УДК 616.33-002-072.1:616.33-018.25:579.61
DOI: http://doi.org/10.3978/MG-2018-3-37

ISSN 1727-5725 (Print)
ISSN 2521-649X (Online)

Л. Н. Бобро, Т. В. Головко
Харьковский национальный медицинский университет

Особенности микробного пейзажа при нестероидиндуцированных гастропатиях у больных сахарным диабетом

Цель — изучить частоту и характер микробного поражения слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта у больных с нестероидиндуцированными (НПВП) гастропатиями на фоне сахарного диабета (СД).

Материалы и методы. Обследованы 108 пациентов с НПВП-гастропатиями (52 (48 %) мужчины и 56 (52 %) женщин), находившихся на стационарном или амбулаторном лечении в клинике Харьковского национального медицинского университета. Средний возраст пациентов — (42,5 ± 4,5) года. Основная группа была сформирована из 51 (47 %) пациента с СД, группа сравнения — из 57 (53 %) больных без СД. Обе группы были репрезентативны по возрасту и соотношению полов. Проведено микробиологическое исследование материала (в том числе хеликобактерной и грибковой инфекции) из антрального отдела желудка и/или периульцерозной зоны, полученного во время фиброгастродуоденоскопии, определение чувствительности выделенных грибов и штаммов бактерий к химиотерапевтическим препаратам.

Результаты. В основной группе статистически значимо преобладали пациенты с *Helicobacter pylori*-ассоциированными гастропатиями ($p < 0,05$). У 70 (64,2 %) пациентов обеих групп в микробном пейзаже преобладали ассоциации бактерий с грибами рода Candida. В основной группе биопленки обнаружены у всех пациентов. При дефектах размером больше 1,0 см достоверность присоединения грибковой инфекции возрастала (отношение шансов — 7,0, 95 % доверительный интервал — 2,67—8,33; $p < 0,0001$). Изучение чувствительности выявленных биопленок к действию химиопрепаратов показало, что наибольшую антимикотическую активность проявляли амфотерецин В и нистатин. Наиболее чувствительными штаммы бактерий были к антибиотикам цефалоспоринового ряда и азитромицину.

Выводы. У пациентов с НПВП-гастропатиями на фоне СД статистически значимо повышается риск контаминации слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта ассоциациями бактерий и грибов. Биопленки приводят к увеличению резистентности микроорганизмов к антифунгальным препаратам и антибиотикам. У пациентов с СД следует проводить целенаправленное обследование на наличие дисбиоза слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта и определение химиочувствительности каждого из изолированных микроорганизмов.

Ключевые слова: нестероидиндуцированные гастропатии, сахарный диабет, биопленки.

Известно, что сахарный диабет (СД) — заболевание с высоким индексом коморбидности. Как правило, у пациентов имеются признаки сердечно-сосудистой патологии, атеросклероза и/или заболеваний костно-суставного аппарата. Для устранения суставной боли пациентам с сахарным диабетом часто назначают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), в том числе ацетилсалициловую кислоту (АСК), или пациенты занимаются самолечением с применением этих препаратов. Кроме того, низкие дозы АСК используют для первичной и вторичной профилактики цереброваскулярных и сердечно-сосудистых осложнений на фоне диабетической ангиопатии. Однако известно, что даже непродолжительное применение этих препаратов может привести к развитию побочных эффектов, среди которых первое место занимают НПВП-гастропатии [11—14].

Согласно опубликованному в 2009 г. Канадскому национальному руководству по профилак-

тике НПВП-гастропатий, одновременное назначение АСК и НПВП любой селективности повышает риск эрозивно-язвенных поражений гастродуоденальной зоны и желудочно-кишечных кровотечений. В рекомендациях согласительного совещания Европейской рабочей группы по изучению *Helicobacter pylori* «Маастрихт-IV» (Флоренция, 2010) и согласительной конференции Маастрихт-V (Флоренция, 2015) инфекцию *H. pylori* рассматривают как независимый фактор риска развития гастродуоденальных язв и их осложнений при приеме НПВП [9, 10].

Доказано, что эрадикация *H. pylori* уменьшает риск развития НПВП-гастропатий. При этом использование комбинации двух антибактериальных препаратов для достижения эрадикации и предотвращения развития рецидивов, по рекомендациям Маастрихтского консенсуса, обязательно [9, 10, 14]. Однако применяемые для этой цели с расширенным спектром активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий оказывают наибольшее повреждающее действие на облигатную микрофлору желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), поэтому в последние годы при исследовании биоптатов из периульцерозной зоны часто выделяют *H. pylori* в ассоциации с другими бактериями и грибами рода *Candida* [1—3, 6].

Согласно результатам исследований бактериальные биопленки, состоящие из грибов и бактерий, характеризуются чрезвычайно высокой выживаемостью. Для всех находящихся в биопленке микроорганизмов характерна устойчивость к факторам иммунной системы, они вырабатывают в матрикс биопленки и во внешнюю среду эндотоксин, сохраняются в присутствии антибиотиков, интенсивно обмениваются генетической информацией, в том числе и генами антибиотикорезистентности [2—4, 8, 15].

В настоящее время окончательно не установлены факторы риска, причины и частота колонизации микробными ассоциациями разных отделов ЖКТ [7, 8, 10, 15]. Заболевания эндокринной системы, и прежде всего сахарный диабет (СД), рассматривают как предиктор высокого риска такой колонизации.

Цель — изучить частоту и характер микробного поражения слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта у больных с нестероидиндуцированными гастропатиями на фоне сахарного диабета.

Материалы и методы

Обследованы 108 пациентов с НПВП-гастропатиями (52 (48 %) мужчин и 56 (52 %) женщин), находившихся на стационарном или амбулаторном лечении в клинике Харьковского национального медицинского университета. Средний возраст пациентов — (42,5 ± 4,5) года. Основная группа была сформирована из 51 (47 %) пациента с СД, группа сравнения — из 57 (53 %) больных без СД. Обе группы были репрезентативны по возрасту и соотношению полов. Критерием включения в исследование было наличие НПВП-гастропатии по данным фиброгастродуоденоскопии (ФГДС) с определением микрофлоры (в том числе хеликобактерной и грибковой инфекции). Критериями исключения в обеих группах были: наличие опухолевых процессов в желудке, массивная антибиотикотерапия и химиотерапия злокачественных новообразований в анамнезе, оперативные вмешательства на верхних отделах ЖКТ, недавнее желудочное кровотечение, гематологические заболевания.

Микроорганизмы идентифицировали с помощью микробиологического исследования материала из антрального отдела желудка и/или периульцерозной зоны, полученного во время ФГДС согласно нормативным документам МЗ Украины. Хеликобактерную инфекцию определяли с помощью экспресс-теста URE-HP (Pliva-Lachema, Чехия). Для установления диморфности микромицетов *Candida spp.* (обнаружение бластомицетов, как правило, свидетельствует о кандидоносительстве, а обнаружение псевдомицелия позволяет подтвердить диагноз кандидоза) применяли цитологический метод с окраской мазков по Романовскому—Гимзе и гистологический с использованием ШИК-реакции. Для видовой идентификации грибов рода *Candida* и тестирования культуры на чувствительность к антимикотикам использовали культуральный микологический метод (посев биоматериалов слизистых оболочек на среду Сабуро). Определение чувствительности выделенных грибов и штаммов бактерий к химиотерапевтическим препаратам изучали диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона [6]. Учет результатов проводили согласно приказу МЗ Украины от 05.04.07 № 167 [5].

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы SPSS Statistics 17,0.

Результаты и обсуждение

В обеих группах преобладали пациенты с эрозивно-язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки. Статистически значимой разницы между группами по количеству язвенных дефектов не установлено ($p > 0,05$). Язва в теле желудка локализовалась у 12 (23,5 %)

больных основной группы и у 15 (26,3 %) в группе сравнения ($p > 0,05$). *H. pylori* обнаружена соответственно у 37 (72,5 %) и 28 (49,1 %) ($p < 0,05$).

У 70 (64,2 %) пациентов обеих групп в микробном пейзаже превалировали ассоциации бактерий с грибами рода *Candida*, при этом статистически значимо преобладали больные с наличием в микробных культурах ассоциации *Staphylococcus aureus* с грибами рода *Candida*, значительно реже выявляли ассоциации *Escherichia coli* и грибов рода *Candida* (50 % против 15,7 % соответственно, $p < 0,01$). У трети больных в ассоциации были выделены также виды *Streptococcus spp*., *Citrobacter spp*., чаще всего — *C. freundii*. В обеих изучаемых группах статистически значимо чаще ($p < 0,05$) были обнаружены грибы *C. albicans*, в основной группе зафиксированы также другие грибы рода *Candida*: *C. glabrata* (7,7 %) и *C. krusei* (3,8 %). При изучении микробного пейзажа обращало внимание, что ни у одного из обследованных больных основной группы не был выявлен микробный патоген в монокультуре.

Установлена взаимосвязь между размером язв и наличием грибковой флоры: при дефектах больше 1,0 см достоверность присоединения грибковой инфекции возрастала (отношение шансов (ОШ) 7,0, 95 % доверительный интервал (ДИ) 2,67—8,33; $p < 0,0001$). Атрофические изменения слизистой оболочки желудка, подтвержденные морфологически, у пациентов с язвой желудка, осложненной присоединением микоза *C. glabrata* и *C. krusei*, выявляли статистически значимо чаще (ОШ 3,17; 95 % ДИ 1,01—9,12; $p = 0,03$). Также статистически достоверно увеличивался риск контаминации грибами язвенных дефектов у пациентов с СД при наличии пилорической метаплазии в теле желудка (ОШ 9,17; 95 % ДИ 2,44—10,43; $p < 0,0001$). Реже кандидозная инфекция обнаруживалась при локализации дефекта в луковице двенадцатиперстной кишки (ОШ 0,08; 95 % ДИ 0,01—0,87; $p = 0,03$).

Изучение чувствительности биопленок к действию химиопрепаратов показало, что наибольшей антимикотической активностью обладали амфотерецин В и нистатин ($(89,1 \pm 5,8)$ и $(73,4 \pm 5,1)$ % соответственно), тогда как итраконазол, флуконазол и кетоконазол — слабой активностью ($p < 0,05$). Установлена высокая резистентность к амфотерицину В у штаммов *C. glabrata* (65 %) и *C. krusei* (50 %). Наиболее чувствительными штаммы бактерий были к антибиотикам цефалоспоринового ряда, азитромицину ($(64,3 \pm 6,7)$ и $(76,8 \pm 5,7)$ % соответственно). Наиболее активными относительно стафилококков были антибиотики ципрофлоксацин и ванкомицин ($(89,2 \pm 4,2)$ и $(98,2 \pm 1,8)$ % соответственно). Наименее чувствительными штаммы *S. aureus* были к действию пенициллина ($(14,3 \pm 4,7)$ %).

Таким образом, наши исследования подтвердили, что у пациентов с НПВП-гастропатиями на фоне СД статистически значимо повышается концентрация грибов *Candida spp*., что служит индикатором дисбиотических процессов. Причиной увеличения титров дрожжевых грибов у пациентов основной группы могли быть ассоциативные взаимодействия *Candida spp*. с *H. pylori* и другими бактериями. Результат контакта с дрожжеподобными грибами рода *Candida* обусловлен состоянием системы антифунгальной резистентности пациента. В большинстве случаев такой контакт формирует транзиторное кандидоносительство. У лиц с нарушениями в системе антифунгальной резистентности контакт может сформировать как персистирующее носительство, так и кандидоз.

Необходимость изучения микроорганизмов как ассоциантов, а не как суммы монокультур, объясняется тем, что в ассоциативных симбиозах микробные продукты действуют синергетически, обоюдно изменяя факторы патогенности. Культуральное исследование биоматериалов слизистых оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки с определением вида возбудителя и его чувствительности к химиопрепаратам у пациентов с высоким индексом коморбидности является необходимым для профилактики резистентности к стандартной антимикотической и антибактериальной терапии.

Выводы

У пациентов с НПВП-гастропатиями на фоне СД статистически значимо повышается риск контаминации слизистой оболочки верхних отделов ЖКТ ассоциациями бактерий и грибов. Биопленки приводят к увеличению резистентности микроорганизмов к антифунгальным препаратам и антибиотикам. У пациентов с НПВП-гастропатиями на фоне СД следует проводить целенаправленное обследование на наличие дисбиоза слизистой верхних отделов ЖКТ и определение химиочувствительности каждого из изолированных микроорганизмов.

Конфликта интересов нет.

Сбор и анализ материала, написание текста проводились авторами совместно.

Список литературы

1. Деркач С. А., Воронкіна І. А., Габишева Л. С. та ін. Вплив антибіотиків на біоплівкоутворення MSSA та MRSA штамами стафілокока // Інфекційні хвороби. — 2016. — Т. 86, № 4. — С. 46—51. DOI: 10.11603/1681-2727.2016.4.7212.
2. Ерёмина Е. И., Бондаренко В. М., Зверева С. И. и др. Дисбиотические проявления в течении эрадикационной терапии Helicobacter pylori и их коррекция // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. — 2008. — 3. — С. 62—66.
3. Исаева Г. Ш., Зиатдинов В. Б. Микробиота, биоплёнки и Helicobacter pylori при заболеваниях гастродуоденальной зоны // Казан. мед. журн. — 2014. — № 5. — С. 762—768.
4. Кириллова В. П., Ткач Т. М., Лямин А. В. и др. Пленкообразующая способность грибов рода Candida, выделенных со слизистой оболочки полости рта больных хроническим миелолейкозом // Рос. стоматол. журн. — 2015. — Т. 19, № 5. — С. 15—18.
5. Наказ МОЗ України від 05.04.07 № 167 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://mozdocs.kiev.ua.
6. Червинец В. М., Бондаренко В. М., Базлов С. Н. Микрофлора слизистой оболочки ульцерозной зоны больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. — 2001. — № 5. — С. 12—15.
7. Drossman D. A. Functional gastrointestinal disorders: history, pathophysiology, clinical features, and Rome IV // Gastroenterol. — 2016. — pii: S0016—5085 (16) 00223—7. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.02.032.
8. Lee Y. C., Chiang T. H., Chou C. K. et al. Association between Helicobacter pylori eradication and gastric cancer incidence: a systematic review and meta-analysis // Gastroenterol. — 2016. — Vol. 150. — P. 1113—1124.
9. Malfertheiner P. Diagnostic methods for H. pylori infection: choices, opportunities and pitfalls // United European Gastroenterol. J. — 2015. — N 3. — P. 429—431.
10. Malfertheiner P., Mégraud F., O'Morain C. et al. European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel. Management of Helicobacter pylori infection — the Maastricht V/Florence Consensus Report // Gut. — 2017. — Vol. 66 (1). — P. 6—30. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312288.
11. Park S. H., Cho C. S., Lee O. Y. et al. Comparison of Prevention of NSAID-Induces Gastrointestinal Complications by Rebamipide and Misoprostol: A randomised, multicenter, controlled trial — STORM STUDY // J Clin Biochem Nutr. — 2007. — Vol. 40 (2). — P. 148—155. DOI: 10.3164/jcbn.40.148.
12. Sostres C., Carrera-Lasfuentes P., Benito R. et al. Peptic ulcer bleeding risk. The role of Helicobacter pylori infection in NSAID/low-dose aspirin users // Am. J. Gastroenterol. — 2015. — Vol. 110. — P. 684—9. DOI: 10.1038/ajg.2015.98.
13. Straube S., Tramer M. R., Moore M. A. Mortality withupper gastrointestinal bleeding and perforation: effects of time and NSAIDS use // BMC Gastroenterol. — 2009. — N 9. — P. 41.
14. Sugano K., Tack J., Kuipers E. J. et al. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis // Gut. — 2015. — Vol. 64 (9). — P. 1353—1367.
15. Zhang M.-M., Qian W., Qin Y.-Y. et al. Probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy: a systematic review and meta-analysis // World J. Gastroenterol. — 2015. — Vol. 21. — P. 4345—4357.

Л. М. Бобро, Т. В. Головко
Харківський національний медичний університет

Особливості мікробного пейзажу при нестероїдіндукованих гастропатіях у хворих на цукровий діабет

Мета — вивчити частоту і характер мікробного ураження слизової оболонки верхніх відділів шлунково-кишкового тракту у хворих з нестероїдіндукованими (НПЗП) гастропатіями на тлі цукрового діабету (ЦД).

Матеріали та методи. Обстежено 108 пацієнтів з НПЗП-гастропатіями (52 (48 %) чоловіки та 56 (53 %) жінок), які перебували на стаціонарному або амбулаторному лікуванні в клініці Харківського національного медичного університету. Середній вік пацієнтів — (42,5 ± 4,5) року. Основну групу сформовано з 51 (47 %) пацієнта з ЦД, групу порівняння — із 57 (53 %) хворих без ЦД. Обидві групи були репрезентативними за віком і співвідношенням статей. Проведено мікробіологічне дослідження матеріалу (зокрема гелікобактерної та грибкової інфекції) з антрального відділу шлунка та періульцерозної зони, отриманого під час фіброгастродуоденоскопії, визначення чутливості виявлених грибів і штамів бактерій до хіміотерапевтичних препаратів.

Результати. В основній групі статистично значущо переважали пацієнти з Helicobacter pylori-асоційованими гастропатіями ($p < 0,05$). У 70 (64,2 %) пацієнтів в обох групах у мікробному пейзажі переважали асоціації бактерій з грибами роду Candida. В основній групі біоплівки виявлено в усіх пацієнтів. При дефектах розміром понад 1,0 см достовірність приєднання грибкової інфекції зростала (відношення шансів — 7,0, 95 % довірчий інтервал — 2,67—8,33; $p < 0,0001$). Вивчення чутливості виявлених біоплівок до дії хіміопрепаратів показало, що найбільшу антимікотичну активність виявляли амфотерецин В і ністатин. Найчутливішими штами бактерій були до антибіотиків цефалоспоринового ряду та азитроміцину.

Висновки. У пацієнтів з НПЗП-гастропатіями на тлі ЦД статистично значущо підвищується ризик контамінації слизової оболонки верхніх відділів шлунково-кишкового тракту асоціаціями бактерій та грибів. Біоплівки призводять до збільшення резистентності мікроорганізмів до антифунгальних препаратів і антибіотиків. У пацієнтів з ЦД слід проводити цілеспрямоване обстеження на наявність дисбіозу слизової оболонки верхніх відділів шлунково-кишкового тракту і визначення хіміочутливості кожного з ізольованих мікроорганізмів.

Ключові слова: нестероїдіндуковані гастропатії, цукровий діабет, біоплівки.

L. M. Bobro, T. V. Golovko
Kharkiv National Medical University

Peculiarities of microbic landscape at NSAID-induced gastropathy in patients with diabetes mellitus

Objective — to investigate the frequency and nature of microbial lesions of the mucous membrane of the upper gastrointestinal tract in patients with NSAID-induced gastropathy against the background of diabetes mellitus (DM).

Materials and methods. The study involved 108 patients with NSAID-induced gastropathy (48 % men, n = 52; 53 % women, n = 56), who were in- or outpatients of the clinic of the Kharkiv National Medical University. The mean age was 42.5 ± 4.5 years. The main group consisted of 51 (47 %) DM patients, the comparison group included 57 (53 %) patients without DM. Both groups were age- and gender-matched. The microbiological study (including Helicobacter and fungal infection) of the material (obtained during EGDS (biopsy) from the stomach antrum and/or zones around the ulcer was carried out; the fungi and bacterial sensibility to chemotherapeutic agents was determined.

Results. The patients with H. pylori-associated gastropathies significantly prevailed in the main group ($p < 0.05$). In 70 (64.2 %) examined patients the microbial composition was characterized by the predominance of combinations of bacteria and Candida fungi. Biofilms were found in all patients of the main group. At defects greater than 1.0 cm, probability of joining of the fungal infection increased (OR 7.0, 95 % CI 2.67—18.33; $p < 0.0001$). Investigation of sensibility of the obtained biofilms to the effects of chemotherapeutic agents showed that amphotericin B and nystatin had greatest antimycotic activity. The types of bacteria obtained from patients were more sensitive to cephalosporin antibiotics and azithromycin.

Conclusions. In patients with NSAID-induced gastropathy against the background of diabetes mellitus the risk of contamination of the mucous membrane of the upper parts of gastrointestinal tract by associations of bacteria and fungi reliably rises. Biofilms provoke an increased resistance of microorganisms to antifungal drugs and antibiotics. In patients with diabetes mellitus, the targeted research on dysbiosis in the upper parts of gastrointestinal mucosa should be performed. The determination of the chemosensitivity of each of the obtained microorganisms is also required.

Key words: NSAID-induced gastropathy, diabetes mellitus, biofilms.

Контактна інформація

**Бобро Лілія Миколаївна, к. мед. н., доцент кафедри загальної практики — сімейної медицини і внутрішніх хвороб
61157, м. Харків, вул. Текстильна, 4, Університетска клініка ХНМУ
E-mail: bobroliliya@gmail.com**

Стаття надійшла до редакції 30 квітня 2018 р.