

DOI: 10.15825/1995-1191-2014-4-45-54

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИЕМИЙ И МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА У РЕЦИПИЕНТОВ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ

Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Дранкина И.В., Спирина Т.С.,
Цирульникова О.М.

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ,
Москва, Российская Федерация

Цель: исследование микробиоты кишечника, а также исследование характера и особенностей флоры, выделяемой из крови, трахеальных, внутрисосудистых катетеров и дренажей брюшной полости, у реципиентов доли родственной печени. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов клинико-лабораторных и бактериологических исследований 235 реципиентов фрагмента печени от родственного донора. Возраст реципиентов – 1–17 лет. Микробиологическое исследование содержимого кишечника, трахеи, крови, сосудистых катетеров осуществляли путем посева материала на стандартные питательные среды. Идентификацию микробов проводили с помощью панелей BD Crystal и базы данных BBL Crystal MIND. Чувствительность выделенных штаммов условно-патогенных бактерий к антибиотикам исследовали диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона в соответствии со стандартами NCCLS. **Результаты.** В процессе исследования выявлены глубокие микроэкологические нарушения кишечника. У всех реципиентов печени снижено содержание резидентной микрофлоры с выраженным уменьшением содержания бифидобактерий, лактобацилл и кишечных палочек. Показано нарастание частоты выделения условно-патогенных грамотрицательных бактерий, особенно клебсиелл и энтеробактеров (до 100%). В единичных случаях обнаружены неферментирующие грамотрицательные бактерии, в частности синегнойные палочки. Среди грамположительных бактерий преобладали коагулазоотрицательные стафилококки. При анализе результатов исследования спектра возбудителей эпизодов бактериемий послеоперационного периода у основной когорты обследованных, реципиентов со штатным послеоперационным течением (группа 1), было показано, что основными возбудителями являются представители грамположительной кокковой флоры, как правило, коагулазонегативные стафилококки (*CNS*) и энтерококки (*Ent. spp.*). Единичные случаи выделения грамотрицательной флоры были связаны с представителями рода клебсиелл, семейства энтеробактерий. Иная картина наблюдалась у реципиентов с формированием тяжелых форм бактериальных инфекций (группа 2). При развитии тяжелых инфекционных осложнений из крови изолировали *Pseudomonas aeruginosa* (44%) или *Klebsiella pneumoniae* (36%). Аналогичные микроорганизмы высеяны у этих же пациентов и из сосудистых катетеров. При этом важно отметить, что существенных различий в содержании клебсиелл и неферментирующих микроорганизмов в составе микробиоты кишечника пациентов обеих групп не выявлено. **Заключение.** *Klebsiella pneumoniae* является основным патогеном, высокое содержание которого в составе кишечной микробиоты характерно для всех обследованных реципиентов доли печени. Выделение *Klebsiella pneumoniae* из крови составило 23,7% для пациентов с развитием тяжелых форм инфекционных осложнений и 12,9% при эпизодах бактериемий у реципиентов при штатном течении послеоперационного периода. Подобной зависимости в отношении *Pseudomonas aeruginosa* не выявлено.

Ключевые слова: микробиота кишечника, трансплантация доли печени, бактериемия, условно-патогенные микробы.

Для корреспонденции: Габриэлян Нина Индзаровна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. +7 (499) 748-53-09. E-mail: labgso@mail.ru.

For correspondence: Gabrielyan Nina Indzarovna. Address: 1, Shchukinskaya st., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel. +7 (499) 748-53-09. E-mail: labgso@mail.ru.

CAUSATIVE AGENT OF BACTEREMIA AND INTESTINAL MICROBIOTA IN RECIPIENTS OF DONOR LIVER

Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Drapkina I.V., Spirina T.S., Tsirolnikova O.M.

V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Aim. To study microbiota of the intestinal tract of recipients with cirrhosis of the liver lobes before transplantation and its association with postoperative bacteremia pathogens. **Materials and methods.** Microbiota of the intestinal tract was studied in 235 recipients (1–17 years) prior to transplantation of the liver fragment from a related donor (2005–2014). Microbiological study of intestinal contents, trachea, blood, vascular catheters was performed by plating a material on the standard culture medium. Identification was carried out using microbial BD Crystal panels and BBL Crystal MIND databases. Susceptibility of isolated opportunistic bacteria to antibiotics was investigated by disk diffusion method. **Results.** Deep microecological disturbances in the intestinal tract in children were revealed. All recipients showed the reduction of resident microbiota with reduced content of bifidobacteria, lactobacilli and coliform bacteria. The growth rate of isolating opportunistic Gram-negative bacteria, especially *Klebsiella* and *enterobacteria* (up 100%) was detected. Non-fermenting Gram-negative bacteria, in particular, *Pseudomonas aeruginosa* were isolated rarely. Among Gram-positive bacteria dominated *coagulase-negative staphylococci* (CoNS). In patients with unremarkable post-transplant period (Group 1) CoNS and *enterococci* were often isolated. In the blood of patients with complicated postoperative period (Group 2) *Pseudomonas aeruginosa* (44%) and *Klebsiella pneumoniae* (36%) were isolated. Similar microorganisms were seeded from vascular catheters of the same patients. It is worth noting that no essential differences in the content of *Klebsiella* and non-fermenting microorganisms in microbiota of the intestinal tract of the recipients of both groups were not determined. **Conclusion.** Studies showed deep microecological disorders of the intestinal microbiota. *Klebsiella pneumoniae* was the main pathogen, whose high content was detected in all liver lobe recipients studied. Isolation of *Klebsiella pneumoniae* in the blood was 23,7% in patients with complicated postoperative period, and 12,9% in those with unremarkable post-transplant period. No such dependence was revealed in relation to *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: microbiota of the intestinal tract, liver lobe transplantation, bacteremia, opportunistic microbes.

ВВЕДЕНИЕ

В результате наследственных и врожденных заболеваний гепатоцеллюлярной системы формируются циррозы печени, приводящие в терминальной стадии к летальному исходу. Жизнеспасающей операцией при циррозах печени различной этиологии является трансплантация печени (ортоотопическая или чаще – фрагмента печени от близкого родственника). С развитием новых хирургических технологий выживание пациентов в течение года после операции превышает 90%, а пятилетнее составляет более 80% [1]. На благополучный исход операции влияет коррекция белково-энергетической недостаточности, диагностика и лечение очагов инфекции, дисбактериозов пищеварительного тракта с целью предотвращения послеоперационных инфекционных осложнений (ПИО) [1, 2]. Так, у пациентов с билиарным циррозом, наиболее часто встречающимся, отмечено развитие ПИО в 30% случаев [3]. Этиологическими агентами могут быть как грамотрицательные микробы (представители энтеробактерий, неферментирующих микробов), так и грамположительные (энтерококки, стафилококки). Источником распространения инфекций являются холангиты, пневмонии, а также кровотоки (до 85–90%) [1, 4]. Определенное значение имеют

как резервуар условно-патогенной микрофлоры (УПМ) дисбактериозы кишечника. Существуют тесные анатомические и функциональные связи между кишечником и печенью. При циррозах печени в результате воспалительных и дегенеративных изменений в этом органе, а также в стенке кишечника облегчается транслокация условно-патогенных бактерий из кишечника. Кровь портальной вены переносит кишечные бактерии и их фрагменты, ферменты и токсины в печень для детоксикации. При дисбактериозах, как показано в многочисленных исследованиях, меняются состав и функции микрофлоры кишечника – снижается количество ее облигатных представителей и нарастает частота появления различных условно-патогенных бактерий [5, 6].

В последнее время все большее значение в хирургических клиниках придается инфекциям, связанным с оказанием медицинской помощи (ИСМП), т. е. с передачей возбудителей через различного вида катетеры, аппаратуру для искусственного дыхания, средств механической поддержки кровообращения и др. Значительную роль в этой эпидемиолого-патогенетической цепочке играет медицинский, ухаживающий персонал, кровати, постельное белье, различные предметы внешней среды. Если для здоровых людей – носителей условно-патогенные бак-

терии не страшны, то для пациентов, особенно иммунодефицитных, соматически ослабленных, это угрожаемые факторы риска послеоперационных инфекционных осложнений [7].

Пациенты, направляемые по жизненно важным показаниям в нашу клинику на операции по трансплантации фрагмента печени от родственного донора (ТФПР), относятся именно к вышеуказанной категории. Хотя немногочисленные данные о возбудителях послеоперационных инфекционных осложнений (ПИО) в литературе имеются, но совсем нет данных об источниках их происхождения.

Целью данной работы явился ретроспективный анализ возбудителей бактериемий за 5-летний период (2009–2014 гг.) у реципиентов (пациенты со штатным течением послеоперационного периода и пациенты с осложненным течением послеоперационного периода) после операций ТФПР и установление наличия или отсутствия возможной связи их происхождения с микробиотой кишечника и другими резервуарами инфицирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В анализ включены данные по возбудителям бактериемий от 47 летальных и 125 выписанных пациентов, поступивших в клинику для трансплантации фрагмента печени от родственного донора в возрасте от 3 мес. до 17 лет. Наиболее частыми показаниями для операции явились билиарная атрезия, синдром Бадда–Киари, первичный склерозирующий холангит. Стерильно забранную кровь культивировали в аппарате VactAlert фирмы BioMerieux (Франция). При положительных результатах осуществляли выделение чистых культур микробов и их идентификацию. Для выделения микробов из крови, фекалий и других очагов использовали стандартизированные питательные среды фирмы Pronadisa (Испания).

Микрофлору фекалий исследовали в соответствии с отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [8]. Идентификацию микробов проводили на панелях BD Crystal с автоматическим считыванием данных при использовании базы данных BBL Crystal MIND. Выборочно проведена оценка чувствительности выделенных штаммов УПБ к антибиотикам диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона в соответствии со стандартами CLSI. Определение зон задержки роста осуществляли на приборе «Озирис» фирмы «Biorad» (Франция) с использованием экспертной программы, позволяющей учитывать минимальную ингибиторную концентрацию антибиотиков, природную резистентность микроорганизмов, метициллинрезистентность (МР) и бета-лактамазную активность бактерий (БЛРС). МР, как маркер множественной резистентности грамположительных бактерий микробов к антибиотикам, исследовали по чувствительности выделенных штаммов к оксациллину и цефокситину. Бета-лактамазную активность определяли, используя диски с цефтазидимом и цефтазидин/клавулановой кислотой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как следует из данных о состоянии кишечного экобиоценоза у обследованных нами реципиентов и показателями нормальной микрофлоры, представленными в таблицах, у реципиентов до трансплантации печени наиболее подавлена бифидофлора – снижение на 2 и более lg КОЕ/г наблюдалось у 80–100% пациентов (табл. 1, 2). Популяция молочнокислых бактерий также уменьшена. Снижение их содержания отмечено от 26,6 до 72,2%, в среднем у 51,9% обследуемых. Количество энтерококков падало не так значительно. Уменьшение их содержания имело место у 3–27,7% пациентов.

Таблица 1

Состав и количество микрофлоры в кишечнике у реципиентов печени (2009–2014 гг.)

Год	Бифидобактерии Снижение на ≥ 2 lg	Лактобациллы Снижение на ≥ 2 lg	Энтерококки Снижение на ≥ 2 lg	Кишечные палочки Снижение на ≥ 2 lg	Клостридии Повышение
2009 n = 30	↓ 28 (93,3%) (n = 30)	↓ 10 (50%) (n = 30)	↓ 2 (6,6%) (n = 30)	↓ 24 (80%) (n = 30)	↑ 4 (13,3%) (n = 30)
2010 n = 53	↓ 42 (79,2%) (n = 53)	↓ 33 (62,3%) (n = 53)	↓ 13 (24,5%) (n = 53)	↓ 33 (62,3%) (n = 53)	↑ 13 (25%) (n = 53)
2011 n = 36	↓ 35 (97,2%) (n = 36)	↓ 26 (72,2%) (n = 36)	↓ 10 (27,7%) (n = 36)	↓ 20 (56%) (n = 36)	↑ 4 (11,1%) (n = 36)
2012 n = 50	↓ 44 (88%) (n = 50)	↓ 12 (26,6%) (n = 45)	↓ 5 (10%) (n = 50)	↓ 29 (60,4%) (n = 48)	↑ 7 (14,0%) (n = 50)
2013 n = 66	↓ 64 (100%) (n = 64)	↓ 32 (48,5%) (n = 66)	↓ 14 (15,4%) ↑ 2 (3%) (n = 65)	↓ 40 (60,6%) (n = 66)	Не определяли
Всего 235 чел.	N штаммов 233 ↓ M ± m 91,54 ± 3,7%	N 230 ↓ M ± m 51,92 ± 7,7%	N 234 ↓ Mm 16,84 ± 4,1%	N 233 ↓ M ± m 63,86 ± 4,2%	N 235 ↑ M ± m 15,8 ± 9,9%

Таблица 2

Качественный и количественный состав основной кишечной микрофлоры у здоровых людей [8]

Виды микроорганизмов	Возраст	
	< 1 года	От 1 года до 60 лет
Бифидобактерии	10^{10} – 10^{11}	10^9 – 10^{10}
Лактобактерии	10^6 – 10^7	10^7 – 10^8
Кишечные палочки (типичные)	10^7 – 10^8	10^7 – 10^8
Кишечные палочки (лактозонегативные)	$< 10^5$	$< 10^5$
Кишечные палочки (гемолитические)	0	0
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$< 10^4$	$< 10^4$
Энтерококки	10^5 – 10^7	10^5 – 10^8
Клостридии	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$
Стафилококки золотистые	0	0
Стафилококки коагулазонегативные	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы рода <i>Candida</i>	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$
Неферментирующие бактерии	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$

Примерно такие же данные, только в сторону повышения частоты встречаемости зарегистрированы в отношении популяции клостридий (от 11 до 25% обследуемых). Для кишечных палочек характерным было падение их содержания у 56–80% пациентов. Лактозоотрицательные кишечные палочки не были выделены, а гемолизинпродуцирующие эшерихии были редкими. Результаты оценки содержания различных видов энтеробактерий, неферментирующих грамотрицательных бактерий, показали, что повышение содержания условно-патогенных представителей семейства энтеробактерий, в частности клебсиеллы, на ≥ 2 Ig имеет место практически у всех обследованных пациентов (табл. 3).

Следует отметить разнообразие спектра условнопатогенных бактерий (УПБ) в содержимом кишечника (табл. 3 и рис. 1). Наибольшая доля из

433 идентифицированных штаммов (2009–2014 гг.) приходится на грамотрицательные возбудители (72,8–85,2%). Из них первое место занимают клебсиеллы. Их удельный вес среди УПБ составляет от 21,8–27,8 до 53,3%. Второе место по частоте обнаружения занимают энтеробактеры. Встречаемость других представителей энтеробактерий колеблется в зависимости от года. Так, *Citrobacter spp.* выделяли с частотой 10,46% в 2010 г., 13% – в 2013 г.; *Hafnia alvei* – 15,6% в 2009 г. и 6,5% – в 2012 г.; *Serratia spp.* – 13% в 2012 г. Другие энтеробактерии занимали меньшую и непостоянную нишу.

Важно указать, что неферментирующие грамотрицательные бактерии изолированы в небольшом проценте случаев. Так, *Pseudomonas aeruginosa* выделены в 2,8% в 2012 г. и 9,3% – 2011 г. (от пула грамотрицательных микробов); *Stenotrophomonas*

Таблица 3

Спектр и частота встречаемости условно-патогенной микрофлоры кишечника у реципиентов до операции

Микроорганизмы грамотрицат.	2009 г.		2010 г.		2011 г.		2012 г.		2013 г.	
	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%	п штаммов	%
<i>Klebsiella spp.</i>	14	21,8	40	42,5	31	41,3	30	27,8	49	53,3
<i>Enterobacter spp.</i>	14	21,8	26	27,6	20	26,7	37	34,3	11	12,0
<i>Citrobacter spp.</i>	5	7,8	9	9,6	5	6,7	4	3,7	12	13,0
<i>Serratia spp.</i>	4	6,2	5	5,3	1	1,3	14	13,0	5	5,4
<i>Hafnia alvei</i>	10	15,6	2	2,1	3	4,0	7	6,5	2	2,2
<i>Proteus spp.</i>	2	3,1	4	4,2	2	2,7	6	5,6	3	3,3
<i>Pantoea spp.</i>	2	3,1	–	–	5	6,7	1	0,9	1	1,1
НГОВ	4	6,2	–	–	1	1,3	3	2,8	1	1,1
<i>Pseudomonas spp.</i>	4	6,2	4	4,2	7	9,3	3	2,8	4	4,3
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	1,56	2	2,1	–	–	3	2,8	3	3,3
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	3	4,68	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Burkholderia spp.</i>	1	1,56	2	2,1	–	–	–	–	1	1,1
Всего	30 пациентов; 64 штамма		53 пациента; 94 штамма		34 пациента; 75 штаммов		47 пациентов; 108 штаммов		70 пациентов; 92 штамма	

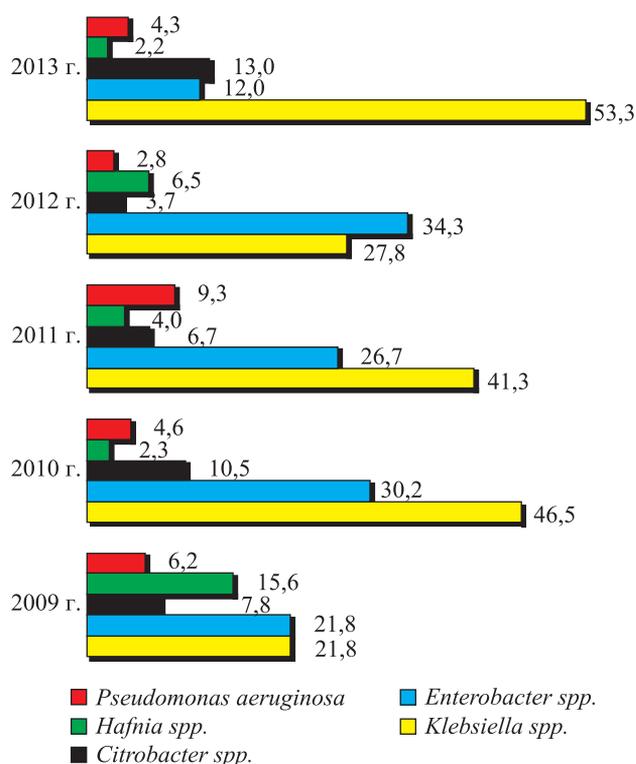


Рис. 1. Частота встречаемости энтеробактерий и синегнойных палочек в кишечнике пациентов до операции, %

maltophilia – в 4,68% в 2009 г., затем не зарегистрированы.

Среди популяции грамположительных микробов обращала на себя внимание незначительная частота встречаемости пациентов с наличием грибов рода *Candida* в количествах, превышающих границу нормы. При этом следует указать, что при повторных исследованиях, как правило, были зафиксированы нормальные показатели, что свидетельствует о транзитном характере выявленных изменений.

На следующем этапе особое внимание было уделено анализу возбудителей бактериемий у реципиентов с осложненным (группа 1; n = 47) и штатным (группа 2) течением послеоперационного периода. На рис. 2 показана частота выделения УПБ из крови пациентов суммарно за 5 лет (2009–2013 гг.). Интересные результаты были получены при сопоставлении динамики показателей частоты встречаемости клинически значимых патогенов при бактериемиях у реципиентов с осложненным (группа 1) и штат-

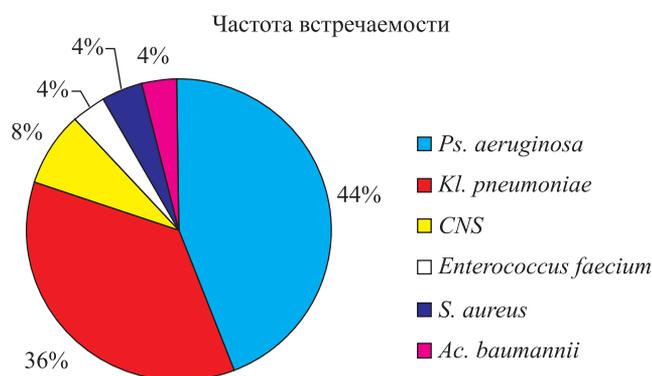


Рис. 2. Возбудители бактериемий у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, %

ным (группа 2) течением послеоперационного периода. Результаты представлены в табл. 4.

У пациентов 1-й группы, с развитием некурабельных форм бактериальных осложнений, из крови изолированы разные виды микроорганизмов, в частности синегнойные палочки, ацинетобактеры, клебсиеллы, энтеробактеры, золотистые и коагулазоотрицательные стафилококки, энтерококки (всего 26 штаммов). Обращало на себя внимание, что наиболее часто изолируемыми бактериями были представители неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Pseudomonas aeruginosa* (44%) и энтеробактерий – *Kl. pneumoniae* (36%). Коагулазоотрицательные стафилококки выделены в 8%, энтерококки, золотистые стафилококки – в 4%.

Как следует из представленных данных, с 2009-го по 2013 г. частота изоляции *Ps. aeruginosa* из крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода составила 32% с колебаниями от 50–60 до 14–20%.

В крови реципиентов со штатным течением послеоперационного периода в 2009, 2012, 2013 гг. *Ps. aeruginosa* не выделялась. В 2010–2011 гг. частота выделения составила 3,2%. Аналогичные данные, свидетельствующие о значительном повышении частоты выделения из крови реципиентов 1-й группы клинически значимого патогена, получены в отношении *Kl. pneumoniae*. Как показали исследования, частота выделения клебсиелл из крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода составила в среднем 25,7%. У реципиентов

Таблица 4

***Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumoniae* в крови реципиентов за период 2009–2013 гг.**

Год	<i>Ps. aeruginosa</i>		<i>Kl. pneumoniae</i>	
	Группа № 1	Группа № 2	Группа № 1	Группа № 2
2009	2/4 50%	0/29 0%	1/4 25%	1/29 3,4%
2010	3/5 60%	2/56 3,6%	0/5 0%	12/56 21,4%
2011	2/12 16,6%	8/63 12,7%	3/12 25%	9/63 14,2%
2012	1/7 14,3%	0/56 0%	2/7 28,5%	6/56 10,7%
2013	1/5 20%	0/61 0%	2/5 40%	6/61 11,4%

со штатным течением послеоперационного периода частота встречаемости *Kl. pneumonia* колебалась в пределах 3,4–14,2%, составляя в среднем 12,2%.

Для оценки возможного механизма формирования бактериемий, вызванных синегнойными палочками и клебсиеллами, проведен анализ частоты высеваемости изучаемых патогенов при исследовании других клинических субстратов у реципиентов

с выявленной бактериемией. Материалом исследований служили смывы с трахеи, внутрисосудистых катетеров, дренажей брюшной полости. Параллельно оценивался спектр условно-патогенной флоры кишечного содержимого. Полученные результаты и данные о возможных источниках транслокации *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumonia* при бактериемиях представлены в табл. 5, 6.

Таблица 5

Выделение *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumonia* из клинических субстратов реципиентов с бактериемиями

Год	Фамилия	Кровь	Трахея, легкие	Кишечник	Сосуд. катетеры	Дренажи
2009	Ш., 1 г. 4 мес.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		–		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	А., 2 г.	<i>Ps. fluorescens</i>		–	CNS; <i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
	Б., 15 л.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–		<i>Ps. aeruginosa</i>
	Е., 11 мес.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		+ Ig7		<i>Kl. pneumoniae</i> ; <i>Ps. aeruginosa</i> + <i>Kl. pneum.</i>
2010	К., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–	CNS (2)	<i>Serratia liquefaciens</i>
	Каб., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–		<i>S. aureus.</i> , <i>Enterobacter</i>
	Кр., 8 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>		–	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
	Коч., 2 г.	<i>M. luteus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	+ Ig4		<i>Ps. aeruginosa</i> (2) + <i>S. liquefaciens</i>
	Ч., 1 г. 7 мес.	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	+		<i>Kl. pneumoniae</i> (2) + CNS
2011	П., 6 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	–		<i>Pantoea agglomerans</i>
	Ш., 7 мес.	CNS				<i>Kl. pneumoniae</i> (7)
	Док., 8 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i> + <i>Kl. pneumoniae</i>		<i>Kl. pneumoniae</i> Ig7-8		<i>Ps. aeruginosa</i> + <i>Kl. pneumoniae</i>
	Дед., 10 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>		<i>Kl. pneumoniae</i> Ig 8		<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>Hafnia spp.</i>
	Пл., 1 г.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> Ig7		
	Р., 6 мес.	<i>Ac. baumannii</i>				
2012	Шар.	<i>Kl. pneumoniae</i> + CNS				
	Дюк., 8 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>Ac. baumannii</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> Ig 8	<i>Kl. pneumoniae</i> (3)	<i>Kl. pneumoniae</i> ; <i>Kl. pneumoniae</i> (4) + <i>Enterobacter aerogenes</i>
	Каз., 2 г. 7 мес.	CNS	CNS + <i>Kl. pneumoniae</i> (2)			<i>Kl. pneumoniae</i> (6)
	Дав., 12 л.	<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>S. aureus</i>		Не определяли	CNS; <i>Candida spp.</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>Candida spp.</i>
	Ч., 9 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	Не определяли	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Ac. baumannii</i>
2013	К., 5 мес.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. aeruginosa</i> + <i>Kl. pneumoniae</i>			<i>Kl. pneumoniae</i>
	М., 1 г. 5 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> + <i>Ps. aeruginosa</i>	+	<i>Kl. pneumoniae</i> (3) + <i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. liquefaciens</i> + CNS –
	Рош., 1 г.	CNS				<i>Kl. pneum.</i> (4) + <i>E. coli</i>
	О., 8 мес.	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> Ig 8	<i>Kl. pneumoniae</i> (2)	–
	К., 11 мес.	<i>S. aureus</i>	<i>Kl. pneum.</i> + <i>Ac. baumannii</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> Ig 7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	
Рыж., 9 л.	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Kl. pneumoniae</i> Ig 8		<i>Kl. pneumoniae</i> (1) <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .	

Таблица 6

Возможные источники поступления микробов в кровь при бактериемиях (суммарные данные)

Возбудители бактериемий	n	Трахея	Кишечник	Сосудистые катетеры	Дренажи
<i>Ps. aeruginosa</i>	10	2/10	0/10	0/3	3/10
<i>Kl. pneumoniae</i>	7	4/7	6/7	3/7	4/7

Таблица 7

Возбудители эпизодов бактериемий у реципиентов со штатным течением послеоперационного периода (группа 2)

Микробы	2009 г.		2010 г.		2011 г.		2012 г.		2013 г.	
<i>S. aureus</i>	4/29	13,8%	4/39	7,14%	6/63	9,5%	16/56	28,6%	7/61	11,4%
CNS	13/29	44,8%	17/39	30,3%	24/63	38%	19/56	33,9%	22/61	36%
<i>Strept. spp.</i>	1/29	3,4%	3/39	5,3%	4/63	6,34%	0/56	0%	5/61	8,19%
<i>Enterococcus spp.</i>	5/29	17,2%	8/39	14,3%	10/63	15,87%	7/56	12,5%	6/61	9,8%
<i>Candida spp.</i>	1/29	3,4%	1/39	1,7%	1/63	1,58%	3/56	5,35%	6/61	9,8%
<i>Kl. pneumoniae</i>	1/29	3,4%	12/39	21,4%	9/63	14,2%	6/56	10,7%	7/61	11,4%
<i>Enterobacter spp.</i>	0/29	0%	0/39	0%	0/63	0%	2/56	3,6%	1/61	1,6%
<i>E. coli</i>	2/29	6,9%	0/39	0%	0/63	0%	0/56	0%	5/61	8,19%
<i>Serratia spp.</i>	0/29	0%	0/39	0%	0/63	0%	1/56	1,8%	1/61	1,6%
<i>P. aeruginosa</i>	0/29	0%	2/39	3,57%	8/63	12,69%	0/56	0%	0/61	0%
<i>Stenotrophomonas</i>	1/29	3,4%	0/39	0%	1/63	1,58%	1/56	1,8%	1/61	1,6%
НГОБ	1/29	3,4%	0/39	0%	0/63	0%	0/56	0%	3/61	4,9%
<i>Acinetobacter spp.</i>	0/29	0%	2/39	3,57%	0/63	0%	0/56	0%	0/61	0%

Как следует из полученных данных, возможны источники проникновения бактерий в кровь при бактериемиях, вызванных *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumoniae*, могут быть дыхательные пути, сосудистые катетеры, дренажи и кишечник. В 3 случаях синегнойные палочки выделены из трахеи при нахождении их в крови, а клебсиеллы – в 6 случаях. Ранее было показано, что у всех пациентов в дооперационном периоде имелся выраженный дисбактериоз кишечной микрофлоры с повышением частоты выделения условно-патогенных бактерий. При этом для всех обследованных реципиентов наиболее значимым было увеличение количества клебсиелл. Данные о структуре условно-патогенных микроорганизмов, выделенных на фоне обратимых эпизодов бактериемий из крови реципиентов со штатным течением послеоперационного периода (группа 2), свидетельствуют о вариабельном характере спектра возбудителей (табл. 7).

В 2009–2013 гг. по частоте высеваемости из крови в этой группе лидировали коагулазоотрицательные стафилококки (44,8, 30,3, 38, 33,3, 34,3% соответственно). Второе и третье места занимали: энтерококки и золотистые стафилококки (2009 г.), *Kl. pneumoniae* и энтерококки (2010 г.), энтерококки и *Kl. pneumoniae* (2011 г.), *S. aureus* и энтерококки (2012 г.), *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* (2013 г.) Неферментирующие грамотрицательные бактерии, включая *Ps. aeruginosa*, изолировали только в 2011 г. (12,7%).

Данные по определению чувствительности *Ps. aeruginosa* к антибиотикам, выделенной из

крови у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, свидетельствуют о панрезистентности у 6 из 8 штаммов; у 2 штаммов имелась множественная резистентность к АБ. *Ps. aeruginosa* была чувствительна к полимиксину, колистину, азтреонему, в отдельных случаях – к тиенаму, цефтазидиму, цефипиму, аминогликозидам и фторхинолонам. Основной пул (90%) штаммов *Kl. pneumoniae*, выделяемых из крови у той же категории пациентов, обладал БЛРС, что определило высокую резистентность к используемым в клинике антибиотикам. Анализ полученных антибиотикограмм показал чувствительность к полимиксину, карбапенемам, тигацилу, некоторым фторхинолонам и аминогликозидам.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кишечник является резервуаром микроорганизмов и содержит более 1800 видов бактерий. При зубиозе сохраняется определенное соотношение между всеми его представителями, что поддерживает высокую колонизационную резистентность к заражению патогенными и условно-патогенными бактериями. При дисбактериозах меняются состав и функции микробиоты кишечника – снижается количество ее облигатных представителей и нарастает частота появления различных условно-патогенных бактерий [5, 6]. Мы не встретили работ по характеристике микробиоты кишечника у детей с терминальными стадиями циррозов печени. Как по-

казано нами в предыдущих исследованиях, при анализе микрофлоры толстой кишки 157 детей от года до 17 лет до трансплантации доли печени выявляются глубокие микробиологические нарушения [9]. В настоящей работе анализ микробиоты кишечной флоры 235 реципиентов печени подтвердил полученные ранее данные: количество бифидобактерий было снижено более чем у 90% детей на несколько логарифмов и у 50% – лактобацилл. Характерным для 56–80% пациентов явилось значимое снижение содержания кишечных палочек. Популяция кластеридий повышалась у 11–25% детей.

Лактобациллы и бифидобактерии играют важную роль в колонизационной резистентности и предотвращают избыточный рост условнопатогенных бактерий, таких как *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *K. pneumoniae* [10]. При анализе нами найдено повышенное содержание УПБ в содержимом кишечника, особенно энтеробактерий (клебсиеллы и энтеробактеры). Удельный вес клебсиелл среди всех УПБ составлял от 27,8 до 53,3%. Неферментирующие грамотрицательные бактерии составляли небольшую часть пула грамотрицательных микробов.

Нами исследована возможная связь возбудителей бактериемий у пациентов после трансплантации печени с условно-патогенными микробами, выделяемыми при наличии у них выраженного дисбактериоза кишечника. Инфекции крови нередко являются причиной смертности у реципиентов трансплантатов. После трансплантации печени среди возбудителей послеоперационных инфекционных осложнений (ПИО) фигурируют члены семейства энтеробактерий и виды энтерококков, которые в основном происходят из микробиоты кишечника, являясь наиболее частыми патогенами у трансплантированных пациентов [11, 12]. У взрослых пациентов Bert et al. [13] после трансплантации печени наблюдали бактериемию в 29,1% случаев из 704 пациентов. Как отмечают авторы, наиболее частыми патогенами были энтеробактерии (41%), *S. aureus* (19,8%), энтерококки (13,1%). *Ps. aeruginosa* встречались в 8,8%, грибы – в 7,1%.

Во Франции проведено 10-летнее исследование (2001–2010 гг.) частоты и факторов риска ПИО, вызванных энтеробактериями с БЛРС, после трансплантации печени у взрослых пациентов. Из 710 пациентов до трансплантации у 29 (4,1%) обнаружено фекальное носительство грамотрицательных бактерий с БЛРС. Больше всего было штаммов *Escherichia coli* (n = 21), затем *Enterobacter cloacae* (n = 5), *Klebsiella pneumoniae* (n = 4), *Klebsiella oxytoca* (n = 1), *Citrobacter freundii* (n = 1), *Citrobacter koseri* (n = 1). После операции у 39 пациентов из 710 (5,5%) в течение 4 мес. развились ПИО, вызванные вышеуказанными кишечными микроорганизмами с БЛРС. Все изоляты были чувствительны к карбапе-

немам. Смертность, связанная с инфекцией, отмечена у 8 пациентов (20,5%). Госпитальная смертность была значительно выше у пациентов с инфекцией, вызванной микробами с БЛРС (28,25 против 15,9%). На протяжении 14 дней после трансплантации БЛРС-инфекция происходила у 13 (44,8%) из 29 пациентов с предтрансплантационным фекальным носительством данных патогенов [13].

Китайские авторы сравнительно исследовали больных с циррозами печени с диагностированной бактериемией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* (61 человек – опытная группа), и бактериемией, вызванной представителями *Enterobacteriaceae* (n = 61). К предикторам синегнойной инфекции были отнесены факторы, связанные с оказанием медицинской помощи – использование центральных венозных катетеров, мочевых катетеров, применение антимикробной терапии в течение предыдущих 90 дней. Исследования показали, что избыточный рост кишечных бактерий отмечен у цирротических больных (до операции) и у пациентов после трансплантации. У пациентов после трансплантации печени было снижено число бифидобактерий, лактобацилл, фузо- и эубактерий, что, как подчеркивают авторы, свидетельствует о наличии дисбиоза после трансплантации печени.

Предыдущие исследования авторов статьи показали, что и при хроническом гепатите нарушена кишечная микрофлора и повреждена колонизационная резистентность. Авторы наблюдали ассоциативную связь между преобладающими в кишечнике бактериями и провоспалительными медиаторами у цирротических и трансплантированных пациентов [14].

Raves et al. показали, что раннее энтеральное питание с добавлением смеси молочнокислых бактерий и пищевых волокон редуцирует частоту бактериальных инфекций после трансплантации печени и гепатобилиарной хирургии [15]. Эти наблюдения, а также ряд других, изложенные в обзоре [16], показывают, что применение пре- и пробиотиков может вносить вклад в снижение частоты ПИО у реципиентов трансплантатов печени.

Наблюдавшийся нами избыточный рост условно-патогенных бактерий в содержимом кишечника может быть предрасполагающим фактором для развития оппортунистических инфекций у реципиентов. И конечно, ярким подтверждением всего вышеизложенного явилось нахождение с большой частотой в крови реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода синегнойных палочек и клебсиелл по сравнению с реципиентами со штатным течением послеоперационного периода. Примечательно, что хотя синегнойные палочки из кишечника редко были изолированы, но из крови они выделялись. Это в отличие от клебсиелл – доказательство некишечного их происхождения. Проведенный анализ показал, что в ряде случаев

синегнойные палочки попадают из трахеи. Источниками попадания клебсиелл в кровь может быть дыхательная аппаратура, т. к. их выделяли и из трахеи, а также, в первую очередь, кишечник, в котором с большим постоянством находили клебсиеллы в количестве 7–8 lg КОЕ/г при норме < 4 lg КОЕ/г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показали наличие глубоких микробиологических нарушений в микробиоте кишечника 235 обследуемых в предтрансплантационном периоде. Отмечены количественные и качественные изменения в составе микрофлоры, подавление резидентной микрофлоры – бифидобактерий, лактобацилл, а также кишечных палочек, расширение спектра условно-патогенных бактерий, особенно энтеробактерий, грибов рода *Candida*. Наиболее частыми изолятами были клебсиеллы и энтеробактерии с высоким содержанием (7–8 lg КОЕ/г) и редкими – неферментирующие грамотрицательные бактерии, включая *P. aeruginosa*. На основании ретроспективного анализа возбудителей бактериемий за 5-летний период (2009–2013 гг.) выявлено, что наиболее часто выделяемыми бактериями у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода были представители неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Pseudomonas aeruginosa* (44%) и энтеробактерий – *Kl. pneumoniae* (36%). В то же время у реципиентов со штатным течением послеоперационного периода при бактериемиях лидировали коагулазоотрицательные стафилококки (30,3–44,8%); 2-е и 3-е места занимали: энтерококки, золотистые стафилококки, *Kl. pneumoniae*. Грамотрицательные неферментирующие бактерии изолировали нечасто, включая *Ps. aeruginosa*, за исключением 2011 г. (12,7%). Данные по определению чувствительности *Ps. aeruginosa* и *Kl. pneumoniae* к антибиотикам, выделенных из крови у реципиентов с осложненным течением послеоперационного периода, выявили их множественную резистентность к АБ.

Полученные данные по высеваемости клебсиелл и синегнойных палочек из трахеи, сосудистых катетеров и дренажей и сопоставление их с микрофлорой кишечника позволяют сделать заключение о внекишечном происхождении *Ps. aeruginosa* при бактериемиях и нескольких путях транслокации *Kl. pneumoniae* – кишечного и внекишечного (трахея, сосудистые катетеры, дренажи).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Инфекции в трансплантологии. Под ред. С.В. Готье. М.: Триада, 2010: 382. Infection in transplantation. Ed. S.V. Gotie. M.: Triad, 2010: 382.

2. *Зайнудинов ЗМ*. Цирроз печени у детей (критерии диагностики, клиническое течение, показания к трансплантации печени): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2005. *Zainudinov ZM*. Cirrhosis of the liver in children (diagnostic criteria for clinical indications for liver transplantation): Abstract. uch on competition. degree of Doctor of Medical Science. M., 2005.
3. *Чеклецова ЕВ*. Принципы отбора и оптимальные сроки проведения трансплантации печени у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, манифестирующими в течение первых месяцев жизни: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. *Chekletsova EV*. Principles of selection and optimal timing of liver transplantation in children with congenital and hereditary diseases of the hepatobiliary system, manifested during the first months of life: Abstract. diss. uch on competition. Candidate of medical sciences degree. M., 2010.
4. *Singh N, Wagener MM, Obman A, Cacciarelli de Vera ME*. Bacteremias in liver transplant recipients: shift toward gram-negative bacteria as predominant pathogens. *Liver Transpl.* 2004; 10; 844–849.
5. *Барановский АЮ, Кондрашина ЭА*. Дисбактериоз кишечника. Изд. 3-е. СПб.: Питер: 240. *Baranowski AU, Kondrashin EA*. Dysbacteriosis of intestinum. Ed. 3rd. St. Petersburg: Peter: 240.
6. *Смирнова ГИ, Ляликowa ВВ*. Методы диагностики и лечения дисбактериоза у детей. Учебное пособие для врачей. М., 2012: 96. *Smirnova GI, Lyalikova VB*. Diagnosis and treatment of dysbiosis in children. A manual for physicians. M., 2012: 96.
7. *Руднов ВА, Бельский ДВ*. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клин. микроб. и антимикробная химиотерапия*. 2011; 13 (4): 294–304. *Rudnov VA, Belsky DV*. Infection in the ICU Russia: results of a national multicenter study. *Clin. microbe. and Antimicrobial Chemotherapy*. 2011; 13 (4): 294–304.
8. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» Приказ МЗ РФ от 09.06.2003 № 231. Industry Standard «Treatment Protocol. Intestinal dysbiosis» Order MH from 09.06.2003 № 231.
9. *Габриэлян НИ, Горская ЕМ, Цирульникова ОМ, Спирина ТС, Ромашикина ЛЮ*. Особенности микрофлоры кишечника у детей – реципиентов донорской печени. *Вестник транспл. и искусств. органов*. 2013; 15 (4): 40–46. *Gabrieljan NI, Gorskaja EM, Tsirul'nikova OM, Spirina TS, Romashkina LY*. Features of intestinal microflora in children – donor liver transplant recipients. *Herald transpl. and Arts. organs*. 2013; 15 (4): 40–46.
10. *Kinross J, von Roon AC, Penney N, Holmes E, Silk D, Nicholson JK et al*. The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improved patient care. *Curr. Pharm. Des.* 2009; 15: 1537–1545.
11. *Bellier C, Bert F, Durand F, Retout S, Belghiti J, Mentre F et al*. Risk factors for enterobacteriaceae bacteremia after liver transplantation. *Transpl Int.* 2008; 21: 755–763.
12. *Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Ichikawa T, Kanematsu T*. Perioperative antibiotic treatment to

- prevent infectious complications in patients after elective living donor liver transplantation: a prospective randomized study. *Am J Surg.* 2011; 201: 498–502.
13. Bert F, Larroque B, Paugam-Burtz C, Dondero F, Durand F, Marcon E et al. Pretransplant fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and infection after liver transplant, France. *Emerging Infect. Dis.* 2012; 18 (6): 908–916.
 14. Bang Ji Hwan, Jung Younghee, Cheon Shinhye, Chung Jong Kim, Kyung Ho Song, Pyeong Gyun Choe et al. Pseudomonas aeruginosa bacteremia in patients with liver cirrhosis: a comparison with bacteremia caused by Enterobacteriaceae. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 332–338.
 15. Rayes N, Seehofer D, Theruvath T, Schiller RA, Langrehr JM, Jonas S et al. Supply of pre- and probiotics reduces bacterial infection rates after liver transplantation—a randomized, double-blind trial. *Am J Transplant.* 2005; 5: 125–130.
 16. Габриэлян НИ, Горская ЕМ. Применение пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков в хирургии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2008; 2: 59–64. Gabrieljan NI, Gorskaya EM. Probiotics, prebiotics and synbiotics in surgery. *Journal of Transplantation and Artificial Organs.* 2008; 2: 59–64.

Статья поступила в редакцию 03.07.2014 г.