

© Степанова Н. М., Сташевська Н. В., Лебідь Л. О., Савченко С. М., Колесник М. О., 2017

УДК: 616.61/63-022.7:615.281.9

Н. СТЕПАНОВА, Н. СТАШЕВСЬКА, Л. ЛЕБІДЬ, С. САВЧЕНКО, М. КОЛЕСНИК

**РИЗИК ЗНИЖЕННЯ LACTOBACILLUS SPP. У СКЛАДІ МІКРОБІОТИ КИШКІВНИКА ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЮ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ, АСОЦІЙОВАНИЙ З ПРИЙОМОМ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

N. STEPANOVA, N. STASHEVSKA, L. LEBID, S. SAVCHENKO, M. KOLESNYK

**ANTIBIOTIC- ASSOCIATED RISK THE REDUCTION OF LACTOBACILLUS SPP. IN THE INTESTINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTIONS**

ДУ «Інститут нефрології НАМНУ», м. Київ

SI «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences», Kyiv, Ukraine

**Ключові слова:** лактобактерії, кишківник, антибактеріальні лікарські засоби, гіпероксалурія.**Keywords:** lactobacilli, intestine, antibacterial drugs, hyperoxaluria.**Резюме:** Метою нашої роботи було оцінити ризик зниження індигенної мікробіоти кишківника хворих на інфекцію сечової системи (ІСС), асоційований з прийомом антибактеріальних лікарських засобів.*Матеріал та методи.* До ретроспективного когортного дослідження типу випадок-контроль було залучено 233 жінки з ІСС, віком  $36,7 \pm 15,6$  років, 159 (68%) мали неускладнену ІСС, 74 (32%) – ускладнену ІСС. Випадки визначали як зменшення кількості *Lactobacillus spp.* < 10 мільйонів колонієутворюючих одиниць в 1г фекалій (млн. КУО/г). Досліджували добову екскрецію оксалатів та бактеріологічний посів калу. Оцінюваними антибіотиками були лікарські засоби, які звичайно використовуються для лікування ІСС в амбулаторних умовах.*Результати.* Аналіз даних демонструє надзвичайно високий ризик зниження колонізації *Lactobacillus spp.* кишківника хворих на ІСС у разі застосування навіть «половинних» доз антибактеріальних лікарських засобів (АЛЗ) з профілактичною метою. Застосування ципрофлоксацину було достовірно асоційовано з наявністю гіпероксалурії ( $p = 0,31$   $p = 0,008$ ).*Висновки.* Отримані результати підтверджують, що довготривалий прийом АЛЗ, навіть у профілактичних дозах, знижує рівень *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти кишківника хворих.**Summary:** The aim of our study was to evaluate a risk reduction of indigenous gut microbiota in patients with urinary tract infection (UTI, associated with the intake of antibacterial medicinal products*Materials and methods.* To this retrospective cohort case-control study were involved 233 women with UTI. The mean age in the patient population was  $36.7 \pm 15.6$  years. Cases were defined as reducing the number of *Lactobacillus spp.* < 10 million colony forming units in 1 g of feces (mln. CFU/g). We evaluated the daily urinary oxalate excretion and bacteriological seeding feces. Investigational antibiotics were medicines which are generally used to treat the outpatient with UTI.*Results.* The data analysis demonstrated an extremely high risk the reducing of *Lactobacillus spp.* colonization in the patient's intestine. The use of ciprofloxacin was significantly associated with an availability of hyperoxaluria ( $p = 0.31$ ,  $p = 0.008$ ).*Conclusions.* Thus, the use of antibacterial medicinal products, even in prophylactic doses, by the patients with UTI leads to the destruction of the normal composition of gut microbiota, and, primarily, due to the fact that the content of *Lactobacillus spp.* is deceased.**ВСТУП.** Як відомо, основою лікування інфекції сечової системи (ІСС) загалом та пієлонефриту, зокрема, є антибактеріальна терапія [1, 4]. Проте, на сьогодні є доведеним, що застосування антибіотиків призводить до виражених коротко-строківих та довгострокових порушень біоценозу кишківника з неповним відновленням мікробіотидо вихідного складу на протязі декількох років [2, 10]. Так, було продемонстровано, що ефект навіть 7-денного застосування антибактеріальних лікарських засобів широкого спектру дії з переважним охопленням анаеробної флори (наприклад, кліндаміцину) може тривати до 2-х років, з неповним відшкодуванням різноманітності *Bacteroides* [3,6]. Аналогічним чином, короткий курс лікування *H. pylori* із застосуванням потрібної терапії призводить до різкого скорочення *Actinobacteria*, що триває понад 4 роки [5,7]. Вплив ципрофлоксацину і бета-лактамів на біоценоз кишківника є відносно недовгим, але проявляється різким зменшенням *Ruminococcus spp.* [7, 9] та зниженням мікробно-го різноманіття на 25% зі збільшенням співвідно-Степанова Наталя Михайлівна  
nmstep@ukr.net

шення Bacteroidetes / Firmicutes [11]. 6-денний курс лікування ампіциліном значно зменшує загальну кількість бактерій, у тому числі аеробних (*Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*) та анаеробних (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*) як у фекаліях, так і на слизовій оболонці товстої кишки [12]. Більше того, Ying-Ying Wu зі співавторами експериментально продемонстрували антибіотик-індуковане зниження експресії TOLL-подібних рецепторів 4 (TLR4), протимікробних білків REGIII $\beta$  / REGIII $\gamma$  та дефензинів, які забезпечують захист цілісності епітеліального бар'єру шлунково-кишкового тракту, а їх дефіцит ініціює розвиток запальних захворювань кишківника [8].

У попередніх дослідженнях нами було продемонстровано, що постійне застосування антибактеріальних лікарських засобів, у тому числі й довготривала антибіотикопротекція у хворих на рецидивуючий пієлонефрит, порушує видовий та кількісний склад мікробіоти кишківника з істотним зниженням *Lactobacillus spp.* та формуванням гіпероксалурії [1, 78]. Разом з тим, вплив застосування антибіотиків, які найчастіше використовуються для лікування пацієнтів з ІСС, на кількісний склад *Lactobacillus spp.* у фекаліях хворих визначено не було.

**МЕТОЮ** нашої роботи було ретроспективно оцінити ризик зниження *Lactobacillus spp.* у кишківнику хворих на ІСС, асоційований з прийомом антибактеріальних лікарських засобів.

**ПАЦІЄНТИ ТА МЕТОДИ.** Ретроспективне когортне дослідження типу випадок-контроль із залученням результатів анамнестичного та клінічного обстеження 233 жінок з ІСС, які перебували на амбулаторному лікуванні у ДУ «Інститут нефрології НАМН України» з 2008 по 2015 роки. Вік жінок коливався від 19 до 60 років (у середньому  $36,7 \pm 15,6$  років), тривалість захворювання у середньому становила  $12,8 \pm 7,9$  років.

Критеріями включення у дослідження були: діагностована ІСС у жінок (ускладнена й неускладнена зі спорадичним або рецидивуючим перебігом). Критеріями виключення були: відмова хворої від участі у дослідженні, вагітність та період лактації, уролітіаз, ознаки обструкції сечової системи, цукровий діабет, зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ)  $< 60$  мл/хв/1,73 м<sup>2</sup>.

Протокол дослідження був схвалений локальною етичною комісією ДУ «Інститут нефрології НАМН України».

Серед включених у дослідження жінок 159 (68%) мали неускладнену ІСС, 74 (32%) – ускладнену ІСС. За неускладнену ІСС вважали наявність ознак запалення сечового міхура та/або нирок у молодій, сексуально активній, невагітній жінки без анатомічних та/або функціональних аномалій сечової системи. За ускладнену приймали ІСС у жінок менопаузального віку або старших за 60 років з наявністю структурних аномалій сечової системи та/або будь-яких супутніх захворювань. Основни-

ми ускладнюючими факторами у досліджуваній когорті були: мено- або постменопаузальний вік – 41 (55,4%) пацієнтка, артеріальна гіпертензія – 21 (28,4%), наявність поодиноких кіст у нирках – 8 (10,8%), оперативні втручання на органах малого тазу в анамнезі – 4 (5,4%).

Пієлонефрит був діагностований у 197 (84,5%) жінок, хронічний цистит – у 36 (15,5%) хворих.

Рецидивуючий перебіг ІСС діагностовано у більшості жінок – 161 (69%), спорадичний – у 72 (31%) пацієнток. Під цим терміном розуміли наявність 3-х та більше загострень захворювання протягом року. За спорадичний приймали 1-2 рецидиви / рік.

Випадки визначали як зменшення кількості *Lactobacillus spp.*  $< 10$  мільйонів колонієутворюючих одиниць в 1г фекалій (млн. КУО/г). До контролю увійшли пацієнтки з нормальним вмістом лактобактерій ( $\geq 10$  млн. КУО/г). Оцінюваним у дослідженні впливом був анамнестично визначений пероральний прийом антибактеріальних лікарських засобів у період від 12 до 1 місяця перед обстеженням.

Добову екскрецію оксалатів та бактеріологічний посів калу виконували під час другого візиту хворої, до початку антибактеріального лікування.

Культуральне дослідження калу із визначенням кількісного вмісту *Lactobacillus spp.* виконували у лабораторії «Сінево», свідоцтво про атестацію № ПТ - 120 / 12, видане 06.04.2012 р. та чинне до 05.04.2017.

Оцінюваними антибіотиками були лікарські засоби, які звичайно використовуються для лікування ІСС в амбулаторних умовах: пеніциліни (амоксцилін клавуланат), цефалоспорины III генерації (цеффіксим), фторхінолони II (ципрофлоксацин, норфлоксацин) і III генерації (левофлоксацин) та нітрофурані (нітрофурантоїн, фуразидін, фуразидін К). Аналіз проводився для кожної групи антибіотиків окремо; крім того оцінювали вплив кількості курсів антибіотиків (1, 2 та  $\geq 3$  курсів за рік).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми «MedCalc». Відмінність частот у групах порівнювали за допомогою критерію  $\chi^2$ . Для порівняння середніх значень використовували критерій Ст'юдента (tS). Відношення шансів (ВШ) і 95% довірчі інтервали (ДІ) розраховували з використанням логістичної регресії. Ризики були скореговані з урахуванням віку пацієнток, наявності ускладнюючих факторів ІСС, тривалості антибактеріальної терапії та кількістю її курсів за останні 12 місяців перед підсумковою оцінкою. Усі коваріати були визначені до дати індексу.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідження були включені 173 випадки зниження вмісту лактобактерій  $< 10$  млн. КУО/г фекалій та, відповідно, 60 даних контролю. Групи випадку та контролю були ідентичними за віком, наявністю ускладнюючих факторів та топікою ІСС (табл. 1).

Таблиця 1

## Характеристика досліджуваної когорти

	Випадок	Контроль	$\chi^2$ ; p
Вік (роки, M $\pm$ SD)	38,5 $\pm$ 12,7	33,8 $\pm$ 13,9	P = 0,07
Ускладнена ICC (n;%)	55 (31,8%)	19 (31,6%)	0,08; P = 0,97
Неускладнена ICC (n;%)	118 (68,2%)	41 (68,3%)	0,01; P = 0,95
Спорадичний перебіг (n;%)	31 (18%)	41 (68,3%)	52,5; P < 0,0001
Рецидивуючий перебіг (n;%)	142 (82,1%)	19 (31,6%)	40,4; P < 0,0001
Пієлонефрит (n;%)	148 (85,6%)	49 (81,7%)	0,52; P = 0,47
Цистит (n;%)	25 (14,5%)	11 (18,4%)	0,5; P = 0,47

Проте, як і очікувалось, у пацієток з низьким вмістом лактобактерій у кишківнику достовірно частіше був діагностований рецидивуючий перебіг захворювання (див. табл. 1).

Основною групою антибактеріальних лікарських засобів, що застосовувались для профілактики рІСС, були фторхінолони – 90/233 (38,6%), серед яких найчастіше призначався ципрофлоксацин – у 63/90 (70%) жінок, левофлоксацин отримували 27/90 (30%) хворих.

Нітрофуранани до дня аналізу з профілактичною метою призначались 63/233 (27%) хворим, серед них: фуразидін К – 34/63 (54%), нітрофурантоїн – 29/63 (46%) пацієнткам.

43/233 (18,5%) пацієток отримували цефалоспорино III генерації – цефіксим.

Пеніциліни, а саме амоксицилін клавуланат, застосовувався у 37/233 (15,9%) пацієнок.

Ризик антибіотик-індукованого зниження лактобактерій у складі мікробіоти кишківника хворих на ІСС продемонстровано у таблиці 2 та на рис.1.

Таблиця 2

Ризик знешкодження *Lactobacillus spp.* залежно від застосованих антибактеріальних лікарських засобів

Антибіотики	Випадок	Контроль	ВШ	95% ДІ	P
Ципрофлоксацин	55 (87,3%)	8 (12,7%)	47,3	16,6-134,9	<0,0001
Левофлоксацин	25 (92,6%)	2 (7,4%)	156,2	20,4-1198	<0,0001
Фуразидін К	22 (64,7%)	12 (35,3%)	3,4	1,25-9,1	0,01
Нітрофурантоїн	19 (65,5%)	10 (34,5%)	3,6	1,22-10,7	0,02
Цефіксим	22 (51,1%)	21 (48,9%)	1,1	0,47-2,56	0,83
Амоксицилін клавуланат	30 (81%)	7 (19%)	18,4	5,7-59	<0,001

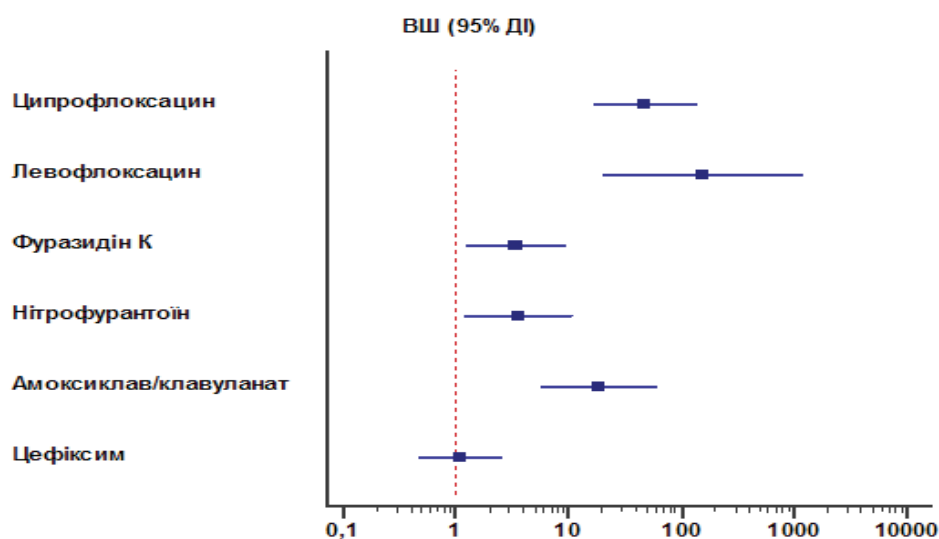


Рис. 1. Відношення шансів знешкодження лактобактерій у кишківнику хворих на ІСС, залежно від застосованих антибактеріальних лікарських засобів.

Наведені дані демонструють надзвичайно високий ризик зниження колонізації *Lactobacillus spp.* кишківника хворих на ІСС у разі застосування навіть «половинних» доз АЛЗ з профілактичною метою. Так, антибактеріальна профілактика рІСС за допомогою левофлоксацину (125 мг 1 раз на добу, 5 разів / тиждень протягом 6 місяців) більш ніж у 156 разів підвищувала ризик знешкодження *Lactobacillus spp.* у кишківнику хворих, застосування ципрофлоксацину – у 47 разів, амоксициліну клавуланату – у 18 разів, нітрофуранів – більш ніж утричі.

Крім того, застосування ципрофлоксацину було достовірно асоційовано з наявністю гіпероксалурії ( $p=0,31$   $p=0,008$ ).

**ВИСНОВКИ.** Довготривалий прийом антибактеріальних лікарських засобів, навіть у профілактичних дозах, знижує рівень *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти кишківника хворих, що свідчить про необхідність мінімізації частоти антибактеріальної профілактики рецидивуючої ІСС. Тобто, доцільність її призначення може бути обґрунтована лише у разі неефективності попередніх неантибактеріальних стратегій. Крім того, необхідним є пролонговане відновлення мікробіоти кишківника хворих за допомогою пробіотиків, що містять лактобактерії.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. *Barr-Beare E.* The Interaction between Enterobacteriaceae and Calcium Oxalate Deposits (Electronic resource) / Barr-Beare E., Saxena V., Hilt E. E., [et al.] // Sands JM, ed. PLoS ONE. – 2015. – V. 10 (10). – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4598009>
2. *Bejaoui M, Sokol H, Marteau P.* Targeting the microbiome in inflammatory bowel disease: critical evaluation of current concepts and moving to new horizons. *Digest Dis* 2015;33(Suppl 1):105-12.
3. *Chen P.* Correlation between urinary stones and urinary tract infections / Chen P., Zhang L., Meng B. // *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* – 2014. – V. 35 (5). – P. 597-599.
4. *Francino MP.* Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Frontiers in Microbiology.* 2015;6:1543. doi:10.3389/fmicb.2015.01543. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4709861/>
5. *Jandhyala S. M.* Role of the normal gut microbiota / Jandhyala S. M., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyyuru H., [et al.] // *World Journal of Gastroenterology: WJG.* – 2015. – V. 21 (29). – P. 8787-8803.
6. *Jernberg C.* Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota / Jernberg C., Lfmark S., Edlund C., Jansson J. K. // *ISME J.* – 2007. – V. 1. – P. 56-66.
7. *Jakobsson H. E.* Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome (Electronic resource) / Jakobsson H. E., Jernberg C., Andersson A. F., Sjölund-Karlsson M., [et al.] // *PLoS One.* 2010. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844414>
8. *Jäger S.* Inflammatory bowel disease: an impaired barrier disease / Jäger S., Stange E. F., Wehkamp J. // *Langenbecks Arch Surg.* – 2013. – V. 398 (1). – P. 1-12.
9. *Jorge Cervantes.* Use your antibiotics wisely. Consequences to the intestinal microbiome *FEMS Microbiology Letters* May 2016, 363 (10) <http://femsle.oxfordjournals.org/content/363/10/fnw081.long#F2>
10. *Mikkelsen KH, Frost M, Bahl MI, et al.* Effect of Antibiotics on Gut Microbiota, Gut Hormones and Glucose Metabolism. *Buchowski M, ed. PLoS ONE.* 2015;10(11):e0142352. doi:10.1371/journal.pone.0142352. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4643023/>
11. *Panda S.* Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota (Electronic resource) / Panda S., Elkhader I., Casellas F., López Vivancos J., [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – V. 9 (4). – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991704>
12. *Ying-Ying Wu.* Toll-Like Receptor Stimulation Induces Nondefensin Protein Expression and Reverses Antibiotic-Induced Gut Defense Impairment / Ying-Ying Wu, a Ching-Mei Hsu, a Pei-Hsuan Chen, b Chang-Phone Fung // *Infect Immun.* 2014 May; 82(5): 1994–2005.

Надійшла до редакції 22.05.2017

Прийнята до друку 01.06.2017