

Probiotika u akutní pankreatitidy – randomizovaná, placebem kontrolovaná, dvojitě slepá studie

J. Lata¹, J. Juránková², O. Stibůrek¹, V. Příbramská¹, M. Šenkyřík¹, T. Vaňásek¹

¹ Interní hepatogastroenterologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Jan Lata, CSc.

² Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno, pracoviště Bohunice, přednostka prim. MUDr. Alena Ševčíková

Souhrn: Úvod: Infekce v průběhu akutní pankreatitidy, především pankreatické nekrózy, jsou závažnou komplikací zhoršující prognózu choroby. Cílem naší studie bylo ověřit možnost prevence této komplikace podáním probiotika. Metodika: Probiotikum bylo podáno 7 nemocným, placebo 15 pacientům. Studie byla předčasně ukončena po informaci o výsledcích studie Propatria. Výsledky: V našem souboru nezemřel žádný nemocný, mezi oběma skupinami nebyl rozdíl v mikrobiálním osídlení ani délce hospitalizace. Ve skupině léčené probiotikem však došlo ke snížení hladiny endotoxinu 7. a 10. den hospitalizace. Závěr: Na základě nynějších znalostí je podání probiotik v této indikaci kontraindikováno. Snížení hladiny endotoxinu však naznačuje pozitivní vliv probiotik na bakteriální translokaci, jehož význam bude třeba v budoucnu zhodnotit.

Klíčová slova: akutní pankreatitida – probiotika – endotoxin – bakteriální translokace

Probiotics in acute pancreatitis – a randomised, placebo-controlled, double-blind study

Summary: *Introduction:* Infections accompanying pancreatitis, particularly pancreatic necroses, represent a serious complication associated with worsening of the disease prognosis. The *aim* of our study was to explore whether this complication could be prevented by administering a probiotic. *Methods:* The probiotic was administered to 7 patients and placebo to 15. The study was discontinued early following the release of the Propatria study results. *Results:* There was no death in our patient sample and there was no difference between the two groups in microbial colonisation or the length of hospitalization. However, a reduction in endotoxin levels on day 7 and 10 of the hospitalization was observed in the probiotic-treated group. *Conclusion:* Based on the current knowledge, administration of probiotics in this indication is contraindicated. Nonetheless, reduction in endotoxin levels suggests a positive effect of probiotics on bacterial translocation, the importance of which should be evaluated in the future.

Key words: acute pancreatitis – probiotics – endotoxin – bacterial translocation

Úvod

Jednou z nejzávažnějších komplikací akutní pankreatitidy jsou infekce, především nekrotické pankreatické tkáně. Pokud dojde k infekci nekrózy, je mortalita těchto nemocných výrazně vyšší nežli nemocných, kteří tuto infekci nemají. V prevenci této komplikace není shoda a preventivní podávání antibiotik jednoznačně doporučováno není.

Vzhledem k tomu, že zdrojem infekce je nejčastěji střevo a k bakteriemií dochází v důsledku bakteriálního přerůstání cestou střevní bakteriální translokace, je jednou z léčebných možností ovlivnění bakteriální translokace. U nemocných s jaterní cirhózou bylo prokázáno, že střevní bakteriální translokaci mohou příznivě ovlivnit probiotika. Také u akutní pankreatitidy byl tento postup popsán, jednoznačné závěry však chybí.

Cílem naší studie bylo zhodnotit vliv kombinace 6 probiotických kmenů na hladinu endotoxinu a klinický průběh těžké akutní pankreatitidy.

Soubor a metodika

Do randomizované, dvojitě slepé, placebem kontrolované studie byli zařazeni nemocní po diagnóze první ataky akutní pankreatitidy starší 18 let a po podpisu informovaného souhlasu. Při přijetí byla provedena obvyklá laboratorní a ultrazvukové vyšetření. Vyloučení byli pacienti s maligním one-

mocněním, sekundární infekcí jiného původu při přijetí, imunokompromitovaní a nemocní, kteří v době přijetí či 14 dnů před užitím probiotika. Celkem bylo randomizováno 16 pacientů (7 do probiotické skupiny, 9 do placebové skupiny) s diagnózou akutní pankreatitidy, u kterých došlo do 72 hod k vzestupu C-reaktivního proteinu (CRP) nad 150 mg/l (při vyloučení infekce jako příčiny elevace CRP). Po informaci o výsledcích studie Propatria (viz dále kapitola Diskuze) byla studie přerušena, odslepena a dalších

Tab. 1. Charakteristika souboru.

	Počet	Prům. věk	Muži	Ženy	Etiologie		
					Biliární	Alkoholická	Jiná
probiotikum	7	52 ± 12	3	4	1	2	4
placebo	15	55 ± 13	10	5	7	5	3
celkem	22	54 ± 13	13	9	8	7	7

Tab. 2. Hladina leukocytů a amylázy.

	Leu [$10^9/l$]			AMS [$\mu\text{kat/l}$]		
	den 3	den 7	den 10	den 3	den 7	den 10
probiotikum	11,9 $\pm$ 3,5	12,7 $\pm$ 3,4	16,6 $\pm$ 4,5	4,7 $\pm$ 3,2	2,0 $\pm$ 1,6	1,9 $\pm$ 0,9
placebo	14,6 $\pm$ 4,7	12,0 $\pm$ 2,8	12,4 $\pm$ 3,7	5,6 $\pm$ 4,4	1,2 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,5
	n.s.	n.s.	0,028	n.s.	n.s.	0,043

Tab. 3. CRP a prokalcitonin.

	CRP [mg/l]			PCT [$\mu\text{g/l}$]		
	den 3	den 7	den 10	den 3	den 7	den 10
probiotikum	241,8 $\pm$ 63,2	118,1 $\pm$ 81,3	106,6 $\pm$ 68,3	0,31 $\pm$ 0,14	0,33 $\pm$ 0,29	0,62 $\pm$ 0,37
placebo	232,0 $\pm$ 83,4	133,6 $\pm$ 74,7	74,4 $\pm$ 36,9	0,36 $\pm$ 0,24	0,52 $\pm$ 1,01	0,19 $\pm$ 0,22
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,008

Tab. 4. Bakteriální osídlení.

	Moč			Perianální stěr			Hemokultury		
	den 3	den 7	den 10	den 3	den 7	den 10	den 3	den 7	den 10
probiotikum	1,3	1,4	1,4	1,6	1,7	1,6	1,0	1,0	1,0
placebo	1,1	1,1	1,0	1,6	2,2	2,4	1,0	1,0	1,0
	n.s.	0,041	0,009	n.s.	n.s.	0,025	n.s.	n.s.	n.s.

6 nemocných bylo přímo zařazeno do placebové skupiny (tab. 1). Denně byl sledován klinický stav, základní biochemické vyšetření včetně CRP. Hemokultura z periferní krve i z krve z centrálního venózního katétru, kultivace moči, perianální stěr a hladina endotoxinu v séru byla vyšetřována 3., 7. a 10. den. K umožnění statistického zhodnocení jsme nález v moči a hemokultuře hodnotili jako 1, pokud byl sterilní, a jako 2, bylo-li nalezeno patologické agens. Perianální stěr jsme hodnotili jako 1 při příznivém složení střevní flóry s přítomností laktobacilů a bifidobakterií, jako 2 při příznivém složení (poměr mezi aeroby a anaeroby), ale nepřítomnost laktobacilů a bifidobakterií a jako 3, pokud byla nalezena dysmikrobie (přítomnost citrobakterů, proteů apod., převaha aerobních bakterií a nepřítomnost laktobacilů a bifidobakterií). Endotoxin byl stanoven pomocí *Limulus* amebocytového lysátu (LAL), vodným roztokem amebocytů ostrorepa *Limulus polyphemus*. V přítomnosti endotoxinu jsou faktory obsažené v LAL aktivovány v proteolytické kaskádě, jejímž důsled-

kem je rozštěpení umělého bílkovinného substrátu, který je obsažen v LAL (kit LAL Pyrochrome, Cape Cod) [1].

CT vyšetření bylo provedeno nejpozději 5. den od vzniku potíží pacienta a poté po 14 dnech od vyšetření prvního nebo v případě klinického podezření na infekci kolekce, a to včetně tenkojehlové biopsie. Nemocní byli léčeni standardně – tekutiny, časná polymerní enterální výživa kontinuálním režimem (enterální pumpou po dobu 20 hod denně) přes nazojejunální sondu zavedenou zapláváním či endoskopicky. Podávané probiotikum bylo kombinací 6 probiotických kmenů (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus lactis*); bylo prokázáno, že tato směs vykazuje velmi široké antimikrobiální spektrum [2]. Placebo či probiotikum bylo podáváno 2krát denně nazojejunální sondou. V případě biliární etiologie byla provedena endoskopická retrográdní cholangiopankreatografie s papilosfinkterotomií. Antibiotika podávána preventivně nebyla.

Výsledky byly statisticky zhodnoceny t-testem.

Výsledky

V našem souboru nezemřel žádný nemocný. Hladina leukocytů a amylázy byla 10. den vyšší ve skupině léčené probiotiky (tab. 2). Mezi oběma skupinami nebyl rozdíl v hladinách CRP 3., 7. a 10. den, prokalcitonin (PCT) byl v normálních mezích (tab. 3). Ve skupině léčené probiotikem byl normalizován nález v perianálním stěru, naopak byl častější výskyt močových infekcí, vyšetření hemokultur bylo vždy negativní (tab. 4). U 3 pacientů z placebové skupiny byla provedena aspirační biopsie tenkou jehlou. Ve všech případech byla zjištěna infekce nekrózy pankreatu. V jednom případě jako patologické agens zachycena *Escherichia coli*, v dalším případě *Acinetobacter lwoffii* a v posledním *Enterococcus faecium*. Průměrná doba hospitalizace se nelišila – u léčené skupiny pacientů činila 27 $\pm$ 12 dnů, u skupiny s placebem 25 $\pm$ 16 dnů. Na potřebu antibiotické léčby podání probiotika nemělo vliv.

Ač se hladiny endotoxinu mezi oběma skupinami 3. den nelišily, 7. a 10. den byly hladiny endotoxinu výrazně nižší ve skupině léčené probiotikem v porovnání s placebovou skupinou (tab. 5).

Diskuze

Akutní pankreatitida je akutní, primárně neinfekční zánětlivé onemocnění slinivky břišní. Jde o závažnou chorobu nepříliš častou (s incidencí dle různých zdrojů 5–40/100 000 obyvatel za rok), nicméně počty nemocných se stále zvyšují. Zhruba ve čtvrtině případů jde o pankreatidu těžkou s řadou závažných komplikací. Přes pokles mortality z 25–30% z let 80. minulého století na nynějších 8–10% je stále závažným medicínským problémem [3].

K časně mortalitě dochází v důsledku oběhového selhání (sekvestrace a těžký intravaskulární deficit tekutin). Častější však bývá moralita pozdní, nejčastěji v důsledku sepse a septického šoku u infikované pankreatické nekrózy (sterilní nekróza pankreatu je spojena s mortalitou kolem 10%, mortalita infikované nekrotizující pankreatitidy přesahuje 30 a může dosáhnout až 70%). Infekce pankreatické nekrózy je tedy zásadní pro prognózu akutní pankreatitidy [4].

Infekce se po 1. týdnu objevuje ve 24% případů nekrotizující AP, po 3. týdnu dokonce v 72%. V časně fázi onemocnění je imunitní systém v aktivovaném prozánětlivém stavu, v pozdní fázi se vlivem feedbacku nachází naopak ve stavu deprese, proto se infekční komplikace zpravidla objevují v pozdní fázi choroby. Vzniklá sepsa je silně určující příčinou multiorgánového selhání a úmrtí. Zdrojem infekce je patrně střevo a infekce vzniká v důsledku zvýšeného bakteriálního přerůstání a s ním spojené bakteriální translokace. Během onemocnění akutní pankreatitidou je funkce slizniční střevní bariéry porušena, což translokaci bakterií usnadňuje.

Jako prevence vzniku infekčních komplikací se nabízí preventivní podání antibiotik. Profylaktické podávání antibiotik je však navzdory řadě publikovaných studií [5–7] stále diskutabilní a spíše se nedoporučuje, mj. i vzhledem k riziku vzniku rezistence na antibiotika a vzniku oportunních mykotických infekcí. V praxi se používají antibiotika patrně více než méně. Ve

Tab. 5. Endotoxin.

	Endotoxin [E/ml]		
	den 3	den 7	den 10
probiotikum	0,144 ± 0,071	0,069 ± 0,049	0,109 ± 0,080
placebo	0,184 ± 0,069	0,149 ± 0,057	0,168 ± 0,048
	n.s.	0,004	0,031

Velké Británii se antibiotika profylakticky podávají u více než 80% pacientů a 24% lékařů je podává vždy [8]. Vzhledem k tomu, že lehká akutní pankreatitida je choroba s minimální mortalitou, je tato praxe evidentně nesprávná. Dle doporučení American College of Gastroenterology [9] nejsou doposud důkazy podporující rutinní podávání antibiotik jako prevenci infekce u intersticiální, sterilní či u nekrotizující pankreatitidy. Je pochopitelné, že v průběhu 1. týdne či 10 dnů se u nemocných s pankreatickou nekrózou může objevit sepsa s leukocytózou, teplotou a/nebo orgánovým selháním. V tomto období bývají často antibiotika nasazena a současně se pátrá po infekčním origu. Pokud jsou však bakteriologická vyšetření negativní (včetně tenkojehlové biopsie z případného pankreatického ložiska) a není-li nalezen zdroj infekce, je i v tomto případě doporučeno podávání antibiotik zastavit. Také doporučení Britské gastroenterologické společnosti nejsou jednoznačná [10] a je v nich konstatováno, že v této oblasti neexistuje konsenzus. Zastánci antibiotické profylaxe argumentují studiemi, které při ATB profylaxi nepotvrdily signifikantně vyšší nálezy mykotických infekcí v tenkojehlových aspirátách z pankreatických nekróz (obvykle pod 10% a neliší se od kontrolních skupin). I mezi nimi je však jen malá shoda, co se týče výběru antibiotika či doby podávání. Pokud bychom o antibiotické profylaxi uvažovali, je doporučováno 7–14denní podání a nemělo by být prodlžováno, není-li potvrzen bakteriální zdroj infekce.

Jako další možnost k ovlivnění bakteriální translokace a zábraně vzniku infekcí by se nabízelo podání probiotik. Probiotika jsou definována jako „mono-

nebo smíšené kultury živých mikroorganismů, které, pokud jsou podány člověku, příznivě hostitele ovlivňují zlepšením vlastností vlastní mikroflóry“ [11]. Teoreticky by podání probiotik mělo být výhodné, neboť řadou mechanismů (produkci kyseliny mléčné, a tím snižování střevního pH, narušením schopnosti koordinovaného růstu patogenů, adhezí ke střevnímu epitelu – kompetitivní inhibicí, regulací genové exprese či stimulací imunitního systému) jsou schopny redukovat bakteriální přerůstání a bakteriální translokaci.

V experimentu s akutní pankreatitidou u kryš vedla modifikace střevní mikroflóry multidruhovým probiotikem k redukcí růstu patogenních mikroorganismů ve střevě, redukcí bakteriální translokace do krevního řečiště, sleziny, jater a pankreatu, méně závažnému klinickému průběhu onemocnění, snížení pozdní mortality. V pozdní fázi akutní pankreatitidy je tedy jednoznačně prokázán pozitivní efekt, zatímco vliv na časně komplikace prokázán nebyl [12].

Již v roce 2002 byla publikována maďarská studie s podáváním probiotika u pacientů s akutní pankreatitidou. Jednalo se o studii s celkem 45 pacienty a byl podáván *Lactobacillus plantarum* 299 po dobu 1 týdne nazojejunální sondou. Infikovaná pankreatická nekróza, event. absces se vyskytl u 1 z 22 pacientů v léčené skupině, naproti tomu bylo 7 postižených pacientů z 23 ve skupině kontrolní. Byl také prokázán pozitivní efekt podávání *Lactobacillus plantarum* 299 na snížení výskytu sepse a nutnosti chirurgické intervence [13]. Výsledky jsou velmi povzbudivé, nicméně jsou této studii vytýkány některé metodologické nedostatky.

V poslední době se problematikou probiotik v terapii těžké akutní pan-

kreatitidy zabývala jak v experimentální, tak i v klinické rovině řada nizozemských lékařů. V nizozemských nemocnicích také proběhla placebem kontrolovaná dvojité slepá multicentrická klinická studie Propatria se stejnou směsí probiotik jako ve studii naší. Do studie bylo zařazeno velké množství nemocných; léčených probiotikem bylo 152, placebem 144 nemocných. Výsledky však byly velkým zklamáním. Ve skupině léčené probiotikem byla vyšší mortalita v porovnání se skupinou léčenou placebem (16% vs 6%) a nebyl rozdíl ve výskytu infekcí (30% vs 28%) [14]. Ve skupině léčené probiotiky se vyskytla 9krát ischemie střevní (8krát s fatálním koncem); v kontrolní skupině s placebem se tato komplikace neobjevila. O výsledcích studie jsme byli informováni ještě před publikováním výsledků, naši studii jsme odslepili a dalším nemocným probiotikem podáváno již nebylo.

V našem, z výše uvedených důvodů malém souboru k těmto komplikacím nedošlo. Probiotikum normalizovalo bakteriální osídlení hodnocené perianálním stěrem. Nalezli jsme výrazné snížení hladiny endotoxinu ve skupině nemocných léčených probiotikem. Endotoxin je ukazatelem bakteriální translokace, a jsou-li schopna probiotika skutečně v této indikaci bakteriální translokaci snížit, bylo primárního požadovaného efektu dosaženo.

Je nicméně jasné, že v této chvíli je na základě výsledků nizozemské studie podání probiotik mimo klinické studie u nemocných s akutní pankreatitidou kontraindikováno. Bude nutné kriticky tuto studii zhodnotit, z publikovaných dat není jednoznačně patrná homogenita obou skupin ani délka podávání probiotika po stanovení diagnózy

a především před vznikem komplikací. Stejně tak bude nutné kriticky posoudit způsob eventuálního podání probiotik. Na rozvoji střevní ischemie se patrně podílelo poměrně masivní podání probiotik spolu s enterální výživou enterální sondou u kriticky nemocného pacienta. Tito nemocní mají již primárně vysoké riziko vzniku neokluzivní mezenterické ischemie. Je otázkou, zda by jiný způsob podání či podání jen u nemocných s parenterální výživou nebyly schopny tuto závažnou komplikaci eliminovat.

Závěr

Možno konstatovat, že preventivní podávání probiotik spolu s enterální výživou v průběhu těžké akutní pankreatitidy je v současné době kontraindikováno. Vzhledem k prokázanému pozitivnímu efektu probiotik na bakteriální translokaci je však do budoucna třeba hledat metodiku, která by možný negativní vliv probiotik v této indikaci mohla eliminovat. Přesnější odpovědi mohou přinést jen další validní studie v budoucnu.

Práce byla podpořena Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví ČR (grant č. NR/9310-3).

Literatura

1. Bauer TM, Schwacha H, Steinbrückner B et al. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2364–2370.
2. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L et al. Monostrain, multistain and multispecies probiotics. A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol* 2004; 96: 219–233.
3. Neoptolemos JP, Rarey M, Finch M et al. Acute pancreatitis: the substantial human and financial costs. *Gut* 1998; 42: 886–891.
4. Baron TH, Morgan DE. Acute necrotizing pancreatitis. *N Engl J Med* 1999; 340: 1412–1417.
5. Isenmann R. Prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe acute pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004; 126: 997–1004.
6. Mazaki T, Ishii Y, Takayama T. Meta-analysis of prophylactic antibiotic use in acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 674–678.
7. Špičák J, Hejtmánková S, Hubáčková M et al. Antibiotická profylaxe infekčních komplikací u akutní pankreatitidy – výsledky randomizované studie s meropenemem. *Čes Slov Gastroent Hepatol* 2003; 57: 222–227.
8. Powell JJ, Campbell E, Johnson CD et al. Survey of antibiotic prophylaxis in acute pancreatitis in the UK and Ireland. *Br J Surg* 1999; 86: 320–328.
9. Banks BA, Freeman ML et al. Practice Guidelines in Acute Pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379–2400.
10. UK Working Party on Acute Pancreatitis. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54: 1–9.
11. Havenaar R, Ten Brink B, Huisin't Veld JHJ. Selection of strains for probiotic use. In: Fuller R (ed): *Probiotics: the scientific basis*. London: Chapman and Hall 1992: 209–224.
12. van Minnen LP. Acute pancreatitis – Surgery, pathophysiology, probiotic prophylaxis. The Netherlands: Gildeprint Drukkerijen BV, Enschede 2006.
13. Olah A, Belagyi T, Issekutz A et al. Randomized clinical trial of specific lactobacillus and fibre supplement to early enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 2002; 89: 1103–1107.
14. Besselink MGH, van Santvoort HC, Buskens E et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651–659.

prof. MUDr. Jan Lata, CSc.
www.fnbrno.cz
e-mail: jlata@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 20. 11. 2009
Přijato po recenzi: 7. 12. 2009

www.vnitrnilekarstvi.cz