

Л. В. Кирковский¹, К. М. Романчук¹, А. Е. Щерба¹, О. О. Руммо¹,
А. А. Коритко¹, С. В. Спиридонов²

ПРИЧИНЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ У ДОНОРОВ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК

РНПЦ «Трансплантации органов и тканей», г. Минск¹,
РНПЦ «Кардиология», г. Минск²

L. V. Kirkovsky, K. M. Romanchuk, A. E. Shcherba, O. O. Rummo, A. A. Koritko, S. V. Spiridonov

THE REASONS OF BACTERIAL INFECTION AT DONORS OF THE LIVER AND KIDNEYS

Трансплантация органов является одним из наиболее важных направлений современной медицины. В Республике Беларусь первая пересадка почки была выполнена в сентябре 1970 года, первая пересадка печени – в апреле 2008 года.

На сегодняшний день трансплантация органов является единственным методом радикального лечения терминальных стадий заболеваний внутренних органов, когда ресурсы консервативной терапии исчерпаны.

В связи с увеличением числа пациентов, состоящих в листе ожидания на трансплантацию различных органов, сокращением количества пригодных доноров, возрастает потребность в расширении критериев приемлемости трупных органов.

Некоторые состояния, включая наличие активной инфекции у донора, являются противопоказанием к эксплантации органов. Передающиеся от донора бактериальные инфекции в некоторых случаях имеют значительное влияние на клинические исходы трансплантации. [1] Бактериемия и сепсис у донора увеличивает вероятность трансмиссии инфекции к реципиенту и, в большинстве случаев, является противопоказанием к эксплантации органов [2]. Некоторые исследования демонстрируют последствия трансмиссии бактериальных инфекций от донора реципиенту, включая возрастание частоты несостоятельности сосудистых анастомозов, инфицирования графтов и сепсиса у реципиента [3, 4, 5]. Другие исследования показывают низкий уровень инфекционных осложнений у реципиентов, получивших потенциально инфицированный графт [6, 7]. По данным американских исследований за 2011 год, в период с 2005 по 2009 год зарегистрировано 26 случаев подтвержденной трансмиссии бактериальной инфекции от донора к реципиенту и 7 случаев смерти реципиента, связанной с инфицированием [8]. Риск бактериальных осложнений повышен в ранний посттрансплантационный период, тогда же имеется высокая вероятность развития почечной недостаточности и респираторного дистресс синдрома. Таким образом, бактериальная инфекция может иметь значительное влияние на летальность пациентов в ранний посттрансплантационный период [9].

Бактериальные инфекции не являются редким состоянием у потенциальных доноров. Использование различных устройств (сосудистых катетеров, мочевых катетеров, интубационных трубок и др.), нахождение потенциального донора в отделениях интенсивной терапии и реанимации, собственно заболевания пациента являются главными причинами, увеличивающими риск бактериального инфицирования. Остаются неизвестными точные факторы, коррелирующие с риском инфицирования доноров. Выявление этих факторов, организация работы по их устранению может привести к снижению частоты бактериального инфицирования реципиента и повлиять на результаты лечения таких пациентов.

Целью данной работы явилось выявление факторов (антропометрических и демографических характеристик доноров, лабораторных показателей, длительности искусственной вентиляции легких и эксплантации органов), коррелирующих с бактериальной контаминацией жировой ткани и клапанов сердца доноров.

Материалы и методы

Это было ретроспективное случай-контроль исследование ассоциации бактериального обсеменения жировой ткани и клапанов сердца доноров с их антропометрическими, демографическими характеристиками, данными лабораторных исследований, длительности искусственной вентиляции легких и эксплантации орга-

нов. Исследование проводилось с января 2012 года по июль 2013 года. В исследование был включен 91 донор, признанный пригодным, согласно протоколу, для проведения мультиорганного забора. У всех были отрицательные результаты обследования на наличие вирусной инфекции (вирусные гепатиты, цитомегаловирусная инфекция, ВИЧ, сифилис) и отсутствие тяжелой сопутствующей патологии. Все доноры были охарактеризованы по системе лейкоцитарных антигенов HLA (HLA фенотипу). Наличие симптомокомплекса, характерного для генерализации бактериальной инфекции, в том числе подтвержденного результатами посевов биологических жидкостей, являлось противопоказанием к донорству.

При мультиорганном заборе органов производился забор жировой ткани для выделения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и сердца для изготовления биопротезов клапанов. Проанализированы результаты бактериологических исследований жировой ткани и клапанов сердца эксплантированных при мультиорганном заборе органов.

Причиной констатации смерти мозга 34 доноров была тяжёлая черепно-мозговая травма, у 55 – различные формы острого нарушения мозгового кровообращения, другие причины - 2 (пулевое ранение головного мозга, асфиксия).

Операция забора жировой ткани для выделения МСК и сердца для препаровки клапанов от донора с констатированной смертью мозга производилась с соблюдением всех правил асептики и антисептики в условиях операционной бригадой мультиорганного забора после эксплантации донорских органов (почек, печени, поджелудочной железы). [10].

Забор жировой ткани околопупочной области производился хирургическими ножницами путём иссечения участков (одного или двух) подкожной жировой клетчатки размерами примерно 8×5см из углов крестообразного лапаротомного разреза, после чего полученная жировая ткань инфильтрировалась 40 мл кустодиола.

Забор паранефральной жировой клетчатки производился ножницами путём иссечения участков (одного или двух) околопочечной забрюшинной жировой ткани размерами примерно 8×5×2см. Паранефральная жировая ткань извлекалась во время операции back-table почек (подготовки почечных трансплантатов).

Сердце эксплантировалось на остановленном кровотоке с участком дуги аорты, легочной артерии. После этого оно помещалось в стерильный целлофановый пакет со 200 мл холодного кустодиола, который (пакет), в свою очередь, помещали во второй стерильный целлофановый пакет с холодной водой и ледяной крошкой. Данная система погружалась в третий стерильный целлофановый пакет и в переносном холодильнике транспортировалась в РНПЦ «Кардиология» для препаровки клапанов сердца. Все полученные образцы жировой ткани помещали в подобную транспортную систему и доставлялись в лабораторию клеточных технологий УЗ «9-ая городская клиническая больница» г. Минска для выполнения этапов выделения, культивирования и хранения МСК.

Перед проведением этапов препаровки клапанов и выделения МСК производился бактериальный посев

полученных тканей. Биоматериал из РНПЦ «Кардиология» исследовался в бактериологической лаборатории РНПЦ «Микробиологии и эпидемиологии». Бактериологическое исследование в УЗ «9 ГКБ» выполнялось в лаборатории клиники.

Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью программного пакета STATISTICA 8.0 для Windows. Для сравнения двух групп количественных показателей использовался Mann-Whitney U-тест. Данные представлены в виде средних значений, стандартных отклонений и в процентном соотношении.

Из 91 образца, полученного при мультиорганном заборе биоматериала, у 46 доноров имелось бактериальное инфицирование, что составило 50,5% от общего количества. При этом сапрофитная микрофлора была обнаружена в 35 образцах, что составило 38,5% от общего количества. В 10 случаях, что составило 11% от общего количества, определялась внутрибольничная (нозокомиальная) микрофлора.

На основании этих данных все доноры были условно разделены на 3 группы. Доноры, у которых не получен бактериальный рост, составили первую группу, вторую составили пациенты с условно патогенной (сапрофитной) флорой. В третью группу вошли доноры с внутрибольничной флорой.

Распределение сапрофитной флоры по видовому составу было следующим: Staphylococcus epidermidis – 63%, Enterococcus faecalis – 8%, Staphylococcus warneri – 8%,

Staphylococcus saprophyticus – 6%, Leuconostoc mesenteroides – 3%, Kocuria rosea – 3%, Staphylococcus haemolyticus – 3%, Streptococcus gordonii – 3%, Streptococcus hominis – 3%.

В структуре типично нозокомиальных микроорганизмов наблюдались: Pseudomonas aeruginosa – 30%, Klebsiella pneumoniae – 20%, Acinetobacter baumannii – 40%, Sphingomonas paucimobilis – 10%.

Результаты. Для выяснения возможных причин вызывающих инфицирования внутренних сред организма проведено сравнительное изучение характера бактериального повреждения с рядом демографических и антропометрических характеристик доноров.

Бактериальное инфицирование, как сапрофитной так и внутрибольничной микрофлорой, преобладало у лиц мужского пола. В 1-ой группе было 52,2% женщин и 47,8% мужчин. Во 2-ой группе женщин – 17,1%, мужчин – 82,9%. В 3-ей группе – 30% женщины, 70% мужчин.

Возраст доноров первой группы был 42,1±10,9 лет. Доноры из второй и третьей группы были достоверно моложе чем доноры из первой группы (соответственно Mann-Whitney $p = 0,0052$, $p = 0,0489$). Достоверного различия в возрасте между второй и третьей группами не было (Mann-Whitney $p = 0,8057$). Что касается влияния индекса массы тела на инфицирование полученных биоматериалов, согласно полученным нами данным взаимосвязи в группах доноров выявить не удалось (Mann-Whitney $p > 0,05$) (Таблица 1).

Таблица 1. Демографические и антропометрические характеристики доноров

Показатель ^a	Все	Без бактериального роста	Сапрофитная флора	Нозокомиальная флора
Доноры, кол-во	91	46 (50,5)	35 (38,5)	10 (11)
Средний возраст	38,4±11,4	42,1±10,9	34,8±11,0** $p = 0,0052$	34,4±11,2* $p = 0,0489$ $p = 0,8057$
Мужской Женский	58 (63,7%) 33 (36,3%)	22 (47,8%) 24 (52,2%)	29 (82,9%) 6 (17,1%)	7 (70%) 3 (30%)
Индекс массы тела, кг/м ²	25,3±4,3	24,9±4,1	25,3±4,3 $p = 0,7639$	27,3±5,0 $p = 0,0889$ $p = 0,1440$

^a Данные представлены в виде количества (%) или в виде среднего значения ± стандартное отклонение

* $p \leq 0,05$ при сравнении второй и третьей группы с первой

** $p \leq 0,01$ при сравнении второй и третьей группы с первой

$p \leq 0,05$ при сравнении третьей группы со второй

$p \leq 0,01$ при сравнении третьей группы со второй

Определение наличия взаимосвязи между состоянием основных лабораторных показателей в группах доноров органов и степенью инфицирования тканей показало, что у всех доноров независимо от того был ли факт инфицирования или нет показатели гемоглобина, лейкоцитов, мочевины, лактата,

АЛТ и Na⁺ достоверно не различались (Mann-Whitney $p > 0,05$).

Креатинин в третьей группе был достоверно меньше, чем в первой ($p = 0,0193$), АСТ был выше у доноров из второй группы в сравнении с первой (Mann-Whitney $p = 0,0061$) (Таблица 2).

Таблица 2. Лабораторные показатели доноров

Показатель ^a	Все	Без бактериального роста	Сапрофитная флора	Нозокомиальная флора
Гемоглобин, г/л	116,2±20,3	117,7±20,0	115,7±22,9 $p = 0,8375$	110,8±9,8 $p = 0,4280$ $p = 0,7430$
Лейкоциты, *10 ⁹ /л	13,1±6,3	13,8±6,4	12,8±6,8 $p = 0,3188$	11,6±3,5 $p = 0,5419$ $p = 0,8589$

Окончание табл. 2

Показатель ^а	Все	Без бактериального роста	Сапрофитная флора	Нозокомиальная флора
Мочевина, ммоль/л	6,5±3,3	7,0±3,8	5,9±2,7 $p = 0,2157$	6,2±2,8 $p = 0,6703$ $p = 0,6948$
Креатинин, мкмоль/л	105,3±59,4	109,1±64,5	108,4±59,7 $p = 0,7289$	77,8±13,4 [#] $p = 0,1657$ $p = 0,0193$
Лактат, мкмоль/л	1,4±1,0	1,4±1,1	1,5±1,1 $p = 0,8449$	1,5±0,2 $p = 0,1533$ $p = 0,1334$
АЛТ, Ед/л	68,1±64,3	68,2±79,6	72,2±49,0 $p = 0,0678$	53,5±18,7 $p = 0,2750$ $p = 0,5571$
АСТ, Ед/л	79,0±64,7	62,8±48,4	106,7±79,3* $p = 0,0061$	56,8±38,7 $p = 0,8306$ $p = 0,0614$
Натрий, мкмоль/л	147,1±11,1	145,9±11,6	148,4±10,4 $p = 0,3749$	147,9±12,0 $p = 0,4731$ $p = 0,7844$

^а Данные представлены в виде количества (%) или в виде среднего значения ± стандартное отклонение

* $p \leq 0,05$ при сравнении второй и третьей группы с первой

** $p \leq 0,01$ при сравнении второй и третьей группы с первой

$p \leq 0,05$ при сравнении третьей группы со второй

$p \leq 0,01$ при сравнении третьей группы со второй

Изучение влияния длительности ИВЛ и времени эксплантации органов у доноров показало, что достоверной разницы в продолжительности операции по эксплантации органов между группами не было (Mann-Whitney $p > 0,05$). В первой группе она составляла 173,4±52,2 минут, во второй – 195,6±51,6 минут,

в третьей – 192,5±48,8 минут. Длительность искусственной вентиляции лёгких у доноров третьей группы составляла 5,0±1,8 дней и была достоверно выше, чем у доноров первой группы (3,1±2,0 дней) и второй группы (3,4±2,0 дня) (Mann-Whitney $p = 0,0043$, $p = 0,0307$) (Таблица 3).

Таблица 3. Длительность ИВЛ и времени эксплантации органов у доноров

Показатель ^а	Все	Без бактериального роста	Сапрофитная флора	Нозокомиальная флора
Длительность ИВЛ, часы	81,6±47,6	75,0±48,3	81,9±48,2 $p = 0,5568$	123,3±43,2*** $p = 0,0043$ $p = 0,0307$
Длительность эксплантации, минуты	184,0±52,2	173,4±52,2	195,6±51,6 $p = 0,0703$	192,5±48,8 $p = 0,2374$ $p = 0,8365$

^а Данные представлены в виде количества (%) или в виде среднего значения ± стандартное отклонение

* $p \leq 0,05$ при сравнении второй и третьей группы с первой

** $p \leq 0,01$ при сравнении второй и третьей группы с первой

$p \leq 0,05$ при сравнении третьей группы со второй

$p \leq 0,01$ при сравнении третьей группы со второй

Результаты и обсуждение. Несмотря на то, что все потенциальные доноры обследовались на соответствие критерием эффективного донорства печени и почек, в 38% случаев из образцов жировой ткани или в биоматериале для заготовки биопротезов клапанов сердца высевалась условно патогенная флора. Больше чем в каждом десятом образце (11% случаев) была обнаружена внутрибольничная инфекция. Как и сапрофитная, так и нозокомиальная флора чаще выявлялась у более молодых доноров. Ниже при обнаружении внутрибольничной инфекции были показатели АЛТ и креатинина. По результатам других исследований, лабораторных показателей, коррелирующих с повышенной частотой выявления бактериемии у доноров, достоверно не вы-

явлено [1, 2, 3], что может быть связано с недостатками в дизайне нашего исследования. Достоверным фактором коррелирующим с наличием нозокомиальной флоры было более длительное пребывание пациента на ИВЛ в ОИТР. Тогда как у пациентов с сапрофитной инфекцией и доноров со стерильными посевами такого различия обнаружено не было.

В мировой литературе чаще уделяется внимание наличию бактериемии у донора и ее влияние на исход трансплантации, в то время как посева из образцов тканей доноров не обследовались [2, 5]. Кроме того, корреляция наличия бактериемии с длительностью ИВЛ у доноров также не оценивалась. Существуют различные результаты исследований влияния бактериемии

у донора на исход трансплантации: часть результатов свидетельствует о значительном влиянии бактериемии на возрастание частоты осложнений (несостоятельность анастомозов, сепсис и др.) [11, 12], другие исследователи рассматривают возможность эксплантации органов у доноров с бактериемией при условии проведения курса антибиотикотерапии [13]. Дизайн нашего исследования не позволяет определить разницу в исходах трансплантации у реципиентов, получивших органы от доноров, у которых был получен бактериальный рост, и от доноров, у которых бактериального роста не получено.

Выводы

1. Как сапрофитная так и нозокомиальная флора была чаще обнаружена у более молодых мультиорганных доноров.
2. Увеличение длительности пребывания на ИВЛ в ОИТР коррелирует с повышенной частотой выявления нозокомиальной флоры у доноров.

Литература

1. *Gottesdiener KM*. Transplanted infections: donor-to-host transmission with the allograft. *Ann Intern Med* 1989; 110:1001-9.
2. *Ciancio G, Burke G, Roth D, Zucker K, Tzakis A, Miller J*. The significance of infections in donor organs. *Transplant Immunol* 1996; 12: 3-11.
3. *Coll P, Montserrat I, Ballester M, et al*. Epidemiologic evidence of transmission of donor-related bacterial infection through a transplanted heart. *J Heart Lung Transplant* 1997; 16:464-7.

4. *Dowling RD, Baladi N, Zenati M, et al*. Disruption of the aortic anastomosis after heart-lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1990; 49: 118-22

5. *Bull DA, Stahl RD, McMahan DL, et al*. The high risk heart donor: potential pitfalls. *J Heart Lung Transplant* 1995; 14:424-8.

6. *Little DM, Farrell JG, Cunningham PM, Hickey DP*. Donor sepsis is not a contraindication to cadaveric organ donation. *QJM* 1997; 90:641-2.

7. *Mossad SB, Avery RK, Goormastic M, Hobbs RE, Stewart RW*. Significance of positive cultures from donor left atrium and postpreservation fluid in heart transplantation. *Transplantation* 1997; 64:1209-10.

8. *Ison M G, Nalesnik M A*. An update on donor-derived disease transmission in organ transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 1123-1130.

9. *Singh N*. Impact of donor bacteremia on outcome in organ transplant recipients. *Liver Transplant* 2002; 8: 975-976

10. «Клинический протокол трансплантации почки», утвержденный приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.01.2010 г. № 6

11. *Berggren H, Berglin E, Kjellman U, Mantovani V, Nilsson B*. Successful outcome after massive bleeding in a heart transplant recipient with mycotic aortitis. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 28:45.

12. *Nery JR, Wepler D, Ketchum P, et al*. Donor infection and primary nonfunction in liver transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29:481-3

13. *Delmonico FL, Snyderman DR*. Organ donor screening for infectious diseases. *Transplantation* 1998; 65:603-10.