала меняться и используется все больше технологических приемов, основанных на «сухой химии». При этом биологический материал не требует транспортировки в лабораторию, а исследуется рядом с пациентом – «прикроватная диагностика». Комплекс мероприятий по тестированию биологического материала рядом с местом оказания пациенту медицинской помощи носит название в англоязычной литературе *point-of-care testing* (анализ по месту лечения). Такие экспресс-исследования удобны для пациента и персонала, осуществляющего лечение и уход. Кроме того, медицинский персонал достаточно быстро получает результаты, необходимые для немедленного клинического управления заболеванием, не покидая пациента, и это при более выгодном соотношении «стоимость/эффективность». Для прикроватной диагностики используются обычно переносные, портативные приборы (например, глюкометр) и тест-наборы (например, тест-полоски для исследования мочи).

Тест-полоски для определения нейтрофильных лейкоцитов в моче достаточно давно используются для быстрой диагностики инфицированности других, кроме мочи, биологических жидкостей – плевральная, цереброспинальная [30, 31]. Реакция основана на определении активности эстеразы нейтрофильных лейкоцитов. Эстераза расщепляет субстрат с высвобождением свободного пиррола, который вступает в реакцию диазотирования с образованием окрашенного соединения. Интенсивность окраски определяется числом лейкоцитов в моче. Время до получения результата – 2 мин. Чувствительность метода подобрана таким образом, чтобы обеспечить отрицательную реакцию при нормальном числе лейкоцитов и положительную – при их увеличении. Конечно, метод валидирован изготовителем для определения числа нейтрофильных лейкоцитов в моче. Кроме того, реакгентная зона тест-полоски не имеет шкалы в 250 кл/мкл, как того требует диагностический критерий СБП. Но для отбора образцов АЖ, требующих последующего микроскопического исследования, использовать тест-полоски вполне возможно. Мало того, эстераза нейтрофильных лейкоцитов определяется даже после разрушения лейкоцитов. Такое свойство делает применение тест-полосок более выгодным в сравнении с традиционным подсчетом при микроскопии, так как часть клеток неизбежно подвергается лизису на этапах транспортировки, подготовки к исследованию. Перечисленные преимущества, а также низкая стоимость одного исследования (0,16–0,52 долл. в за-

висимости от производителя) делает альтернативный метод перспективным, что подтверждается непрекращающимися попытками стандартизировать использование тест-полосок для диагностики СБП [32, 33].

Следует отметить, что и тест-полоски, и определение лактоферрина – качественные методы, которые могут использоваться для скрининга, помогая предположить СБП. К сожалению, у них нет потенциала, чтобы заменить метод подсчета при микроскопии для управления СБП. Согласно Руководству по менеджменту СБП, критерием эффективности назначенной антибиотикотерапии является уменьшение нейтрофилов более чем на 25 % от первоначального количества [20]. Естественно, что качественный метод не может быть использован в таких случаях. Единственный альтернативный количественный метод – подсчет нейтрофилов в автоматическом гематологическом анализаторе. Данный метод может использоваться не только для диагностики СБП, но и для контроля эффективности антимикробного лечения. Подсчет нейтрофилов в аппарате доступен во всех стационарах в ночное время, выходные дни и обеспечивает результаты через 2 мин [34]. Необходимо отметить, что стоимость общего клинического анализа крови (по которой рассчитывается анализ АЖ) при использовании автоматического гематологического анализатора в 2 раза превышает таковую стоимость при использовании ручного подсчета при микроскопии.

Цель исследования – определить диагностическую значимость некоторых альтернативных методов диагностики СБП.

Материал и методы. После предварительного этапа исследования из 151 пациента с ЦП было отобрано 60 с выполненным парацентезом. Из исследования были исключены 3 образца АЖ. У 2 из них в результате исследования АЖ, а также на основании дополнительных инструментальных методов обследования была установлена опухолевая природа асцита. Еще у одного больного по техническим причинам не было выполнено культуральное исследование образца АЖ.

Прокол осуществлялся в большинстве случаев под ультразвукографическим контролем в правой подвздошной области или по срединной линии. Аспирировалось 42 мл АЖ, из которых 10 мл – во флакон со средой для гемокультуры, 20 мл – в вакутайнер с ЭДТА для подсчета лейкоцитов и нейтрофилов при микроскопии, 4 мл – для химического анализа, 2 мл – в вакутайнер с ЭДТА для подсчета лейкоцитов и нейтрофилов в автоматическом анализаторе (NIHON KONDEN 6410K, Япония) и 6 мл – для тестирования с помощью 2 видов тест-полосок (по 3 мл для каждой в чистые сухие пробирки).

«Золотым стандартом» диагностики СБП признан подсчет нейтрофильных лейкоцитов при микроскопии в сетке Горяева (референтный метод). В качестве альтернативных методов использовался подсчет общего числа лейкоцитов и нейтрофилов АЖ в автоматическом гематологическом анализаторе, а также

качественное определение нейтрофильных лейкоцитов 2 наборами тест-полосок для анализа мочи.

Для оценки диагностической ценности альтернативных методов проводилось их сравнение с референтным методом.

Практически все наборы тест-полосок, за исключением набора Aution stick (Menarini Diagnostics, Италия), для определения нейтрофильных лейкоцитов в моче не имеют колориметрической шкалы в 250 кл/мкл. Кроме того, у части наборов отсутствует колориметрическая шкала в 125 кл/мкл. Использовались 2 вида доступных в нашей стране наборов реагентных тест-полосок для анализа мочи (URlistik A10, фирма DIRUI Industrial, KHP, и Мульти Тест 10, ООО Мульти Лаб, РБ). Оба набора имели одинаковый диапазон определения нейтрофильных лейкоцитов. Согласно инструкциям производителей в обоих наборах шкалы 1+, 2+, 3+, 4+ были эквивалентны 15 кл/мкл, 70 кл/мкл, 125 кл/мкл, 500 кл/мкл соответственно. К сожалению, шкала в 250 кл/мкл, как того требует диагностика СБП, отсутствовала.

Для установления информативности методов исследования выполнялось построение характеристических кривых (ROC-кривые). Диагностическая значимость метода определялась по высоте расположения характеристической кривой с определением площади под кривой (ППК). За точку разделения (cut off) принималась точка, наиболее близкая к перегибу графика. Также определялись другие операционные характеристики – прогностическая ценность положительного результата (PPV), прогностическая ценность отрицательного результата (NPV). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ MEDCALC Software.

Результаты и обсуждение. По результатам исследования АЖ виды СБП установлены в 6 случаях (10,5 %, 95 % ДИ 2,6–18,5). Ввиду небольшой численности группы пациентов со СБП сравнение с пациентами, имеющими другие виды инфекционных осложнений, не выполнялось. Анализ каждого случая СБП приведен в табл. 2.

Таблица 2

Анализ случаев спонтанного бактериального перитонита

Пациент	Возраст	Пол	Этиология цирроза	Класс тяжести	Число нейтрофилов в 1 мкл	Культура асцитической жидкости	Белок асцитической жидкости, г/л	Исход
1	57	Женский	Неуточненный	С	1360	–	3	12
2	71	Мужской	Смешанный	С	798	–	3	?
3	36	Женский	Алкогольный	В	680	–	3,3	48
4	35	Мужской	Алкогольный	С	290	<i>Raoultella terrigena</i>	3	3
5	62	Мужской	Алкогольный	С	17	<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,1	?
6	68	Мужской	Неуточненный	В	5	<i>Staphylococcus xylosum</i>	3,4	?

Все эпизоды СБП были диагностированы по результатам исследования асцитической жидкости. Классический вариант СБП (число нейтрофилов АЖ > 250/мкл и положительная культура АЖ) установлен в 1 случае. КННА выявлен у 3 пациентов, результаты культурального исследования АЖ которых были отрицательными, а число нейтрофилов АЖ превышало 250 кл/мкл. В 2 случаях при культуральном исследовании асцитической жидкости получены положительные результаты, при этом абсолютное число нейтрофилов не превышало 250 в 1 мкл (мономикробный бактериальный асцит). Выявленные микроорганизмы традиционно не относят к патогенам высокого уровня. Тем не менее в последних публикациях идентифицированные микроорганизмы называются новыми нозокомиальными патогенами [35–37]. Следует добавить, что еще у 2 пациентов при культуральном исследовании со среды обогащения были получены представители микробиоценоза кожи – *Staphylococcus saprophyticus*. Учитывая

эпидемиологические условия – отсутствие признаков воспалительного процесса, отбор образцов АЖ выполнялся в 1-й день обоим пациентам во время терапевтического парацентеза. Результаты исследования были расценены как контаминация. У всех пациентов со СБП белок АЖ был ниже 10 г/л, что является неблагоприятным прогностическим признаком в отношении развития спонтанного инфицирования асцита [21]. Двое пациентов умерли с диагнозом СБП во время текущей госпитализации на 12-е и 3-и сутки с момента установления СБП. Еще 1 пациентка умерла спустя 48 дней в течение 1-х суток повторной госпитализации.

Все пациенты со СБП имели локальные или системные признаки воспалительного ответа (табл. 3). У большинства наблюдались сочетания данных признаков.

Кроме традиционных симптомов воспалительного процесса, признаками СБП могут быть появление/нрастание печеночной энцефалопатии (наблюдалось у 50 % пациентов), нарушение функции



почек (ГРС установлено у 2 лиц), гемодинамические нарушения (у 2 пациентов – гипотония). Из 4 предъявлявших жалобы на боль в животе 2 отмечали интенсивный характер, еще 2 незначительную боль.

Таблица 3

Симптом	Частота в группе (n = 6)
Боль в животе	4
Лихорадка	3
Лейкоцитоз	3
Сдвиг лейкоцитарной формулы влево	4
Появление/нарастание печеночной энцефалопатии	3
Нарушение функции почек	2
Гипотония	2

У 1 пациента единственным признаком была субфебрильная лихорадка.

Результаты культурального исследования были получены не ранее чем через 5 суток. Задержка лечения до получения результатов культурального исследования АЖ сокращает выживаемость и может привести к смерти пациента от развивающейся инфекции [16]. Поэтому все пациенты с локальными и системными признаками воспалительного ответа получали антибиотики до результатов культурального исследования АЖ.

Таким образом, в качестве критерия установления СБП и последующей оценки альтернативных методов мы использовали увеличение нейтрофилов $\geq 250/\text{мм}^3$ АЖ независимо от результатов культурального исследования.

Результаты определения числа лейкоцитов и нейтрофилов основным и альтернативными методами, соотношение их с результатами культурального исследования представлены в табл. 4.

Таблица 4

Пробы №	Культура	Ручной метод	Число клеток в 1 мкл			
			Автоматический гематологический анализатор		Тест-полоски	
			лейкоцитов	нейтрофилов	URistik A10	Мульти Тест 10
1	–	1360	2100	960	500	500
2	–	798	1200	660	500	500
3	–	680	1400	540	125	125
4	<i>Raoultella terrigena</i>	290	500	–	125	70
5	<i>Streptococcus pyogenes</i>	17	200	–	70	15
6	<i>Staphylococcus xylosum</i>	4	100	–	15	0

У пациентов с КНА (пробы АЖ № 1, 2 и 3) при подсчете нейтрофилов наблюдалось соответствие при использовании автоматического гематологического анализатора и ручного метода – истинно положительные результаты. Однако необходимо указать, что автоматический гематологический анализатор не подсчитал количество нейтрофилов при их относительно низком, но патологическом уровне ($< 500/\text{мм}^3$) в пробе АЖ № 4 (ложноотрицательный результат). Учитывая такую особенность, числовые значения операционных характеристик рассчитаны отдельно: для результатов с общим количеством лейкоцитов и результатов с количеством нейтрофилов.

Диагностическая ценность (чувствительность, специфичность, положительная и отрицательная прогностические ценности, диагностическая точность) каждой точки отсечения при подсчете общего числа лейкоцитов в автоматическом гематологическом анализаторе для диагностики СБП представлена в табл. 5.

Выполнено построение характеристической кривой (ROC-кривая) в целях определения точки отсечения, оптимально отражающей соотношение чувствительности и специфичности для положительных значений подсчета общего числа лейкоцитов в автоматическом анализаторе для диагностики СБП (рис. 2).

Оптимальным соотношением «чувствительность/специфичность» обладала точка отсечения 400 лейкоцитов/мкл с чувствительностью 100 %, специфичностью 86,8 % при диагностической точности 87,7 %. Однако наиболее точным пороговым уровнем для диагностики СБП является точка отсечения в 900 клеток/мкл с чувствительностью 75 %, специфичностью 100 %, диагностической точностью 98,2 % (табл. 5).

Зависимость между подсчетом общего числа лейкоцитов в автоматическом анализаторе и подсчетом нейтрофилов при микроскопии продемонстрирована на рис. 3.

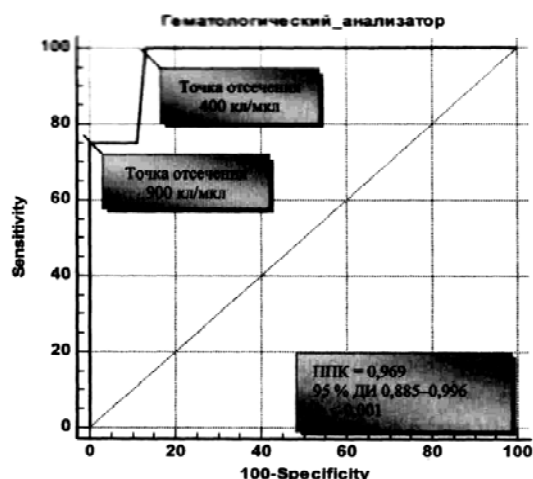


Рис. 2. ROC-кривая для общего числа лейкоцитов асцитической жидкости при подсчете в гематологическом анализаторе

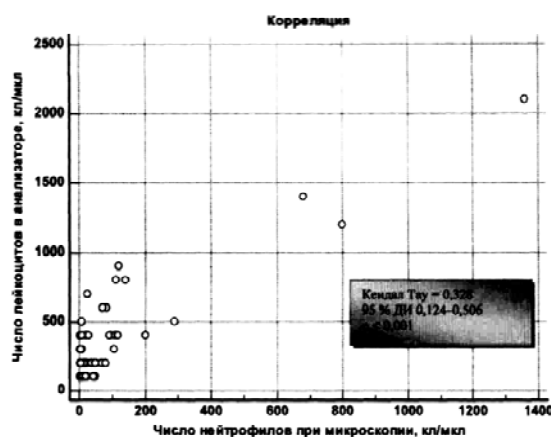


Рис. 3. Корреляция общего числа лейкоцитов в автоматическом анализаторе с результатами подсчета нейтрофилов при микроскопии

Таблица 5

Диагностическая ценность каждой точки отсечения при подсчете лейкоцитов для диагностики спонтанного бактериального перитонита						
Пороговый критерий, лейкоцитов/мкл	Чувствительность, %	Специфичность, %	Положительная прогностическая ценность, %	Отрицательная прогностическая ценность, %	Диагностическая точность, %	
100	100	26,4	9,3	100	7	
200	100	56,6	14,8	100	59,6	
300	100	69,8	20,0	100	71,9	
400	100	86,8	36,4	100	87,7	
500	75	88,7	33,3	97,9	87,7	
600	75	92,5	42,9	98	91,2	
700	75	94,3	50,0	98	93	
800	75	98,1	75,0	98,1	96,5	
900	75	100	100	98,1	98,2	
1200	50	100	100	96,4	96,5	
1400	25	100	100	94,6	94,7	
2100	0	100	-	93	93	

Наблюдается умеренная статистически значимая корреляция с «золотым стандартом» диагностики СБП.

Следует отметить, что если для диагностики СБП использовать наиболее точный критерий – подсчет в автоматическом анализаторе 900 кл/мкл с диагностической точностью 98,2 % (табл. 5), – то мы бы не установили СБП у 1 пациента. С другой стороны, при использовании порогового значения ≤ 400 кл/мкл (оптимальное соотношение чувствительности и специфичности) мы должны были назначить антибиотики 16 пациентам без СБП, но при этом шанс пропустить СБП чрезвычайно маловероятен (отрицательная прогностическая ценность – 100 %). Таким образом, если использовать 2 пороговых значения, допол-

нительный подсчет в сетке Горяева мог потребоваться в образцах АЖ с общим числом лейкоцитов от 400 до 900 кл/мкл, а, следовательно, остальные образцы АЖ ($n = 41$) могли не подвергаться дополнительному исследованию после подсчета общего числа лейкоцитов в автоматическом анализаторе. Анализ АЖ в случае первичного парацентеза обязательно включает расширенное исследование, в том числе и более трудоемкое цитологическое. Но если не использовать дополнительное исследование образцов АЖ во время второго и последующих парацентезов, то мы могли сэкономить в 72 % случаев. В литературе обсуждается возможность не только сокращения времени для диагностики СБП, но и уменьшения затрат на проведение исследо-



ваний АЖ. Подсчет общего числа лейкоцитов в автоматическом анализаторе – быстрая и недорогая процедура, доступная практически на всех этапах оказания медицинской помощи. Тем не менее использование данного метода для диагностики СБП и контроля за лечением требует дополнительного исследования.

В 2 случаях культуральное исследование АЖ было положительным. Общее число лейкоцитов в этих образцах – 200 и 100 кл/мкл соответственно. При таком количестве клеток лейкоцитарную формулу аппарат

не рассчитал, что не противоречило результатам подсчета нейтрофилов при микроскопии.

Как указывалось выше, автоматический гематологический анализатор может быть неточным при общем количестве лейкоцитов АЖ < 500/мкл и может не рассчитать лейкоцитарную формулу. В нашем наблюдении аппарат подсчитал число нейтрофилов АЖ лишь в 3 образцах из 57 (см. табл. 4). Далее приводятся операционные характеристики метода подсчета нейтрофилов в автоматическом анализаторе для диагностики СБП (табл. 6).

Таблица 6

Диагностическая ценность каждой точки отсечения при подсчете нейтрофилов для диагностики спонтанного бактериального перитонита						
Пороговый критерий, лейкоцитов/мкл	Чувствительность, %	Специфичность, %	Положительная прогностическая ценность, %	Отрицательная прогностическая ценность, %	Диагностическая точность, %	
540	50	100	100	96,4	96,5	
660	25	100	100	94,6	98,2	
960	0	100	–	93	98,2	

Выполнено построение характеристической кривой (ROC-кривая) для определения точки отсечения, оптимально отражающей соотношение чувствительности и специфичности для положительных значений подсчета числа нейтрофилов в автоматическом анализаторе для диагностики СБП (рис. 4).

Возможно, использование большего объема АЖ для подсчета лейкоцитарной формулы с предварительным обогащением (центрифугирование) образцов перед аспирацией в автоматическом анализаторе с последующим перерасчетом могло бы повысить диагностическую ценность этого простого и доступного метода.

Далее приводятся результаты определения нейтрофильных лейкоцитов в АЖ качественным методом, т. е. с использованием тест-полосок. Тестовая область обоих видов наборов тест-полосок для определения нейтрофильных лейкоцитов имеет следующий диапазон измерения, предложенный изготовителем: отрицательная (0 нейтрофилов/мкл); 1+ (15 нейтрофилов/мкл); 2+ (70 нейтрофилов/мкл); 3+ (125 нейтрофилов/мкл); 4+ (500 нейтрофилов/мкл). Были выбраны шкалы 1+, 2+ и 3+ как точки отсечения уровней для диагностики СБП и рассчитаны операционные характеристики для каждого порогового значения обоих наборов.

Выполнено построение характеристических кривых (ROC-кривые) в целях нахождения точек отсечения, оптимально отражающих соотношение чувствительности и специфичности для положительных значений определения тест-полосками лейкоцитов АЖ (рис. 5 и 6).

Наиболее оптимальным пороговым значением по соотношению «чувствительность/специфичность»

для тест-полосок URlistik A10 была шкала > 2, набора Мульти Тест 10 – шкала > 1. Однако максимальной диагностической точностью обладали значения шкалы > 3 для обоих наборов (табл. 7). Следует отметить, что ряд факторов могут повлиять на точность результатов, полученных при использовании тест-полосок. Так, имеет значение pH, осмотическая концентрация жидкости. Использование антибиотиков может дать как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты [38]. Тем не менее хорошая точность метода, наряду с его простотой, скоростью получения результата (2 мин) и стоимостью, делает его многообещающим диагностическим тестом для инициации антибактериального лечения такого опасного осложнения, как СБП.

Было проведено сравнение характеристических кривых для выявления различий между использованными методами (рис. 7).

Установлено, что статистически значимые различия между использованием тест-полосок URlistik A10 и анализатора, тест-полосок URlistik A10 и Мульти Тест 10, тест-полосок Мульти Тест 10 и анализатора отсутствовали ($p = 0,914$; $p = 0,743$; $p = 0,902$ соответственно).

Выводы. Результаты нашего исследования являются первыми в Республике Беларусь и пропагандируют использование не только стандартных методов диагностики СБП, но и более простых, быстрых и дешевых альтернативных методов.

Использование автоматического анализатора для подсчета общего числа лейкоцитов может помочь в отборе образцов АЖ, требующих дополнительного микроскопического исследования, что позволит несколько уменьшить затраты на исследование образцов АЖ без нейтрофильной реакции. Особенно

актуален данный метод в случае, когда диагностический парацентез не выполняется только лишь из-за отсутствия возможности исследования АЖ в лаборатории. Метод требует дополнительного изучения для оценки эффективности использования обогащения образцов АЖ перед подсчетом клеток в аппарате, так как является неточным при низких, но патологических уровнях нейтрофилов.

Площади под кривой качественного (тест-полоски) и количественного (гематологический анализатор) методов не имеют статистически значимых различий. Площади под кривой тест-полосок отечественного и зарубежного производства также не имеют статистически значимых различий и по экспертной шкале соответствуют модели отличного качества.

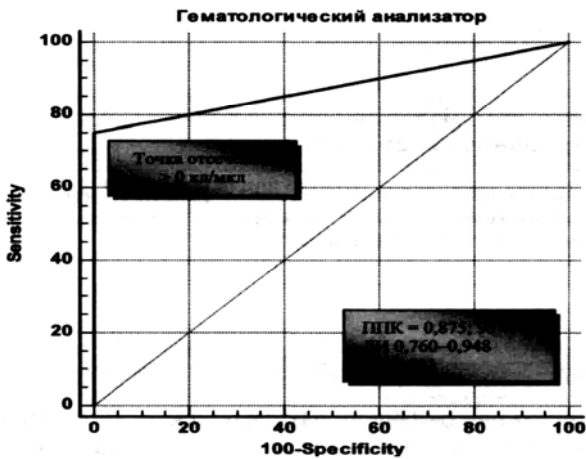


Рис. 4. Диагностическая значимость подсчета общего числа нейтрофилов асцитической жидкости в гематологическом анализаторе

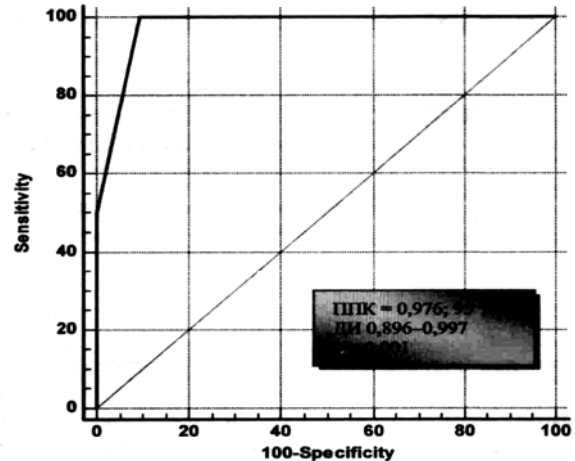


Рис. 5. Диагностическая значимость определения нейтрофильных лейкоцитов с использованием тест-полосок URItstik A10

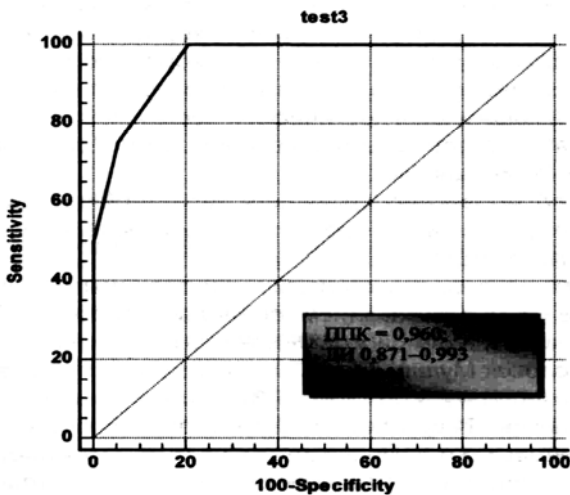


Рис. 6. Диагностическая значимость определения нейтрофильных лейкоцитов с использованием тест-полосок Мульти Тест 10

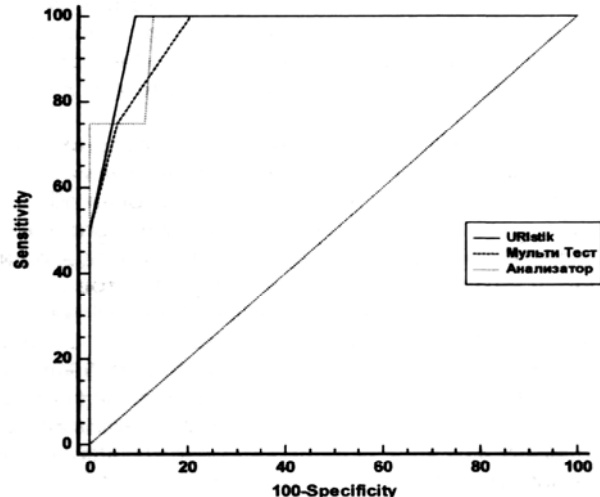


Рис. 7. Сравнение характеристических кривых использованных методов



Диагностическая ценность положительных значений при использовании тест-полосок для диагностики спонтанного бактериального перитонита

Переменная	URistik A10			Мульти Тест 10		
	> 1	> 2	> 3	> 1	> 2	> 3
Чувствительность, %	100	100	50	100	75	50
Специфичность, %	62,3	90,6	100	79,2	94,3	100
Положительная прогностическая ценность, %	16,7	44,4	100	26,7	50	100
Отрицательная прогностическая ценность, %	100	100	96,4	100	98	96,4
Отношение правдоподобия положительного результата	2,65	10,6	–	4,8	13,3	–
Отношение правдоподобия отрицательного результата	0	0	0,5	0	0,3	0,5
Диагностическая точность, %	66,7	93	96,5	80,7	93	96,5

ЛИТЕРАТУРА

1. Hoefs J.C. et al. Spontaneous bacterial peritonitis // *Hepatology*. 1982; 2: 399–407.
2. Caroli J., Platteborse R. Septicemie porto-cave. Cirrhoses du foie et septicemie a colibacille // *Sem. Hop. Paris*. 1956; 34: 112–127.
3. Kerr D.N.S, Pearson D.T., Read A.E. Infection of ascitic fluid in patients with hepatic cirrhosis // *Gut*. 1963; 4: 394–398.
4. Conn H.O. Spontaneous peritonitis and bacteremia in Laennec's cirrhosis caused by enteric organisms // *Ann. Intern. Med.* 1964; 60: 568–580.
5. Sort P. et al. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis // *N. Engl. J. Med.* 1999; 341: 403–409.
6. Berg. R.D., Garlington A.W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model // *Infect. Immun.* 1979; 23: 403–411.
7. Bajaj J.S. et al. Association of proton pump inhibitor therapy with spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites // *Am. J. Gastroenterol.* 2009; 104: 1130–1134.
8. Aditi A., Crippin J.S., Abhishek A. Role of proton pump inhibitors in the development of spontaneous bacterial peritonitis amongst cirrhotics: a retrospective cohort study // *Gastroenterology*. 2012; 142: 946.
9. Kaltsa G. et al. Markers of bacterial translocation in patients with chronic liver disease // *Gastroenterology*. 2012; 142. P. 42.
10. Bruns T. et al. Identification of bacterial DNA in neutrocytic and non-neutrocytic cirrhotic ascites by means of a multiplex polymerase chain reaction // *Liver Int.* 2009; 29: 1206–1214.
11. Zapater P. et al. Serum and ascitic fluid bacterial DNA: a new independent prognostic factor in noninfected patients with cirrhosis // *Hepatology*. 2008; 48: 1924–1931.
12. Aoyama T., Paik Y.-H., Sek E. Toll-like receptor signaling and liver fibrosis // *Gastroenterol. Res. Pract.* 2010 [Электронный ресурс]. Режим доступа: 10.1155/2010/192543.
13. Mencin A., Kluwe J., Schwabe R.F. Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases // *Gut*. 2009; 58: 704–720.
14. Soares J.-B. et al. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases // *Hepatology*. 2010; 4: 659–672.
15. Runyon B.A. Practice Guidelines Committee. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update // *Hepatology*. 2009; 49: 2087–2107.
16. Wong F. et al. Sepsis in cirrhosis: Report on the 7th meeting of the International Ascites Club // *Gut*. 2005; 54: 718–725.
17. Runyon B.A., Hoefs J.C. Culture-negative neutrocytic ascites: a variant of spontaneous bacterial peritonitis // *Hepatology*. 1984; 4: 1209–1211.
18. McHutchison J.G., Runyon B.A. Spontaneous bacterial peritonitis // *Gastrointestinal and hepatic infections / C.M. Surawicz, R.L. Owen (eds.), W.B. Saunders. Philadelphia, 1994. P. 455.*
19. Sheer T.A., Runyon B.A. Spontaneous bacterial peritonitis // *Dig. Dis.* 2005; 23: 39–46.
20. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis // *J. Hepatol.* 2010; 53: 397–417.
21. Rimola A. et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document International Ascites Club // *J. Hepatol.* 2000; 32: 142–153.
22. Pleguezuelo M. et al. Bacterial infections in decompensated cirrhosis // *World J. Hepatol.* 2013; 5: 16–25.
23. Pelletier G. et al. Asymptomatic bacterascites: a variant of spontaneous bacterial peritonitis? // *Hepatology*. 1991; 14: 112–115.
24. Evans L.T. et al. Spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic outpatients with cirrhotic ascites // *Hepatology*. 2003; 37: 897–901.
25. Mohan P., Venkataraman J. Prevalence and risk factors for unsuspected spontaneous ascitic fluid infection in cirrhotics undergoing therapeutic paracentesis in an outpatient clinic // *Indian J. Gastroenterol.* 2011; 30: 221–224.
26. Thomsen T.W. et al. Paracentesis // *N. Engl. J. Med.* 2009; 355(19): e21.



27. Gustot T. et al. Severe sepsis in cirrhosis // *Hepatology*. 2009; 50: 2022–2033.
28. Koulaouzidis A., Bhat S., Saeed A.A. Spontaneous bacterial peritonitis // *World J. Gastroenterol*. 2009; 15: 1042–1049.
29. Parsi M.A. et al. Ascitic fluid lactoferrin for diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis // *Gastroenterology*. 2008; 135: 803–807.
30. Moosa A.A., Quortum H.A., Ibrahim M.D. Rapid diagnosis of bacterial meningitis with reagent strips // *Lancet*. 1995; 345: 1290–1291.
31. Azoulay E. et al. Rapid diagnosis of infectious pleural effusions by use of reagent strips // *Clin. Infect. Dis*. 2000; 31: 914–919.
32. Koulaouzidis A. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: An update on leucocyte esterase reagent strips // *World J. Gastroenterol*. 2011; 17: 1091–1094.
33. Khatwani N.R. et al. Diagnostic validity of leukocyte esterase dipstick test for diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients // *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad*. 2011; 23: 51–54.
34. Riggio O. et al. Accuracy of the automated cell counters for management of spontaneous bacterial peritonitis // *World J. Gastroenterol*. 2008; 14: 5689–5694.
35. Shaikh M.M., Morgan M. Sepsis caused by *Raoultella terrigena* // *JRSM Short Rep*. 2011; 2: 49–51.
36. Akhaddar A. et al. *Staphylococcus xylosum* isolated from an otogenic brain abscess in an adolescent // *Surgical Infections*. 2010; 11: 559–561.
37. Carrillo E.R. et al. *Staphylococcus xylosum*: una bacteria emergente // *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex*. 2000; 63: 107–111
38. Beer J.H. False positive results for leucocytes in urine dipstick test with common antibiotics // *BMJ*. 1996; 25: 313.

Поступила 06.06.2013