

ID: 2019-02-24-A-18446

Краткое сообщение

Аванесян Г.А., Магомедов Н.А., Магомедов А.М., Мусаелян А.Г., Демицкий А.А., Мартиросян А.А., Алипов А.И., Саргсян А.К., Багдян А.К.

Экспериментальное обоснование моделирования асептического и гнойного абсцессов брюшной полости

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии

Научный руководитель: д.м.н. Алипов В.В.

Резюме

Актуальной проблемой экспериментальной и гнойной хирургии является поиск новых способов моделирования и лечения абсцессов различных локализаций. Значительный вклад в разработку способов экспериментального моделирования абсцессов различных локализаций внесен В.В. Алиповым и соавт. [1-7]. Согласно имеющимся многочисленным данным, среди хирургической патологии наиболее часто к развитию перитонита приводит перфорация полого органа: желудка и двенадцатиперстной кишки около 30%, деструктивный аппендицит – более 20%, поражения толстой кишки – 20-25%, тонкой кишки – порядка 15%.

Ключевые слова: отграниченный перитонит

В экспериментальной хирургии исследовали множество способов моделирования гнойных абсцессов и перитонита: в брюшную полость животным вводили инородные тела – куски дерева, пробки, 5%-е взвеси фекалий, взвесь золотистого стафилококка, энтеробактерии коли *E. Coli*, смесь культуры кишечной палочки и патогенного стафилококка. Известна экспериментальная модель абсцесса, заключающаяся во введении через катетер, установленный в брюшной полости, микробной взвеси стафилококка, кишечной палочки в равных соотношениях [8,9]. Однако, при всех перечисленных способах моделирования развивался распространенный перитонит. Экспериментально обоснованного способа моделирования отграниченного перитонита и абсцесса брюшной полости не опубликовано.

Цель исследования: моделирование асептического абсцесса и гнойного абсцесса брюшной полости, отличающегося наличием сформированной полости с фиброзной капсулой и гнойным содержимым.

Материал и методы

Настоящее исследование выполнено на базе кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии СГМУ им. В.И.Разумовского. В эксперименте на 12 белых лабораторных крысах массой 190 ±20 г (животные первой группы) под комбинированным обезболиванием (рометар, золетил) миналапаротомным доступом в правой подвздошной области моделировали асептический абсцесс брюшной полости. Для создания асептического абсцесса в брюшной полости экспериментального животного использовали разработанную на кафедре методику формирования абсцесса [5]. В брюшную полость, после депиляции и антисептической обработки участка кожи размером 3х3 см., транскutánно, под контролем УЗИ, в полость живота вводили троакаром диаметром 3 мм. Далее через троакар проводили модифицированный (укороченный до 3 см) катетер Фолея и после заполнения баллона в дистальной части катетера 2,0 мл физиологического раствора (NaCl 0,9%), производили перевязку катетера проксимальнее баллона и фиксацию дистальной части его при помощи кожной дубликатуры. Через 6 суток после проведения манипуляции, катетер опорожняли, проводили контрастное и УЗ-исследование, после чего катетер удаляли. Инструментальные исследования показали, что в подвздошной области определяется сформированная полость асептического абсцесса диаметром 2 см³ с четкими стенками и подпаянными к ним петлями кишечника.

Моделирование гнойного абсцесса брюшной полости (местного отграниченного перитонита) у 12 экспериментальных животных второй группы заключалось в инфицировании асептических полостей, уже созданных у животных первой группы наблюдения. Всем животным выполняли моделирование абсцесса и местного перитонита по методу Блинкова Ю.Ю. (2007г). Для этого одному из животных выполняли лапаротомию, вскрывали просвет слепой кишки и из её содержимого готовили 15% взвесь фекалий в изотоническом растворе хлорида натрия. Далее смесь дважды фильтровали через двойной слой марли и вводили животным второй группы в созданную асептическую полость через пункционную иглу под контролем УЗИ из расчета 1 миллилитр на 100 граммов массы животных. Введение калового раствора осуществляли не позднее, чем через 20 минут после приготовления (для максимального сокращения потери анаэробной микрофлоры). Картину развития отграниченного гнойника и местного перитонита после выведения животных из эксперимента, подтверждали клиническими, инструментальными, микробиологическими и морфологическими исследованиями через пять суток после инфицирования полости и развития гнойного абсцесса.

Для комплексной планиметрической оценки полости абсцесса выполняли исследования с использованием формулы объема шара. Полученный экспериментально объем моделированной полости (шара) составил 2,0 см³, т.е. 2,0 мл. Для клинической оценки течения раневого процесса при асептическом и гнойном абсцессах брюшной полости изучены следующие объективные показатели: выраженность перифокальной гиперемии и отечности тканей на первые сутки формирования асептического абсцесса (животные первой группы) и на пятые сутки после образования гнойного абсцесса и перитонита у животных второй группы.

Микробиологическое исследование выполняли на шестые сутки у животных с моделированными асептическими абсцессами и на 6-е сутки после образования отграниченного гнойника и местного перитонита в правой подвздошной области животного. Из отделяемого полости готовил десятикратные разведения в стерильном физиологическом растворе хлорида натрия, из последнего разведения осуществляли мерный высев (по 0,1мл) на среду Эндо, МПА и бактериальной петлей – посев в столбик лактоагара. Посевы инкубировали в аэробной атмосфере 48 часов при 37°C. Исходя из полученных значений, рассчитывали количество КОЕ в 1 мл содержимого абсцесса.

Исследование материала проводили на 6-е сутки эксперимента после выведения животных из эксперимента. Удаленные фрагменты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. В брюшной полости экспериментальных животных определяли степень воспалительных изменений, наличие очагов некроза, время появления и степень выраженности регенерации тканей. У животных, иссекали стенки и перифокальные ткани области гнойника. Полученные биоптаты ткани фиксировали в растворе 10% нейтрального формалина. Готовили парафиновые блоки по общепринятой методике после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации. Срезы препаратов толщиной 3-5 мкм депарафинизировали, окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологический анализ препаратов проводили с использованием светового микроскопа.

Инструментальная оценка моделированного абсцесса мягких тканей. С целью изучения динамики облитерации полости абсцесса во всех группах животных на 5-6-е сутки эксперимента проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) Для создания и последующего контроля динамики размеров абсцесса использовали ультразвуковой аппарат производства Уз сканер экспертного класса Philips EpiQ7 (США) с конвексными датчиками, работающими с частотой 3,5 МГц. В ходе проведенного УЗИ определяли следующие параметры: диаметр сформированной полости и толщину фиброзной капсулы.

Результаты и обсуждение

На 6-е сутки у всех животных первой группы был сформирован абсцесс брюшной полости, отграниченный сформированной стенкой. Клинически к концу первых суток животные с моделированными асептическими абсцессами были достаточно подвижны, реагировали на болевой и звуковой раздражители, пили воду, принимали пищу. У всех животных определялась перифокальная гиперемия, умеренная отечность кожи и мягких тканей подвздошной области.

Оценивая клинические признаки формирования гнойника у животных второй группы следует отметить, что у всех крыс формировался острый гнойный абсцесс и местный перитонит со всеми характерными признаками. Животные принимали лежащее положение, плохо реагировали на болевой и звуковой раздражители, отказывались пить и принимать пищу, отмечались выраженная болезненность при пальпации, отечность кожи и местная гипертермия. Прогрессирование клиники гнойной интоксикации и органной недостаточности отмечено уже к третьим-четвертым суткам эксперимента.

При оценке планиметрических данных и результатов ультразвукового исследования у животных первой группы выявлено, что внутренний диаметр полости сформированного абсцесса после опорожнения баллона составлял $2,06 \pm 0,7$ мл), что соответствует $2,0 \pm 0,25$ см³.

На 6-е сутки эксперимента у животных второй группы на глубине 9-10 мм от поверхности кожи (граница верхнего края образования) подфасциально лоцируется образование с четкими гиперэхогенными контурами 16 мм на 9 мм на 9 мм овальной формы. Образование умеренно-выражено васкуляризируется с преобладанием артериального кровотока. Линейная скорость кровотока (ЛСК) артерий центрального звена - 5-6 см/сек. Венозная ЛСК - не более 4,3 см/сек. Питающий сосуд отчетливо не лоцируется.

При бактериологическом исследовании из полости асептического абсцесса брюшной полости крыс (6 крыс) к 6-м суткам эксперимента все посева были отрицательными. При микроскопическом исследовании мазка из полости в 6 наблюдениях были обнаружены лейкоциты, (до 3-4 в каждом поле зрения), а также: единичные грамвариабельные расположенные кишечные палочки. В результате макроскопической оценки роста определено два вида колоний (как на МПА, так и на среде Эндо. Количество бактерий каждого вида соответствовало 10^6 - 10^7 КОЕ/мл отделяемого. Возможно, на 6-е сутки формирования полости отмечается ее контаминация нормальной микрофлорой, предположительно энтеробактериями и коринебактериями. Не исключается наличие аэротолерантных и облигатно анаэробных бактерий, о чем свидетельствуют результаты первичной микроскопии.

При исследовании экссудата из брюшной полости на 5-е сутки эксперимента у животных с гнойным абсцессом и местным перитонитом в 10 посевах наблюдался обильный сплошной рост *E. coli*. и лишь в двух случаях высевался моноштамм *Staphylococcus aureus* и кишечной палочки со средним количеством бактериальных клеток $5,2 \pm 0,6 \cdot 10^9$ КОЕ/мл.

При морфологическом исследовании к 6-м суткам эксперимента у животных первой группы вокруг баллона сформировалась белесоватая капсула толщиной до 380 мкм. Результаты морфологических исследований на 6-и сутки после создания острого гнойного абсцесса брюшной полости у животных второй группы: сформирована плотная стенка абсцесса толщиной до 540 мкм. На границе стенки и содержимого выявлялась клеточная инфильтрация, представленная макрофагами, клетками инородных тел. В участках десквамации определялась тонкая нежная фибринозная пленка с небольшим количеством полиморфноядерных лейкоцитов. Определялись умеренный отек фибринозного слоя брюшины и инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами. В инфильтрате обнаруживали макрофаги и лимфоциты. Соединительная ткань брюшины было разрыхлена вследствие скопления гнойного содержимого. В подлежащем фиброзном слое сохранялись отек и воспалительная инфильтрация, которые носили очаговый характер.

Выводы

1. Моделирование асептического абсцесса брюшной полости с использованием модифицированного катетера Фолея предусматривает формирование отграниченной полости абсцесса уже на 6-е сутки эксперимента.
2. При инфицировании моделированного асептического абсцесса 15% взвесью фекалий в изотоническом растворе хлорида натрия во всех наблюдениях формировался острый гнойный абсцесс и местный перитонит со всеми характерными его клиническими признаками.
3. В результате эксперимента получено клинико-морфологическое обоснование способа моделирования асептического и гнойного абсцессов. Предлагаемый способ является экономически и технически выгодным, минимально травматичным, обеспечивающим гарантированное формирование абсцесса в кратчайший срок.

Литература

1. Николенко В.Н., Алипов В.В. Перспективные нанотехнологии в области экспериментальной медицины. / В.Н. Николенко, В.В. Алипов // Нанотехника - 2009. - № 19. - С. 66-68.
2. Алипов В.В. Экспериментальные лазерные хирургические технологии. Первые результаты и перспективы. / В.В. Алипов [и др] // Вестн. экспер. и клин. хир. - 2011. - №2. - С. 330 - 333.

3. Алипов В.В. Lazer nanotechnology in experimetal surgery. / Alipov V.V. // International Kongress « EuroMedica 2012».-Hannover.- 2012.- P.22-23.
4. Алипов В.В., Добрейкин Е.А., Урусова А.И., Беляев П.А. Экспериментальное обоснование сочетанного применения наночастиц меди и низкоинтенсивного лазерного облучения при хирургическом лечении моделированных инфицированных ожоговых ран кожи. / Вестн. exper. и клин. хир.- 2013. - № 4.- С. 411-417.
5. Пат. 2601378 РФ, МПК G09B 23/28 Способ моделирования абсцесса мягких тканей/ В.В. Алипов, А.И. Урусова, Д.А. Андреев, Н.Х. Кулиев; Опубл. 10.11.2016. Бюл. №31.
6. Пат. 2460533 РФ, МПК А 61 К 33/34, А 61 К 33/14, А 61 Р 31/02 Способ лечения абсцессов в эксперименте / В.В. Алипов, М.С. Лебедев, С.Ю. Доронин [и др.] (РФ). № 2011131910; Заявл. 28.07.2011; Опубл. 10.09.2012. Бюл. № 25.
7. Пат. 2475251 РФ, МПК А 61 К 33/34, А 61 Р 31/02, А 61 N 5/067 Способ комбинированного лечения абсцессов в эксперименте / В.В. Алипов, М.С. Лебедев, С.Ю. Доронин [и др.] (РФ). № 2012104033/14; Заявл. 06.02.2012; Опубл. 20.02.2013. Бюл. № 5.
8. Шалимов С.А., Радзинский А.П., Кейсевич А.В. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
9. Шахрай С.В. Моделирование экстрасфинктерного свища прямой кишки в эксперименте / С. В. Шахрай // Медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 131