

УДК 616.348-002.44-07:579.84.08

Антибиотикорезистентность грамотрицательной микрофлоры, выделенной из биопсийного материала у больных неспецифическим язвенным колитом

А.В. Лямин, П.С. Андреев, А.В. Жестков, Б.Н. Жуков

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Цель. Проанализировать видовой состав и чувствительность к антибиотикам микрофлоры, выделенной из биопсийного материала у больных с неспецифическим язвенным колитом (НЯК), полученного из участков поражения слизистой оболочки толстой кишки.

Материал и методы. Обследовано 34 больных с НЯК в возрасте от 19 до 75 лет, которые лечились в проктологическом отделении клиники госпитальной хирургии СамГМУ с 2009 по 2010 гг.

Результаты. Было выделено 70 штаммов грамотрицательных бактерий, среди которых преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae*; значительно реже выделялись грамотрицательные неферментирующие

бактерии. Продуцентами БЛРС оказались 40,9% штаммов *E. coli* и 43,8% штаммов *Klebsiella* spp. Наибольшей активностью обладали карбапенемы.

Выводы. При доказанной этиологической роли грамотрицательных бактерий у больных НЯК, учитывая потенциально высокую частоту их антибиотикорезистентности, необходимо применение схем антибиотикотерапии на основе локальной картины антибиотикорезистентности с дальнейшей коррекцией по результатам микробиологического исследования у конкретного пациента.

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, биопсия, грамотрицательная микрофлора, антибиотикорезистентность.

Antimicrobial Resistance of Gram-negative Bacteria Isolated from Biopsy Samples in Patients with Ulcerative Colitis

A.V. Lyamin, P.S. Andreev, A.V. Zhestkov, B.N. Zhukov

Samara State Medical University, Samara, Russia

Objective. To investigate spectrum and antimicrobial susceptibility of colonic microorganisms isolated from biopsy samples in patients with ulcerative colitis.

Materials and Methods. A total of 34 patients with ulcerative colitis (19 to 75 years of age) treated in proctology unit (Surgery Clinic of Samara State Medical University) during the 2009–2010 were examined in this study.

Results. A total of 70 gram-negative isolates were obtained, of which *Enterobacteriaceae* were the most

predominant pathogens. Non-fermenting gram-negative bacteria were significantly rare species. ESBL production was found in 40.9% of *E. coli* and 43.8% of *Klebsiella* spp. The most *in vitro* active antimicrobials against tested strains were carbapenems.

Conclusions. Etiology and optimal approach to the treatment of ulcerative colitis need further investigation; however, where gram-negative bacteria play a role, antimicrobial regimens should be chosen based on local resistance data and corrected according to culture and susceptibility testing results.

Key words: ulcerative colitis, biopsy, gram-negative, antimicrobial resistance.

Контактный адрес:
Артем Викторович Лямин
Эл. почта: avlyamin@rambler.ru

Введение

Неспецифический язвенный колит (НЯК) – хроническое рецидивирующее заболевание, при котором воспаление имеет диффузный характер и локализуется поверхностно, только в пределах слизистой оболочки толстой кишки [1]. По мнению Ф.И. Комарова и соавт., неспецифический язвенный колит – это воспалительное заболевание неизвестной этиологии, поражающее слизистую оболочку прямой и толстой кишки с язвенно-деструктивными изменениями, имеющее хроническое рецидивирующее течение, нередко сопровождающееся развитием опасных для жизни осложнений [2].

Распространенность НЯК в индустриально развитых странах в последние десятилетия приобрела характер почти эпидемии. Так, в США она составляет 116 случаев на 100 тыс. населения, в Италии тот же показатель равен 121, в Канаде – 37,2; частота выявления новых случаев НЯК в Северной Америке и Северной Европе колеблется от 3 до 15 случаев на 100 тыс. населения в год [3–5].

Этиология НЯК до сих пор неизвестна. Обсуждаются 3 основных концепции: 1) заболевание вызывается экзогенными факторами, основным из которых считается инфекция; 2) НЯК является аутоиммунным заболеванием; 3) в основе этого заболевания лежит дисбаланс иммунной системы желудочно-кишечного тракта [2, 6].

Широко обсуждается возможная связь условно-патогенной микрофлоры толстой кишки с патогенезом НЯК [7]. Поиск конкретного возбудителя этого заболевания среди микроорганизмов продолжается до настоящего времени, однако при этом практически всегда выявляется дисбиоз кишечника, коррелирующий с тяжестью его воспаления [8]. Причем известно, что при воспалительных заболеваниях кишечника значительно снижается иммунологическая толерантность к бактериям, населяющим желудочно-кишечный тракт, а формирующийся дисбиоз, видимо, активно влияет на секреторную, моторную и другие функции толстой кишки [9, 10]. Важная роль в патогенезе НЯК отводится нарушению барьерной функции слизистой кишечника, при этом бактериальные агенты могут проникать в глубокие ткани кишки, что запускает каскад воспалительных и иммунных реакций [6].

Принцип назначения медикаментозных средств при воспалительных заболеваниях кишечника основывается на применении основных и дополнительных препаратов. При НЯК среди базисных препаратов – аminosалицилаты, кортикостероиды и иммунодепрессанты [11–16], а антимикробные химиопрепараты используют в качестве дополни-

тельных средств, из которых обычно рекомендуются метронидазол в сочетании с фторхинолонами и цефалоспорины III–IV поколений [3, 17–19]. При этом в литературе нет единого мнения о целесообразности назначения антимикробной терапии при НЯК. Ряд авторов указывают, что антибактериальная терапия НЯК не оказывает желаемого эффекта, в связи с чем при лечении даже тяжелых форм НЯК не включают в схему лечения антибиотики [20–25]. Однако другие специалисты считают антибиотики (например ципрофлоксацин в сочетании с метронидазолом) показанными при тяжелых обострениях НЯК и указывают, что антибиотики целесообразны при выраженной воспалительной реакции, угрозе развития осложнений, многочисленных микроабсцессах в слизистой толстой кишки [1, 18]. Более того, существует мнение, что антимикробная терапия может быть полезна не только при тяжелом, но и при среднетяжелом течении НЯК с выраженной токсемией и даже при легком течении, но только при обнаружении микроабсцессов в слизистой [17]. Г.И. Воробьев с соавт. считают показанной антимикробную терапию при НЯК, так как нарушение барьерной функции толстой кишки приводит к развитию синдрома токсемии [26].

При гормонорезистентной и тяжелой формах НЯК наиболее часто назначаются фторхинолоны, цефалоспорины и метронидазол [3, 26, 27].

Отсутствие единого мнения о применении антимикробной химиотерапии у пациентов с НЯК приводит к нерациональному подходу в ведении данной группы пациентов. Широкое использование цефалоспоринов III поколения приводит к селекции штаммов энтеробактерий, продуцирующих β -лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Частые инвазивные вмешательства у больных с НЯК способствуют распространению резистентных микроорганизмов в стационаре. Нарушение целостности слизистой оболочки толстой кишки создает благоприятные условия для колонизации биотопа транзитной микрофлорой. Логично предположить, что наибольшее значение в развитии обострений НЯК должны иметь микроорганизмы, находящиеся непосредственно в слизистой оболочке и на поверхности язвенно-некротических образований.

Представляется целесообразным проанализировать антибиотикорезистентность микрофлоры, выделенной из биопсийного материала у больных с НЯК, полученного из участков поражения слизистой оболочки толстой кишки.

Материал и методы

В работе было обследовано 34 пациента с НЯК в возрасте от 19 до 75 лет, которые лечились в про-

ктологическом отделении клиники госпитальной хирургии СамГМУ с 2009 по 2010 г. Мужчин было 16, женщин – 18. У всех больных выполнялись стандартные клинические и лабораторные исследования, а также ректороманоскопия, колоноскопия с биопсией, обзорная рентгенография брюшной полости, ирригоскопия, релаксационная энтерография, фистулография при наличии свищей, ультрасонография и фиброгастроскопия.

Тяжесть НЯК оценивали по критериям J.G. Truelove и L.I. Witts (1955) с дополнениями Е.А.Белюсовой [17]. Легкая форма НЯК была у 4 (11,8%) пациентов, среднетяжелая – у 19 (55,9%), тяжелая – у 11 (32,4%).

Дистальный колит был выявлен у 11, левосторонний – у 11, субтотальный – у 4 и тотальный – у 8 больных. Ранее 7 пациентов были оперированы. Внекишечные проявления НЯК отмечены у 6 больных. Осложнения наблюдались у 2 больных с НЯК, сопутствующие заболевания выявлены у 11 больных. Гормонорезистентная форма заболевания была у 2, гормонозависимая – у 1 больного.

Оперировано 4 больных с тяжелой распространенной формой НЯК, им были выполнены различные варианты субтотальной резекции ободочной кишки с формированием илеостомы. Осложнений и летальных исходов не было.

Сбор материала проводили в соответствии с МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Биопсийный материал язвенных поражений слизистой оболочки толстой кишки собирался во время фиброколоноскопии и ректороманоскопии.

Выделение и идентификацию культур осуществляли классическими методами с использованием коммерческих тест-систем.

Антибиотикорезистентность оценивали в соответствии с МУ 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Продуцентов БЛРС выявляли «методом двойных дисков» с цефтазидимом, цефотаксимом и амоксициллином/клавуланатом. У неферментирующих грамотрицательных бактерий определяли способность выделять металло-β-лактамазы (МБЛ) диско-диффузионным методом с ЭДТА, цефтазидимом, меропенемом и имипенемом.

Результаты исследования

В исследовании было выделено и идентифицировано 70 штаммов грамотрицательных палочковидных бактерий. Преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae*. У 94,1% пациентов были выделены бактерии рода *Klebsiella* (32 штам-

ма), у 64,7% была выделена *Escherichia coli* (22 штамма). У 2 пациентов был выделен *Citrobacter* spp. Кроме энтеробактерий из биопсийного материала больных НЯК выделялись бактерии из семейства *Pseudomonadaceae*: у 8 – *Pseudomonas aeruginosa*, у 6 – *Stenotrophomonas maltophilia* (рис.1).

Среди выделенных бактерий рода *Klebsiella* все штаммы были резистентны к ампициллину и чувствительны к амоксициллину/клавуланату и имипенему. Чувствительными к цефалоспорином III поколения были 46,9% из выделенных культур, к гентамицину – 87,5% штаммов, к ципрофлоксацину – 81,3%. БЛРС-фенотип резистентности был обнаружен у 43,8% штаммов *Klebsiella* spp. (рис. 2).

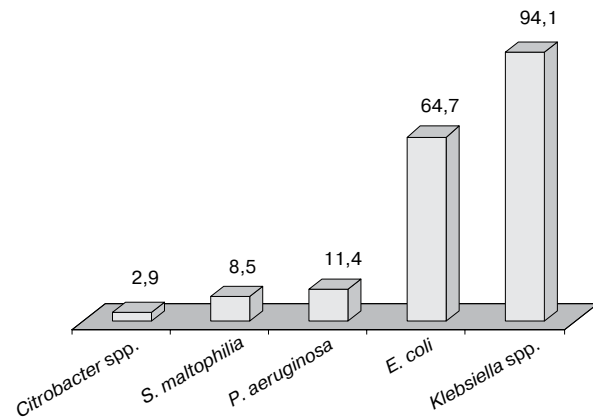


Рис. 1. Частота выделения (в %) грамотрицательной микрофлоры из биопсийного материала у больных НЯК.

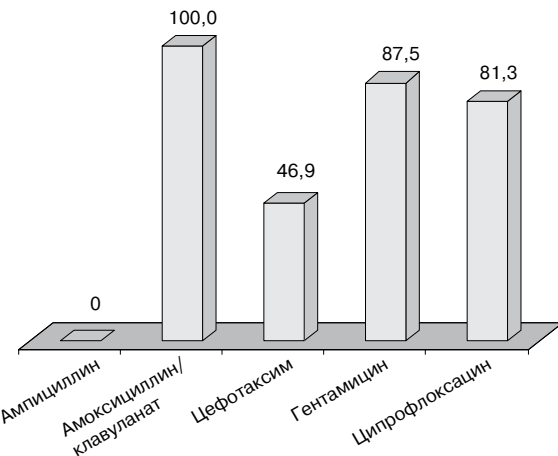


Рис. 2. Чувствительность (в %) к антибиотикам выделенных штаммов *Klebsiella* spp.

Среди штаммов *E. coli* 90,9% были резистентны к ампициллину, все штаммы сохраняли чувствительность к ингибиторозащищенным аминопенициллинам и карбапенемам. Продуцентами БЛРС

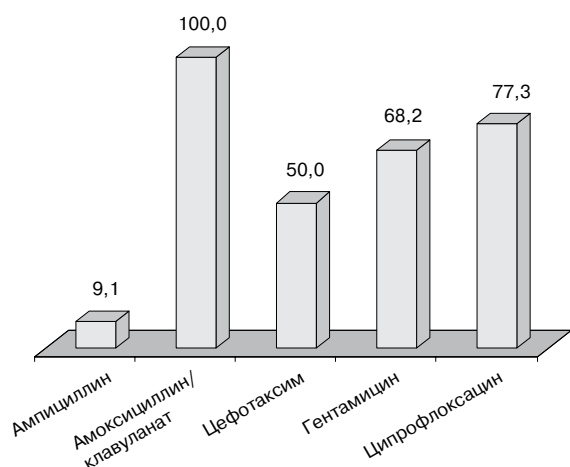


Рис. 3. Чувствительность (в %) к антибиотикам выделенных штаммов *E. coli*.

оказались 40,9% штаммов *E. coli*, выделенных из пораженных участков толстой кишки у больных с НЯК. К гентамицину были чувствительны 68,2% штаммов, к ципрофлоксацину – 77,3% (рис. 3).

Среди выделенных штаммов *P. aeruginosa* 62,5% оказались резистентными к цефтазидиму, гентамицину и имипенему; к цефепиму были резистентны 75,0% культур, к амикацину – 87,5%. Все выделенные штаммы *P. aeruginosa* сохраняли чувствительность к фторхинолонам. МБЛ фенотип резистентности не был выявлен ни у одного из выделенных штаммов.

Все выделенные штаммы *S. maltophilia* проявляли устойчивость к аминогликозидам и карбапенемам, что обусловлено природной резистентностью этого микроорганизма к данным группам антимикробных препаратов. Чувствительность к сульфаметоксазолу/триметоприму и фторхинолонам была сохранена у всех выделенных культур *S. maltophilia*.

Обсуждение результатов исследования

Полученные данные свидетельствуют о широком распространении среди больных с НЯК энтеробактерий, продуцирующих БЛРС. Возможно, это обусловлено распространением данного фенотипа

резистентности среди энтеробактерий в стационарах. В связи с частыми инвазивными процедурами больные НЯК могут инфицироваться данными штаммами. Другая причина столь широкого распространения продуцентов БЛРС среди *E. coli* и *Klebsiella* spp., выделенных из пораженных участков толстой кишки у больных НЯК, может быть обусловлена нерациональным использованием цефалоспоринов III поколения в качестве дополнительной терапии у данной группы пациентов.

Таким образом, отсутствие достоверных данных об этиологической роли условно-патогенной микрофлоры в развитии НЯК создает трудности в применении антимикробной терапии. Дисбиотические изменения встречаются у большинства больных НЯК, а воспалительные изменения слизистой оболочки создают благоприятные условия для колонизации и инвазии условно-патогенной микрофлоры в слизистый и подслизистый слой толстой кишки.

В литературе представлены данные о возможном участии бактерий рода *Klebsiella* в воспалительных процессах в толстой кишке, как в монокультуре, так и в ассоциации с другими условно-патогенными бактериями. В связи с тем, что вопрос об этиологии неспецифического язвенного колита остается открытым, нельзя исключить роль выделенных микроорганизмов в развитии воспалительных изменений в слизистой толстой кишки.

Использование антимикробной терапии является оправданным в периоды обострения заболевания, либо во время развития осложнений. Однако колонизация пораженных участков толстой кишки резистентными микроорганизмами может приводить к неэффективности проводимой терапии. Для получения достоверных данных об этиологии НЯК и роли условно-патогенной микрофлоры в патогенезе воспаления толстой кишки нужны дальнейшие исследования. Особенно это становится актуальным в связи с широким распространением среди больных НЯК неферментирующих грамотрицательных бактерий с природной и приобретенной резистентностью и энтеробактерий, продуцирующих БЛРС.

Литература

1. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения. Руководство для практикующих врачей. - М.: Литера, 2007.
2. Комаров Ф.И., Осадчук А.М., Осадчук М.А., Кветной И.М. Неспецифический язвенный колит. М.: Медицинское информационное агентство, 2008.
3. Воробьев Г.И., Головенко О.В., Капуллер Л.Л. и соавт.

Трансформация клинических диагнозов у больных с неспецифическими воспалительными заболеваниями кишечника. Рос журн гастроэнтерол гепатол и колопроктол 2004; 5:82-7.

4. Sandler R.S., Eisen G.M. Epidemiology of inflammatory bowel disease. Inflammatory bowel disease. Fifth edition. Saunders; 2000.

5. Никитин И.Г., Тотолян Г.Г., Прушковская М.П. и соавт. Поражение печени у больной с неспецифическим язвенным колитом. Рос журн гастроэнтерол гепатол и колопроктол 2007; 5:74-8.
6. Воробьев Г.И. Основы колопроктологии. М.: Медицинское информационное агентство, 2006.
7. Фарелл Р., Пепперкорн М. Язвенный колит. Международный мед журнал 2003; 1:24-30.
8. Чашкова Е.Ю., Фадеева Т.В., Пак В.Е. и соавт. Роль микробного фактора в развитии гнойно-септических осложнений у больных неспецифическим язвенным колитом. Колопроктология 2003; 4(6):10-5.
9. Лягина И.А., Корнева Т.К., Головенко О.В. и соавт. Характеристика кишечной микрофлоры у больных язвенным колитом. Рос журн гастроэнтерол гепатол и колопроктол 2008; 2:48-54.
10. Sartor R.B. Microbial influences in inflammatory bowel disease, role in pathogenesis and clinical implications. Kirsner's inflammatory bowel diseases. 6 ed. Section II; 2004.
11. Халиф И.Л. Лечебная тактика при язвенном колите. Рос журн гастроэнтерол гепатол и колопроктол 2006; 3:58-61.
12. Kamm M.A. Review article: biological drugs in Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther 2006; 24(Suppl 3):80-9.
13. Lémann M., Mary J.Y., Duclos B., et al. Infliximab plus azathioprine for steroid-dependent Crohn's disease patients: a randomized placebo-controlled trial. Gastroenterology 2006; 130:1054-61.
14. López-Sanromán A., Bermejo F. Review article: how to control and improve adherence to therapy in inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther 2006; 24(Suppl 3):45-9.
15. Sutherland L., Macdonald J.K. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev 2006; (2):CD000544.
16. Travis S. Infliximab and azathioprine: bridge or parachute? Gastroenterology 2006; 130:1354-7.
17. Белоусова Е.А. Язвенный колит и болезнь Крона. - Тверь: Триада, 2002.
18. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Гастроэнтерология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
19. Халиф И.Л., Лоранская И.Д. Воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона): клиника, диагностика и лечение. - М.: Миклош; 2004.
20. Григорян Р.А. Абдоминальная хирургия. - М.: Медицинское информационное агентство, 2006.
21. Кешав С. Наглядная гастроэнтерология. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.
22. Мышкина А.К. Новый справочник гастроэнтеролога. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2006.
23. Тревис С.П.Л. Гастроэнтерология. - М.: Мед. лит., 2002.
24. Рапопорт С.И., Лядов К.В., Малиновская Н.К. Практическая гастроэнтерология: Клиника, диагностика, лечение. - М.: ИД Медпрактика, 2005.
25. Григорьев П.Я., Яковенко А.В. Клиническая гастроэнтерология. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004.
26. Воробьев Г.И., Халиф И.Л. Неспецифические воспалительные заболевания кишечника. - М.: Миклош, 2008.
27. Воробьев Г.И., Панцырев Ю.М., Жученко А.П. и др. Острый дивертикулит сигмовидной кишки: клиника, диагностика и лечение. Рос журн гастроэнтерол гепатол и колопроктол 2007; 4:44-9.