

## Особенности патолого-анатомической диагностики грамотрицательного и грамположительного сепсиса

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

**Резюме.** Проанализировано 80 наблюдений летальных исходов с клиническим диагнозом «сепсис». Данные о выполнении прижизненного микробиологического исследования крови имелись в 26 случаях, посмертно посеvy крови и кусочков органов проводились в 45 наблюдениях. Наряду с оценкой данных микробиологического исследования проводился анализ наличия и выраженности гнойного метастазирования. В 31 наблюдении патолого-анатомический диагноз был подтвержден – во внутренних органах обнаруживались метастатические гнойные очаги. При повторном исследовании архивных микропрепаратов особое внимание уделялось поискам малозаметных мелких метастатических септических очажков (мини-очажков) в миокарде, почках, головном мозге. Оценке выраженности также подверглись признаки поражения микроциркуляторного русла: повреждение эндотелия, активация свертывающей системы крови, повышение проницаемости и воспалительная реакция. Все наблюдения, в которых проводилось прижизненное микробиологическое исследование, были разделены на две группы: с грамположительной бактериемией и грамотрицательной бактериемией. Проведена оценка выраженности гнойного метастазирования в зависимости от выделяемой при микробиологическом исследовании микрофлоры. Выявлено, что для грамотрицательной микрофлоры характерно отсутствие либо минимально выраженные метастатические очажки в виде мини-очажков. Выполнено сопоставление числа признаков нарушений микроциркуляции при грамотрицательном и грамположительном сепсисе. Полученное соотношение позволило считать выраженные и распространенные признаки повреждения эндотелия (слущивание эндотелия, выход единичных нейтрофилов, феномен краевого стояния, фибриноидный некроз стенок сосудов) объективными микроскопическими критериями, свидетельствующими в пользу грамотрицательного сепсиса.

**Ключевые слова:** сепсис, инфекция, микроциркуляция, эндотелий, бактерии, метастазирование, сладж-феномен, микроорганизм, тромбоз.

**Введение.** Сепсис – жизнеугрожающее состояние, требующее особого подхода в диагностике и лечении ввиду сложности этиопатогенеза, наличия многочисленных звеньев развития, а также зависимости течения как от состояния организма-хозяина, так и от этиологического фактора, вызвавшего его. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [2], в год сепсис осложняет течение основного заболевания у 31 миллиона пациентов, к летальному исходу сепсис приводит 6 миллионов из них. Несмотря на постоянное развитие в области диагностики и лечения, заболеваемость сепсисом растет. 26 мая 2017 г. Всемирная ассамблея и ВОЗ назвали сепсис приоритетом в области здравоохранения, приняв резолюцию по совершенствованию профилактики, диагностики и клинического ведения сепсиса [2]. Через Городской центр по лечению тяжелого сепсиса, развернутый на базе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, ежегодно проходит лечение 400–460 пациентов. В результате внедрения современных принципов лечения удалось снизить летальность от сепсиса с 45 до 29% [11].

В настоящее время возникает много разногласий относительно этиологии сепсиса. Традиционно причиной развития сепсиса считают бактерии и грибы, вызывающие формирование первичного инфекци-

онного гнойного очага, из которого в последующем происходит гематогенное распространение возбудителей и его фрагментов в ткани и органы, не связанные с источником [1, 3, 7, 5].

В настоящее время отмечается тенденция к увеличению роли грамположительных микроорганизмов в развитии сепсиса [3, 13, 14, 12]. При этом более тяжелое течение с развитием септического шока и летальным исходом наблюдается в случаях грамотрицательного сепсиса [4, 9]. Среди грамотрицательных микроорганизмов наиболее часто причиной сепсиса становятся *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* [16].

Наличие классических метастатических гнойных очагов при грамположительном сепсисе является следствием наличия в структуре стенки бактерий липотейхоевой кислоты, являющейся сильным стимулом для хемотаксиса нейтрофильных лейкоцитов, а также продукции ими экзотоксинов, обладающих гистолитическим действием. Особенностью сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями, является более выраженное повреждение эндотелия и стенок сосудов микроциркуляторного русла, а также наличие сладж-феномена, связанного с наличием в структуре стенки эндотоксина – липополисахарида. При попадании грамотрицательных бактерий и их компонентов в системный кровоток эндотоксин ак-

тивирует паттерн-распознающие рецепторы – толл-подобные рецепторы 4 типа [5, 6], находящиеся не только на лейкоцитах, но и на эндотелиальных клетках. Стимуляция данных рецепторов приводит к активации факторов транскрипции (NF-κ, белок-активатор-1 и interferon-response factor-3), которые приводят к активации провоспалительных генов, кодирующих индуцибельную синтазу NO, фактор некроза опухоли и интерферон- [13]. Кроме того, под действием эндотоксина активируется апоптоз эндотелиальных клеток по сигнальному пути Niprro, чему способствует фактор некроза опухоли и интерлейкин-1 и морфологическим проявлением чего является десквамация эндотелиоцитов [17].

Многие авторы [8, 13, 14, 16] отмечают различие в течении и прогнозе сепсиса в зависимости от принадлежности вызвавших его микроорганизмов к грамотрицательным либо грамположительным.

Несмотря на многочисленные исследования, направленные на поиск различий в клинической картине, иммунологическом ответе при грамотрицательном и грамположительном сепсисе, остается открытым вопрос, какие же морфологические отличия возможно выявить и какие признаки служат для градации степени тяжести сепсиса, вызванного грамположительными и грамотрицательными бактериями.

**Цель исследования.** Дать патолого-анатомическую характеристику изменений в органах при сепсисе, вызванном грамотрицательными и грамположительными бактериями.

**Материалы и методы.** Проанализировано 80 случаев летальных исходов в клиниках Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова за период с 2007 по 2017 г. с клиническим диагнозом «сепсис». Данные о выполнении прижизненного микробиологического исследования крови имелись в 26 случаях, посмертно посева крови и кусочков органов проводились в 45 наблюдениях.

Соотношение пациентов с клиническим диагнозом «сепсис» по полу, возрасту, длительности госпитализации и по продолжительности антибактериального лечения в нашем исследовании оказалось примерно равным (табл. 1).

Проведен сравнительный анализ клинических данных, показателей системной воспалительной реакции, биохимических маркеров органной недостаточности и патоморфологических признаков нарушения микроциркуляции, повреждения клеток органов, наличия

воспалительных инфильтратов. Для оценки повреждения микроциркуляторного русла использовались такие критерии, как наличие лейкостазов, краевого стояния лейкоцитов, эозинофильных свертков в просветах сосудов, диапедезных кровоизлияний в головном мозге, а также сладж-феномен.

Выполнялось микроскопическое исследование архивных микропрепаратов, особое внимание уделено изучению миокарда, почек, головного мозга.

**Результаты и их обсуждение.** В зависимости от степени выраженности деструктивно-воспалительных поражений тканей органов все наблюдения были распределены следующим образом [10]: 1 – макроскопически различимые абсцессы (6 чел.); 2 – микроскопические абсцессы (4 чел.) (рис. 1); 3 – с минимально выраженным гнойным метастазированием в виде мини-очажков, представляющих собой скопления до 10 лейкоцитов, часть из которых – нейтрофильные гранулоциты (22 чел.) (рис. 2); 4 – без признаков гнойного метастазирования (13 чел.).

В большинстве наблюдений как прижизненно (39%), так и посмертно (78%) выявлялась грамотрицательная микрофлора. При проведении прижизненного исследования в 5 (17%) случаях была обнаружена *Klebsiella pneumoniae*, в 2 (7%) – *Acinetobacter baumannii*, в 3 (10,3%) – *Pseudomonas aeruginosa*. Грамположительная микрофлора выявлена в 19% случаев прижизненно и в 6 случаях – посмертно. В 1 (3,4%) случае выделен *Staphylococcus warnery*, в 4 (13,8%) – *Staphylococcus aureus*, в 2 (7%) – *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus* был обнаружен в 2 случаях, в одном из них в сочетании с *Acinetobacter baumannii*. Стерильным посев крови оказался в 6 (21%) наблюдениях.

При проведении посмертного исследования крови и тканей микрофлора была в 13 (28%) случаях представлена монокультурой *Klebsiella pneumoniae*, в 7 (16%) наблюдениях выявлена ассоциация *Klebsiella pneumoniae* с *Acinetobacter baumannii*, в 8 (18%) случаях определялось сочетание *Klebsiella pneumoniae* с другими грамотрицательными микроорганизмами. Среди грамотрицательных микроорганизмов также выявлялись монокультура *Acinetobacter baumannii* (1 случай), ассоциация *Acinetobacter baumannii* с энтеробактером (1 случай) и *Esherichiae coli* (1 случай), *Citrobacter* (1), *Esherichiae coli* (2 случая), *Pseudomonas aeruginosa* (1 наблюдение), *Proteus* (1 случай). Грамположительная микрофлора была представлена в 3 (7%) случаях *Staphylococcus aureus*, в 1 случае – энтерококком. В 5 случаях *Staphylococcus aureus* выделялся в сочетании с грамотрицательной микрофлорой: протеем (2 случая), *Klebsiella pneumoniae* (2 случая), *Pseudomonas aeruginosa* (1 наблюдение).

Наблюдения, в которых прижизненно определялась грамположительная бактериемия, входили в группы с наличием метастатических гнойных очагов. В группе с мини-очажками выявлено 2 случая с грамположительной прижизненно зарегистрированной бактериемией, однако при анализе данных клиниче-

Таблица 1

**Распределение наблюдений по полу, возрасту, длительности госпитализации и продолжительности антибиотикотерапии**

Показатель	Возраст, лет	Длительность госпитализации, сутки	Продолжительность антибиотикотерапии, сутки
Мужчины, =38	35–77	1–52	1–52
Женщины, =42	20–83	1–68	1–64

ского эпикриза установлено, что микробиологическое исследование проводилось в начале госпитализации до проведения антибактериального лечения. При посмертном бактериологическом исследовании в данных наблюдениях определялась грамотрицательная микрофлора.

При анализе результатов микробиологического исследования (прижизненных и посмертных посевов биологических сред и тканей) группы с гнойными метастазами выявлены как грамположительные (*Staphylococcus aureus*), так и грамотрицательные микроорганизмы (*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*). В 2 случаях отмечена смена возбудителей с грамположительных на грамотрицательные. В 2 других наблюдениях посмертно выявлена грамотрицательная микрофлора, что, на первый взгляд, противоречит данным литературы о том, что септикопиемия обусловлена грамположительными микробами. Однако, учитывая факт отсутствия в данных наблюдениях микробиологического исследования гноя и крови, а также длительность течения сепсиса (свыше 30 суток), возможно предположить прижизненно произошедшую смену грамположительных возбудителей на грамотрицательные.

Также обратил на себя внимание случай, где из первичного источника и из сред организма была выделена культура синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) в сочетании с другим грамотрицательным микроорганизмом, *Acinetobacter baumannii*, что подтвердилось при посмертном исследовании. Однако срок госпитализации данного пациента составлял 56 суток, что, видимо, оказалось достаточным для формирования метастатических очагов в органах и тканях пациента (головной мозг, миокард, почки).

Для групп с мини-очажками и без признаков гнойного метастазирования характерно выделение грамотрицательной микрофлоры. Как прижизненно, так и посмертно чаще всего выявлялись *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*. В 2 случаях в группе с мини-очажками была прижизненно выделена грамположительная флора, посмертно же выявлялись только грамотрицательные микроорганизмы. В группе без признаков гнойного метастазирования также выявлены 2 случая с прижизненно зарегистрированной грамположительной бактериемией.

При оценке повреждения микроциркуляторного русла выявлены различия между грамположительной и грамотрицательной микрофлорой (табл. 2).

По данным гистологического исследования, в случае прижизненно зарегистрированной грамотрицательной микрофлоры достоверно ( $p < 0,05$ ) чаще выявлены такие признаки, как сладж-феномен (рис. 3а), слущивание эндотелия в просвет сосудов (рис. 3б), краевое стояние и выход единичных нейтрофилов за пределы сосудистой стенки (рис. 3в), а также фибриноидный некроз стенки сосудов микроциркуляторного русла (рис. 3г). Все эти явления свидетельствуют о более выраженном поражении эндотелия сосудов при грамотрицательном сепсисе.

Таблица 2

**Соотношение числа морфологических признаков нарушений микроциркуляции при грамположительной и грамотрицательной микрофлоре, %**

Показатель	Микрофлора	
	грамположительная	грамотрицательная
Микротромбы	55	53
Сладж-феномен	55	90
Лейкостазы	67	71
Слущенный эндотелий	44	77
Выход единичных нейтрофилов	0	43
Краевое стояние нейтрофилов	0	43
Диапедезные кровоизлияния	89	54
Фибриноидный некроз стенки сосудов головного мозга	44	83
Некроз петель клубочков почки	22	67

При статистическом анализе выявлено, что в группе с грамотрицательной микрофлорой имелась положительная корреляционная связь между наличием и выраженностью сладж-феномена и уровнем прокальцитонина ( $r_{xy} = 0,75$ ;  $p < 0,05$ ), диапедезными кровоизлияниями и уровнем прокальцитонина ( $r_{xy} = 0,89$ ;  $p < 0,05$ ). Обнаружена положительная корреляция между уровнем полиорганной недостаточности, оцененной по шкале полиорганной недостаточности (Sepsis-related organ failure assessment – SOFA), и наличием некрозов петель клубочков ( $r_{xy} = 0,70$ ;  $p < 0,05$ ). Также положительная корреляционная связь была зарегистрирована между уровнем общего билирубина и центроlobулярными некрозами печени ( $r_{xy} = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ), между уровнем креатинина и сладж-феноменом в сосудах почки ( $r_{xy} = 0,69$ ;  $p < 0,05$ ). Отражением повреждения миокарда при сепсисе явилась положительная корреляционная связь между дозой инотропной поддержки и нейтрофильной инфильтрацией ( $r_{xy} = 0,60$ ;  $p < 0,05$ ), сладж-феноменом в миокарде ( $r_{xy} = 0,79$ ;  $p < 0,05$ ). Положительная корреляционная связь была выявлена и между уровнем лейкоцитов периферической крови и диапедезными кровоизлияниями в миокарде ( $r_{xy} = 0,74$ ;  $p < 0,05$ ), лейкоцитарными стазами ( $r_{xy} = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ). Также определена положительная корреляционная связь между наличием и выраженностью соскоба селезенки и распространенностью лейкостазов в сосудах головного мозга ( $r_{xy} = 0,87$ ;  $p < 0,05$ ), лейкоцитарными стазами в миокарде ( $r_{xy} = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Грамотрицательный и грамположительный сепсис имеют разную морфологическую картину. Для грамположительного сепсиса характерно наличие метастатических гнойных очагов в виде



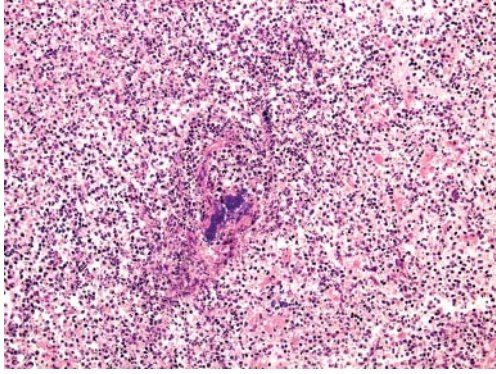


Рис. 1. Метастатический гнойник в почке. Видна колония бактерий в просвете сосуда с некрозом его стенки, крупный очаг нейтрофильных гранулоцитов, окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 200$

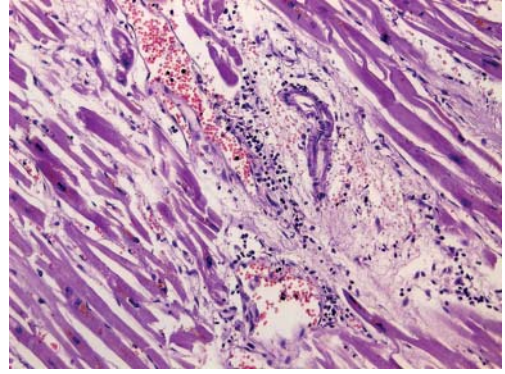


Рис. 2. Метастатический мини-очажок в миокарде, окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 200$

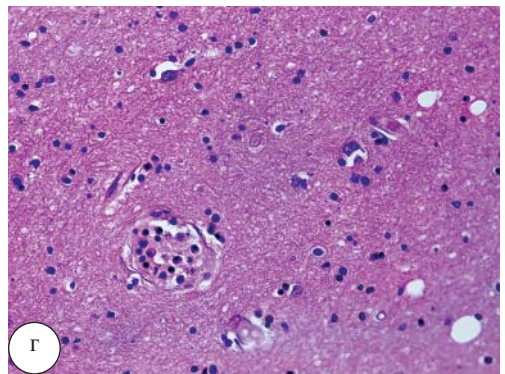
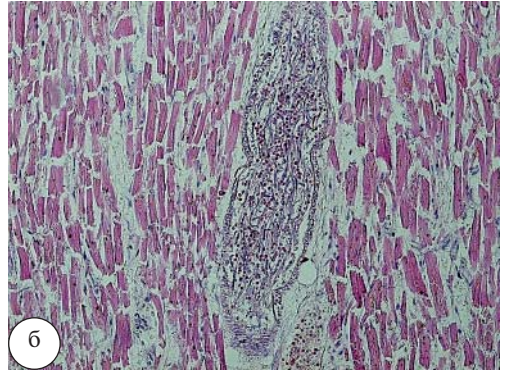
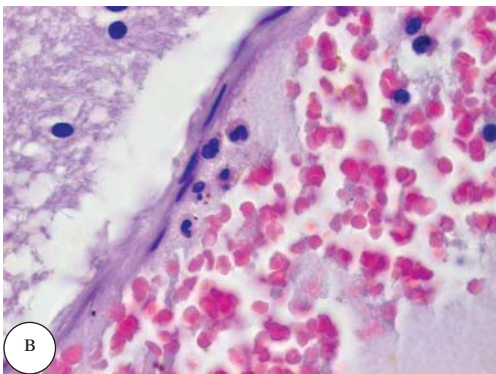
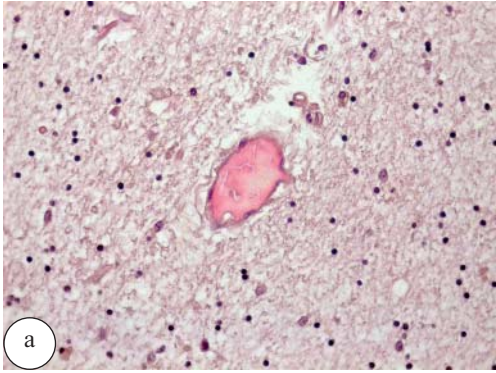


Рис. 3. Гистологические признаки поражения микроциркуляторного русла: а – в головном мозге: сладж-феномен, ув.  $\times 40$ ; б – в миокарде: слущенные эндотелиоциты в просвете сосуда, ув.  $\times 200$ ; в – в головном мозге: краевое стояние и адгезия нейтрофилов, ув.  $\times 1000$ ; г – в головном мозге: фибриноидный некроз стенки сосуда, лейкостаз, ув.  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином

абсцессов, в то время как для грамотрицательного сепсиса присуще минимально выраженное гнойное метастазирование вплоть до его отсутствия. Выявленные в группе грамотрицательного сепсиса корреляционные связи между уровнем прокальцитонина, показателями шкалы SOFA и признаками повреждения микроциркуляторного русла свидетельствуют о зависимости тяжести клинических проявлений от поражения стенок сосудов.

Таким образом, грамположительный и грамотрицательный сепсис имеет характерную морфологическую картину, заключающуюся в преобладании гнойного метастатического процесса при наличии грамположительных бактерий и выраженном повреждении микроциркуляторного русла при грамотрицательной микрофлоре, что связано с особенностями иммунного ответа на антигены бактерий.

Литература

1. Белянин, В.Л. Сепсис. Патологическая анатомия: пособие для врачей / В.Л. Белянин, М.Г. Рыбакова, Г.Б. Ковальский. – СПб.: ГПАБ, 2004. – 56 с.
2. Всемирная организация здравоохранения. Резолюция WNA70.7. Доклад секретариата ВОЗ А70/13. Резолюция по совершенствованию профилактики, диагностики и клинического ведения сепсиса. 26.05.2017 г. – Женева, 2017. – С. 1–9.
3. Гельфанд, Б.Р. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение / Б.Р. Гельфанд, В.С. Савельев. – М.: МИА, 2010. – 408 с.
4. Грувер, К.П. Актуальные аспекты сепсиса / К.П. Грувер [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2011. – 3–4 (56). – С. 35–40.
5. Лазанович, В.А. Клиническая значимость экспрессии Toll2, Toll4, CD14, HLA-DR на моноцитах у пациентов с сепсисом / В.А. Лазанович [и др.] // Мед. иммунология. – 2015. – № 3 (17). – С. 221–228.
6. Матосова, Е.В. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций / Е.В. Матосова // Гематология и трансфузиология. – 2017. – № 4 (62). – С. 223–229.
7. Мишнёв, О.Д. Актуальные проблемы патологии сепсиса: 25 лет в поисках консенсуса / О.Д. Мишнёв [и др.] // Архив патологии. – 2016. – № 6. – С. 3–8.
8. Пархоменко, Ю.Г. Сепсис. Инфекционный эндокардит. Этиология, патогенез, классификация, патологическая анатомия / Ю.Г. Пархоменко, О.В. Зайратьянц, О.В. Макарова. – М.: Группа МДВ, 2013. – 104 с.
9. Савина, В.А. Актуальные вопросы эпидемиологии сепсиса / В.А. Савина [и др.] // Мед. альманах. – 2014. – № 4 (34). – С. 20–22.
10. Чирский, В.С. Критерии морфологической диагностики сепсиса / В.С. Чирский, А.К. Юзвинкевич, Е.А. Андреева // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2018. – № 4. – С. 66–72.
11. Шляпников, С.А. Дефиниция сепсиса – пути достижения консенсуса клиницистов и морфологов / С.А. Шляпников, В.В. Федорова // Clinical Anesthesiology & Intensive Care. – 2014. – № 1 (3). – С. 113–118.
12. Chan, K.C.W. Management of septic shock: current concepts / K.C.W. Chan, A.W. Chow // HK J. Paediatr (new series). – 2003. – № 8 (3–14). – P. 3–14.
13. Legrand, M. The response of the host microcirculation to bacterial sepsis does the pathogen matter? / M. Legrand [et al.] // J. Mol. Med. – 2010. – № 88 (2). – P. 127–133.
14. Ramachanran, Cirish. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis / Cirish Ramacharan // Virulence. – 2013. – № 5 (1). – P. 213–218.
15. Sebastian, L. The autopsy pathology of Sepsis-related death / Lucas Sebastian // Current diagnostic pathology. – 2012. – № 13 (5). – P. 375–388.
16. Suratovic, M. Cytokine profile in severe gram-positive and gram-negative abdominale sepsis / M. Suratovic [et al.] // Sci Rep. – 2015. – Vol. 5. – P. 11–15.
17. Yi, L. Lipopolysaccharide induces human pulmonary endothelial apoptosis via the YAP signal pathway / L. Yi [et al.] // Front cell infect microbiol. – 2016. – № 19. – P. 6–133.

V.S. Chirsky, A.K. Yuzvinkevich, E.A. Andreeva

Criteria for the morphological diagnosis of sepsis

**Abstract.** 80 cases of lethal outcomes with a clinical diagnosis of sepsis were analyzed. Data on the performance of in vivo microbiological blood tests were in 26 cases, and after sending blood and pieces of organs in 45 observations. Along with the estimated data of microbiological studies, an analysis of the presence and severity of gn-metastasis was carried out. In 31 cases, the pathoanatomical diagnosis was confirmed - metastatic purulent foci were found in the internal organs. When re-examining archival micropreparations, special attention is paid to finding inconspicuous small metastatic septic foci (mini foci) in the myocardium, kidneys, and brain. Signs of microcirculatory lesions were also evaluated for severity: endothelial damage, activation of the blood coagulation system, increased permeability and inflammatory response. All observations, in which an in vivo microbiological study was conducted, were divided into two groups: with gram-positive bacteremia and gram-negative bacteremia. The assessment of the severity of purulent metastasis as a function of the microflora emitted during microbiological examination was carried out. It was revealed that gram-negative microflora is characterized by the absence or minimally expressed metastatic foci in the form of mini-foci. A comparison was made of the number of signs of microcirculation disorders in gram-negative and gram-positive sepsis. The obtained ratio made it possible to consider the pronounced and widespread signs of damage to the endothelium (desquamation of the endothelium, release of single neutrophils, the phenomenon of marginal standing, fibrinoid necrosis of the vessel walls) as objective microscopic criteria in favor of gram-negative sepsis.

**Key words:** sepsis, infection, microcirculation, endothelium, bacteria, metastasis, sludge phenomenon, microorganism, thrombosis.

Контактный телефон: 8-981-840-69-93; e-mail: vmeda-nio@mail.ru