

О.Е. ДАВЫДОВА, П.С. АНДРЕЕВ, С.Е. КАТОРКИН, А.В. ЛЯМИН

Самарский государственный медицинский университет

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА У БОЛЬНЫХ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

В статье представлены данные о качественном составе микрофлоры, выделенной из биопсийного материала 18 пациентов с язвенным колитом. Зафиксировано значительное видовое разнообразие микрофлоры, требующее точной видовой идентификации и разработки стандартных процедур выделения микроорганизмов из биоптатов у пациентов с язвенным колитом.

Ключевые слова: язвенный колит, микрофлора, биопсия

Давыдова Ольга Евгеньевна – врач-колопроктолог клиники госпитальной хирургии. E-mail: doctorproct@mail.ru

Андреев Павел Сергеевич – врач-колопроктолог клиники госпитальной хирургии, ассистент кафедры госпитальной хирургии. E-mail: pashaandreev@yandex.ru

Каторкин Сергей Евгеньевич – к.м.н., доцент, заведующий кафедрой и клиникой госпитальной хирургии. E-mail: katorkinse@mail.ru

Лямин Артем Викторович – к.м.н., заведующий бактериологическим отделом ЦКДЛ. E-mail: avlyamin@rambler.ru

O.E. DAVYDOVA, P.S. ANDREEV, S.E. KATORKIN, A.V. LYAMIN

Samara State Medical University

MICROBIOLOGICAL MONITORING OF BIOPSY MATERIAL IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS

The article presents data on the qualitative composition of microflora isolated from biopsy material of 17 patients with ulcerative colitis. The recorded substantial diversity of microflora require accurate species identification and development of standard procedures for the allocation of micro-organisms from biopsy specimens in patients with ulcerative colitis.

Key words: ulcerative colitis, microflora, biopsy

Olga Evgenievna Davydova – Coloproctologist of Hospital Surgery Clinic. E-mail: doctorproct@mail.ru

Pavel Sergeevich Andreev – Assistant of the Hospital Surgery Chair, Coloproctologist. E-mail: pashaandreev@yandex.ru

Katorkin Sergey Evgenievich – Candidate of Medicine, Associate Professor, Head of the Hospital Surgery Chair and Hospital Surgery Clinic. E-mail: katorkinse@mail.ru

ArtemVictorovich Lyamin – Candidate of Medicine, Head of the Bacteriological Department of CDL. E-mail: avlyamin@rambler.ru

Язвенный колит (ЯК) – распространенное заболевание, причем наблюдается тенденция к ежегодному увеличению случаев его выявления, при этом преимущественно поражаются лица молодого и трудоспособного возраста [1]. Пик заболеваемости приходится на возрастной период 20-40 лет [4, 5]. Этиология язвенного колита до сих пор неизвестна, при этом одним из важных факторов, осложняющих его течение, является микрофлора, которая может влиять на процесс обострения заболевания. При воспалительных заболеваниях кишечника у больных потеряна иммунологическая толерантность к бактериям, населяющим желудочно-кишечный тракт [6, 8].

При развитии ЯК нарушается барьерная функция слизистой оболочки кишечника, при этом бактериальные агенты могут проникать в глубокие ткани кишки, запуская каскад воспалительных и иммунных реакций. Нарушение целостности слизистой оболочки толстой кишки создает благоприятные условия для обсеменения транзитной микрофлорой пораженного участка [7].

Микроорганизмы, находящиеся в слизистой оболочке и на поверхности язвенно-некротических образований, принимают непосредственное участие в развитии обострений ЯК. В настоящее время отсутствует единое мнение о применении антибактериальной терапии

у пациентов с ЯК. Применение цефалоспоринов 3 поколения способствует селекции штаммов энтеробактерий, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС).

Цель исследования: проанализировать качественный состав микрофлоры, выделенной из биопсийного материала у пациентов с ЯК, полученного из участков поражения слизистой оболочки толстой кишки, а также подобрать эффективные схемы эрадикационной терапии.

Материалы и методы

Было обследовано 18 пациентов с язвенным колитом в возрасте от 28 до 61 года, которые находились на стационарном лечении в отделениях колопроктологии и гастроэнтерологии Клиник СамГМУ с января по октябрь 2016 года. Мужчин было 9 (50%), женщин также 9 (50%). Распределение пациентов по возрасту и полу представлено в таблице 1.

Всем больным выполнялись стандартные клинические и лабораторные исследования, ирригоскопия, ректороманоскопия, фиброколоноскопия с биопсией.

Тяжесть ЯК оценивали по критериям J.G. Truelove и L.I. Witts (1955) с дополнениями Е.А. Белоусовой (2002). Легкая форма ЯК была у 3 (16,6%) пациентов, среднетяжелая – у 10 (55,5%), тяжелая – у 5 (27,7%) [2, 11].

(спазмолитики – папаверин, нош-па). При среднетяжелой и тяжелой формах ЯК назначали инфузионную терапию, аминокислоты, хлористый калий, витамины группы В, гемостатические препараты, парентеральное питание и антибактериальную терапию (ципрофлоксацин, цефалоспорины III поколения и метронидазол), поскольку при воспалении развивается дисбиоз и нарушается барьерная функция толстой кишки.

У всех пациентов забор материала осуществлялся до начала лечения.

Сбор материала проводили в соответствии с методическими указаниями МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Собирался биопсийный материал язвенных поражений слизистой оболочки толстой кишки во время фиброколоноскопии и ректороманоскопии. Выделенные культуры идентифицировали с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии. У всех выделенных культур определяли антибиотикорезистентность диско-диффузионным методом в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». У всех энтеробактерий дополнительно определяли фенотипы продукции БЛРС

Таблица 1

Распределение больных ЯК (n=18) по возрасту и полу

возраст \ пол	21-40 лет	41-50 лет	51-60 лет	61-70 лет	Всего
мужчины	7	1	1	-	9
Женщины	5	2	1	1	9
Итого	12 (66,6%)	3 (16,6%)	2 (11,1%)	1 (5,5%)	18 (100%)

Таблица 2

Распределение больных ЯК (n=18) по степени тяжести заболевания

возраст \ форма ЯК	21-40 лет	41-50 лет	51-60 лет	61-70 лет	Всего
Легкая	1	1	1	-	3
Среднетяжелая	6	2	1	1	10
Тяжелая	3	1	1	-	5
Итого	10 (55,5%)	4 (22,2%)	3 (16,6%)	1 (5,5%)	18 (100%)

Дистальный колит выявлен у 6 (33,3%), субтотальный – у 6 (33,3%) и тотальный – у 6 (33,3%) больных.

Терапия включала базисные препараты, содержащие 5-АСК (5-аминосалициловую кислоту), фолиевую кислоту, стероидные гормоны (преднизолон, гидрокортизон) и симптоматические средства

(β-лактамазы расширенного спектра действия) методом двойных дисков с цефалоспорином III поколения и амоксициллином/клавулановой кислотой.

Результаты и их обсуждение

Из биопсийного материала 18 пациентов было выделено и идентифицировано 38 штаммов микроорганизмов: 24

штамма из семейства *Enterobacteriaceae*, 1 штамм из группы грамотрицательных неферментирующих бактерий, 12 штаммов из рода *Enterococcus*. Видовой состав выделенных микроорганизмов представлен в таблице 3.

Таблица 3
Видовой состав микрофлоры, выделенной из биопсийного материала от пациентов с ЯК (n=18)

Видовое название микроорганизма	Абс.	%
<i>Escherichia coli</i>	14	36,8
<i>Klebsiella pneumonia</i>	6	15,7
<i>Citrobacter braakii</i>	2	5,2
<i>Morganella morganii</i>	1	2,6
<i>Hafnia alvei</i>	1	2,6
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2,6
<i>Enterobacter kobei</i>	1	2,6
<i>Aeromonas caviae</i>	1	2,6
<i>Enterococcus faecium</i>	3	7,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	7,8
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	3	7,8
<i>Enterococcus asburiae</i>	2	5,2
Итого	38	100%

У 5-ти пациентов (27,7 %) микроорганизмы были выделены в монокультуре, у 11-ти пациентов (61,1 %) было выделено 3-5 микроорганизмов. Роста микрофлоры не было выделено из 2-х проб биопсийного материала (11,1 % пациентов).

20 штаммов было выделено в титре 10^5 КОЕ в биоптате, 3 штамма – в титре 10^6 КОЕ в биоптате, 5 штаммов – в титре 10^4 КОЕ в биоптате, 7 штаммов – в титре 10^3 КОЕ в биоптате.

У всех выделенных штаммов была определена резистентность к антибактериальным препаратам. 5 штаммов *E. coli* (35,7 %) оказались резистентными к ампициллину и фторхинолонам. 4 (28,6 %) штамма проявили фенотип продуцента БЛРС. У остальных 5 (35,7 %) штаммов *E. coli* не было выявлено признаков резистентности к тестируемым антимикробным препаратам.

Из 6 штаммов *K. pneumoniae* 2 оказались продуцентами БЛРС, у остальных штаммов не было выявлено резистентности к тестируемым препаратам.

Другие энтеробактерии, выделенные из биопсийного материала, не проявляли признаков приобретенной антибиотикорезистентности. Все представители рода *Klebsiella* обладают природной ре-

зистентностью к ампициллину, тикарциллину и пиперациллину.

Среди энтерококков не было выделено штаммов, резистентных к ванкомицину. Все штаммы сохраняли чувствительность к основным группам препаратов.

Выделение микроорганизмов из группы энтеробактерий или энтерококков в биопсийном материале у пациентов с ЯК является косвенным фактом их участия в патологическом процессе в слизистой оболочке толстой кишки. Особенно это имеет значение в случае выделения микроорганизмов в монокультуре или в ассоциациях из близкородственных видов. Количественная характеристика в титрах 10^4 и более для условно патогенных бактерий является отклонением от нормы при обследовании каловых масс на дисбактериоз кишечника [9].

Таким образом, выделение энтеробактерий из биопсийного материала в указанных титрах требует назначения антибактериальной терапии даже в случае возможной контаминации биоптата кишечным содержимым.

Важность детального исследования видового состава энтерококков у пациентов с ЯК обусловлена высокими рисками распространения их во внутрибольничной среде и формирования множественной лекарственной устойчивости [3, 10].

Выводы

1. Значительное биологическое разнообразие выделенных микроорганизмов обусловлено механизмами природной и приобретенной резистентности к основным группам препаратов, применяемых для лечения бактериальных осложнений у пациентов с ЯК.

2. При участии бактерий рода *Klebsiella* в воспалительных процессах в толстой кишке, использование антибактериальной терапии становится оправданным в периоды обострения заболевания, либо во время развития осложнений, так как колонизация пораженных участков толстой кишки резистентными микроорганизмами может приводить к неэффективности проводимой терапии.

3. Разработка индивидуальных схем эрадикационной терапии условно патогенной микрофлоры, основанных на микробиологическом мониторинге, позволит улучшить результаты лечения пациентов с язвенным колитом.

Список литературы

1. Воробьев Г.И., Халиф И.Л. Неспецифические воспалительные заболевания кишечника. – М.: Миклош, 2008. – 400 с.

2. Белоусова Е.А. Язвенный колит и болезнь Крона. – Тверь: ООО «Изд-во Триада», 2002. – 128 с.
3. Давыдова, О.Е. Улучшение результатов лечения пациентов с язвенным колитом с использованием индивидуальных схем эрадикационной терапии условно – патогенной микрофлоры, основанных на микробиологическом мониторинге / О.Е. Давыдова, С.Е. Каторкин, А.В. Лямин, П.С. Андреев // Врач – аспирант. – 2016. – Т. 77. – № 4. – С. 49-55.
4. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Гастроэнтерология: национальное руководство / Под ред. В.Т. Ивашкина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 704 с
5. Комаров Ф.И., Осадчук А.М., Осадчук М.А. и др. Неспецифический язвенный колит. – М.: ООО Медицинское информационное агентство, 2008. – 256 с.
6. Лягина И.А. Характеристика кишечной микрофлоры у больных язвенным колитом / И.А. Лягина, Т.К. Корнева, О.В. Головенко и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2008. – № 2. – С. 48-54.
7. Лямин А.В. Антибиотикорезистентность грамотрицательной микрофлоры, выделенной из биопсийного материала у больных неспецифическим язвенным колитом / А.В. Лямин, П.С. Андреев, А.В. Жестков., Б.Н. Жуков // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2010. – Т.12. – № 4. – С. 342-346.
8. Sandler R.S., Eisen G.M. Epidemiology of inflammatory bowel disease // Inflammatory bowel disease / Ed. J.V. Kirshner. Fifth edition. Saunders, 2000. – P. 89-113.
9. Отраслевой стандарт 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».
10. Karlene C. Reid, Franklin R. Cockerill III, Robin Patel Clinical and Epidemiological Features of *Enterococcus casseliflavus/flavescens* and *Enterococcus gallinarum* Bacteremia: A Report of 20 Cases. – Clin Infect Dis. – 2001 Jun 1. – 32 (11). – P. 1540-1546. – Epub 2001 Apr 30.
11. Truelove S.C. et al. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. – Br Med J. – 1955. – 2. – P. 1041-1048.