

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц
12.06.2013
Регистрационный № 001-0112

**АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ СПОНТАННОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО
ПЕРИТОНИТА У ПАЦИЕНТА С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ С АСЦИТОМ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Гомельский государственный медицинский университет», ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», УО «Белорусский государственный медицинский университет», УЗ «Гомельская городская клиническая больница № 3», ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Е.Г. Малаева, Д.И. Гавриленко, д-р мед. наук, проф. Н.Н. Силивончик, канд. мед. наук, доц. Е.И. Адаменко, Л.А. Кобрусева, Ю.П. Шпаковский, Е.В. Шулькина, А.С. Прокопович, Н.И. Шевченко

Гомель, Минск 2012

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен алгоритм диагностики осложнения цирроза печени — спонтанного бактериального перитонита.

Инструкция предназначена для врачей общей практики (ВОП), врачей-терапевтов, врачей-гастроэнтерологов, врачей-хирургов, врачей-лаборантов.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЖ — асцитическая жидкость;

СБП — спонтанный бактериальный перитонит;

ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Гематологический анализатор.
2. Микроскоп.
3. Камера Горяева.
4. Камера Фукса–Розенталя.
5. Тест-полоски для биохимического и клинического исследования мочи.
6. Коммерческие флаконы для исследования крови и других стерильных в норме жидкостей организма.
7. Ультразвуковой цифровой сканер.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Цирроз печени с асцитом у пациентов при наличии:

- признаков перитонита или инфекции (абдоминальная боль, повышение температуры тела, лейкоцитоз, тахикардия, артериальная гипотония);
- развития или усугубления печеночной энцефалопатии;
- ухудшения функции почек;
- желудочно-кишечного кровотечения (перед назначением антибиотиков).

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Этап I. Экспресс-диагностика спонтанного бактериального перитонита у постели пациента с помощью тест-полосок

Проводится врачами общей практики в амбулаториях ВОП, врачами-терапевтами и врачами-хирургами в приемных покоях больниц. Протокол исследования составляет 2 мин.

Прикроватная экспресс-диагностика выполняется с помощью тест-полосок, используемых для биохимического и клинического исследования мочи (определение числа лейкоцитов в АЖ полуколичественным способом). Способ основан на определении активности эстеразы нейтрофильных лейкоцитов и позволяет обнаруживать нейтрофилы в АЖ: интенсивность окраски тест-полосок определяется числом нейтрофильных лейкоцитов в ней.

Способ осуществляют следующим образом: сразу после получения АЖ в пробирку с ней объемом 5 мл погружают тест-полоску на несколько секунд. После смачивания тест-полоски через 2 мин сравнивают интенсивность окраски

аналитической зоны тест-полоски с окраской зон цветовой шкалы на упаковке фирмы-производителя. Если интенсивность окраски аналитической зоны тест-полоски и цветовой шкалы близка или совпадает, то концентрация исследуемого компонента в образце приближается или равна количественному значению, указанному на шкале. На основании полученного результата можно сделать вывод о количественном содержании в ней нейтрофилов (более или менее 250 кл/мкл). Содержание нейтрофилов менее 250 кл/мкл свидетельствует об отсутствии СБП и необходимости дальнейшего цитологического исследования АЖ. Содержание нейтрофилов более 250 кл/мкл ($0,25 \times 10^9/\text{л}$) при наличии признаков системного воспалительного ответа в отсутствие интраабдоминального или хирургически пролеченного источника инфекции позволяет сделать вывод о наличии СБП и назначить эмпирическую антибактериальную терапию. Терапия СБП не может откладываться до получения результатов исследования культуры бактерий АЖ.

Этап II. Определение спонтанного бактериального перитонита способом подсчета нейтрофильных лейкоцитов в асцитической жидкости (исследование может быть в качестве I этапа)

Проводится фельдшерами-лаборантами и врачами лабораторной диагностики районных, городских, областных больниц. К подсчету нейтрофилов в АЖ следует приступить как можно скорее после парацентеза (не более чем через 4 ч). Подсчет осуществляется одним из способов: 1) подсчет нейтрофильных лейкоцитов в счетной камере; 2) подсчет общего количества лейкоцитов в счетной камере с последующим определением процентного и количественного содержания нейтрофилов в фиксированном мазке; 3) подсчет количества нейтрофильных лейкоцитов в гематологическом анализаторе.

Способ 1. Подсчет нейтрофильных лейкоцитов в счетной камере

Для данного способа необходимо 20–40 мл АЖ. Так как лейкоцитов в АЖ бывает мало, желательно пользоваться специальными камерами большей емкости — Фукса–Розенталя (емкость 3,2 мкл). АЖ тщательно перемешивают вращением пробирки между ладонями в течение 2–3 мин. Асцитическую жидкость не разводят, а только прибавляют к ней 1/10 объема 100 г/л уксусной кислоты, подкрашенной метилфиолетом (0,5 г на 5 мл кислоты) для растворения эритроцитов и окрашивания клеток. Лучше использовать реактив Самсона: ледяная уксусная кислота — 30 мл, карболовая кислота — 2 мл, спиртовой раствор фуксина (1:10) — 2 мл; его доливают дистиллированной водой до 100 мл. Реактив стоек, окрашивает ядра клеток в красновато-фиолетовый цвет, что облегчает подсчет клеток и их дифференцирование.

В сухую агглютинационную пробирку вносят АЖ и реактив Самсона в соотношении 10:1, перемешивают и оставляют на 10–15 мин для прокрашивания клеточных элементов. Смесь набирают пипеткой и заполняют ею заранее приготовленную камеру Фукса–Розенталя, состоящую из 16 больших квадратов, каждый из которых разделен на 16 малых — всего 256 квадратов. Площадь сетки — 16 мм, глубина — 0,2 мм, объем камеры — 3,2 мкл. Лейкоциты считают на всей площади сетки камеры при малом увеличении микроскопа (окуляр 15, объектив 8). Для дифференциации клеток используется окуляр 7, объектив 40. Число лейкоцитов в 1 л рассчитывают по формуле:

$$[(\text{число элементов во всей камере} \times 11) \div 3,2 \times 10] \times 10^6 = \text{число элементов в камере} \div 3 \times 10^6.$$

При использовании камеры Горяева (емкость камеры 0,9 мкл) необходимо подсчитывать клетки не менее чем в 3 камерах, взяв затем среднее арифметическое. Число лейкоцитов в 1 л рассчитывают по формуле:

$$\text{цитоз в 1 л} = \text{число элементов в камере} \times 1,2 \times 10^6 \text{ л.}$$

Способ 2. Подсчет общего количества лейкоцитов в счетной камере с последующим определением содержания нейтрофилов

Для данного способа необходимо 20 мл АЖ. В пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой набирают 10 мл АЖ и центрифугируют при 1500 об./мин в течение 10 мин. После этого 9 мл надосадочной жидкости удаляют, а 40 мкл оставшейся АЖ разводят жидкостью Тюрка (1–3% раствор ледяной уксусной кислоты — 3 мл, 1% водный раствор генцианвиолета — 3,3 мл, дистиллированная вода — 300 мл), тщательно перемешивают и заполняют счетную камеру. Подсчет количества лейкоцитов производится при увеличении микроскопа $\times 40$ в 1 мм^3 (мкл) АЖ. Оставшиеся 10 мл АЖ набирают в пробирку и центрифугируют при 1500 об./мин в течение 10 мин, после чего 9 мл надосадочной жидкости удаляют, а оставшуюся АЖ наносят на предметное стекло и окрашивают по методу Май-Грюнвальда–Гимзе.

Технология приготовления препарата, окрашенного данным способом, следующая. Полученный мазок на предметном стекле фиксируется метанолом, после чего на него наносится раствор Май-Грюнвальда в течение 3 мин. Затем добавляется дистиллированная вода (на 1 мин). Полученный раствор удаляется без использования проточной воды (путем сливания раствора с поверхности стекла). Далее на мазок наносится раствор Гимзе (0,3 мл краски Гимзе, разведенной в 10 мл дистиллированной воды). Препарат промывается в дистиллированной воде и высушивается при комнатной температуре. Подсчитывают процентное содержание нейтрофилов при увеличении микроскопа $\times 100$. После этого рассчитывают количественное содержание нейтрофилов в мм^3 (мкл) АЖ.

Способы 1 и 2 являются «золотым стандартом» диагностики СБП, в то же время они трудоемки и в определенной степени субъективны.

Способ 3. Подсчет лейкоцитов асцитической жидкости в гематологическом анализаторе

Для данного способа необходимо 20 мл АЖ.

Способ достоверный, простой и быстрый, однако требует специального оборудования (гематологический анализатор). Существует вероятность сбоя в работе аппарата при наличии примесей в АЖ (например, нитей фибрина).

Этап III. Микробиологическое исследование асцитической жидкости

Микробиологическое исследование АЖ необходимо для: 1) более тонкого установления вариантов СБП; 2) идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным средствам. Проводится культуральным способом.

Для данного способа необходимо 20 мл АЖ. Асцитическую жидкость объемом не менее 10 мл следует ввести в коммерческий флакон для исследования крови и других стерильных в норме жидкостей организма. Исследование АЖ в анаэробных условиях нецелесообразно, т. к. анаэробная флора не характерна для СБП.

Параллельно с исследованием АЖ должен быть выполнен культуральный анализ крови, т.к. СБП часто ассоциируется с бактериемией. Идентификация микроорганизма и определение лекарственной чувствительности проводятся по мере получения данных.

После получения результатов культурального исследования АЖ, а также учитывая данные предыдущего этапа (подсчет нейтрофилов), возможна верификация следующих вариантов СБП, а также вторичного бактериального перитонита:

1) классический СБП: повышение абсолютного содержания нейтрофилов в АЖ ≥ 250 кл/мкл и положительный результат микробиологического анализа АЖ (показан курс антибиотиков с учетом чувствительности положительной культуры);

2) культуру-негативный нейтрофильный асцит: повышение абсолютного содержания нейтрофилов в АЖ ≥ 250 кл/мкл и отрицательный результат микробиологического анализа АЖ (продолжение эмпирической антибиотикотерапии);

3) бактериальный асцит: содержание нейтрофилов в АЖ ≤ 250 кл/мкл и положительный результат микробиологического анализа АЖ (назначается последующий курс антибиотиков с учетом чувствительности положительной культуры);

4) полимикробная культура АЖ, выделение анаэробов или грибов: возможный вторичный бактериальный перитонит (поиск интраабдоминального источника инфекции, дифференциальная диагностика первичного и вторичного бактериального перитонита; при отсутствии интраабдоминального источника инфекции полимикробный бактериальный асцит требует назначения антибиотиков с учетом чувствительности идентифицированных микроорганизмов).

В случае неадекватного ответа (динамики клинических, лабораторных показателей) на антибиотикотерапию может потребоваться повторный парацентез с оценкой данных и выполнением этапов алгоритма (рис.).



Рис. — Алгоритм диагностики спонтанного бактериального перитонита и его вариантов

Необходимо отметить, что на этапе оказания первичной помощи для диагностики СБП и назначения эмпирической антибиотикотерапии достаточно расчета числа нейтрофилов с помощью тест-полосок. В случае диагностического поиска на уровне специализированной и квалифицированной помощи требуется выполнение всех этапов алгоритма или начало исследования со II этапа (минуя этап экспресс-диагностики с помощью тест-полосок).

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

1. При повышении рН и низкой осмолярности АЖ ускоряется лизис лейкоцитов — это приводит к быстрому уменьшению их количества, а через 2–3 ч практически полному разрушению, что может стать причиной ложноотрицательного результата при подсчете нейтрофилов АЖ. В связи с этим рекомендуется немедленное направление АЖ на цитологическое исследование после диагностического парацентеза. Выявление нейтрофилов с помощью тест-полосок возможно даже в случае их лизиса.

2. Определенную сложность представляют подсчет и оценка нейтрофилов при геморрагическом характере АЖ (эритроцитов $>10\ 000$ /мкл). В таком случае при подсчете нейтрофилов в счетной камере необходима корректирующая поправка — от

полученного количества нейтрофилов вычитают 1 нейтрофил на 250 эритроцитов. При использовании тест-полоски для определения нейтрофилов в АЖ геморрагического характера достаточно предварительно подвергнуть образец АЖ центрифугированию в пробирке в течение 10 мин при 1500 об./мин. После этого в образовавшуюся надосадочную область образца АЖ погружают тест-полоску, результат оценивают через 2 мин.

3. При изучении цитоза с помощью автоматического гематологического анализатора не всегда представляется возможным определение количества нейтрофилов АЖ при относительно низких, но патологических уровнях нейтроцитоза в АЖ (<500 кл/мкл). В таком случае необходимо дублировать исследование содержания нейтрофилов микроскопическим способом.