

М.Н.Зубков, В.А.Самойленко, Е.Н.Гугунидзе, А.Г.Чучалин

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ВЗРОСЛЫХ

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

M.N.Zubkov, V.A.Samoylenko, E.N.Gugunidze, A.G.Shushalin

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF ETIOLOGY AND ANTIMICROBIAL THERAPY OF BRONCHOPULMONARY INFECTION IN CYSTIC FIBROSIS ADULTS

Summary

We studied microbiology contamination of bronchial sputum in the 68 sample and other parameters (infectivity, constancy, ecological likeness of bacterias) in 21 adult patients with cystic fibrosis (CF) exasperation. There were *P.aeruginosa*, *St.aureus* and *Candida spp.* as more often cultures. *P.aeruginosa* and *St.aureus* sensitiveness was investigated and we consider that empiric antimicrobial therapy adults patients with exasperation of CF should consist (include): meropenem (or ceftasidi + netylmicin) + vancomycinum (or rifampicinum) ± fluconasol.

Резюме

Изучен состав микрофлоры 68 проб бронхиального секрета и другие микробиологические показатели (заражаемость, постоянство, экологическое сходство бактерий) у 21 взрослого больного муковисцидозом (МВ) в периоды обострений. *P.aeruginosa*, *S.aureus* и *Candida spp.* занимали ведущее положение среди выделенных культур, а наивысшая экологическая общность (мутуализм), согласно коэффициенту Жаккарда (g), наблюдалась у *P.aeruginosa/S.aureus* (g 83%), синергические взаимоотношения отмечены у *P.aeruginosa/Candida* (g 57%) и *S.aureus/Candida* (g 50%). Изучена чувствительность клинических изолятов *P.aeruginosa* и *S.aureus* к антибиотикам, предложены варианты комбинированной эмпирической антибактериальной терапии МВ у взрослых: меропенем (или цефтазидим + нетилмицин) + ванкомицин (или рифампицин) ± флуконазол.

Муковисцидоз (МВ) относится к генетическим заболеваниям, угрожающим жизни. Его прогноз в первую очередь зависит от тяжести поражения органов дыхания, в патогенезе которых огромную роль играют инфекции, вызванные *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* (последние 2 возбудителя выделяются преимущественно у детей до 9 лет), реже — представителями семейства *Enterobacteriaceae* [3,5]. У больных старше 20 лет инфекционный процесс может быть обусловлен *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, грибами родов *Candida* и *Aspergillus* [2,4]. Однако во всех возрастных группах больных МВ лидируют *P.aeruginosa* и *S.aureus*. Наиболее неблагоприятно протекает синегнойная инфекция, обусловленная мукоидными штаммами, продуцирующими алгинат — экзомукополисахарид, являющийся важнейшим фактором вирулентности этих бактерий. Микроколонии *P.aeruginosa*, покрытые алгинатом, становятся труднодоступными действию антибиотиков, что значительно затрудняет лечение и ухудшает прогноз заболевания

[6]. Штаммы золотистого стафилококка, выделяемые от больных МВ, в отличие от изолятов *S.aureus* при другой легочной патологии или у здоровых лиц обладают выраженным тропизмом к эпителию воздухоносных путей за счет продукции адгезинов — белковых поверхностных структур, обеспечивающих достаточно прочное прикрепление бактерий к эпителиальным клеткам. Эта способность не зависит от пола, возраста пациентов, тяжести заболевания, сопутствующей микрофлоры бронхиального секрета и вырабатывается предположительно либо благодаря селекции адгезивных штаммов, либо путем индукции соответствующего фенотипа *S.aureus* некими факторами, присутствующими в воздухоносных путях больных МВ [8]. В связи с тем что из бронхиального секрета часто выделяют оба вида бактерий (одновременно или отдельно при повторных исследованиях), возникает вопрос о характере симбиотических отношений между этими микроорганизмами в бронхолегочной экосистеме.

Целью настоящего исследования явилось изучение экологического сходства между ведущими возбудителями

легочной инфекции при МВ у взрослых и микробиологическое обоснование выбора тактики антимикробной терапии.

Проведено микробиологическое исследование 68 проб бронхиального секрета (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж) у 8 мужчин и 13 женщин в возрасте от 18 до 35 лет (средний возраст $21,4 \pm 2,9$ года) с МВ, сопровождающимся тяжелым поражением бронхолегочной системы в виде хронического гнойно-обструктивного бронхита, бронхиоло- и бронхоэктазов, с развитием хронического легочного сердца при наличии хронического панкреатита с ферментативной недостаточностью. Диагноз верифицирован на основании семейного анамнеза, клинико-лабораторных данных, положительного потового теста, положительных результатов генетической диагностики.

Больных обследовали стационарно в периоды обострений заболевания (с интервалами от 3 мес до 1,5 года) в виде увеличения количества гнойной мокроты, усиления одышки, появления симптомов интоксикации и субфебрилитета.

Для установления этиологии инфекции проводили посев бронхиального секрета с определением диагностических титров выделенной микрофлоры ($\geq 10^6$ клеток в 1 мл мокроты и $\geq 10^4$ клеток в 1 мл бронхиальных смывов). Чувствительность бактерий к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона.

Для характеристики симбиозов микробных изолятов определяли коэффициент Жаккарда, являющийся наиболее достоверным показателем экологического сходства различных видов микроорганизмов [1]. Для этого использовали формулу

$$g = [c : (a + b + c)] \cdot 100,$$

где g — коэффициент Жаккарда, a — число выборок с видом А, b — число выборок с видом В, c — число выборок, содержащих оба вида микроорганизмов.

Если $g < 30\%$ — условия в биотопе антагонистические, т.е. не позволяют существовать обоим видам; при g до 70% бактерии способны к сосуществованию, а их экологическая общность велика (синергизм); при g более 70% возможно только совместное существование (мутуализм).

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами.

При исследовании 68 проб бронхиального секрета у 21 больного МВ в диагностических концентрациях было выделено 120 штаммов разных видов микроорганизмов (рис.1). *P.aeruginosa* (как правило, мукоидные варианты) и *S.aureus* занимали практически одинаковый удельный вес в структуре микрофлоры бронхиального секрета, представляя суммарно более половины (59,1%) изолятов. Третье место по частоте выделения занимали грибы (18,3%) с преобладанием *Candida spp.* (19 штаммов) над *Aspergillus spp.* (3 штамма). Неферментирующие бактерии (НФБ) (12,5% суммарно) были представлены в порядке убывания (в скобках указано число штаммов) *S.maltophilia* (4), *Alcaligenes spp.* (4), *B.cepacia* (3), *Pseudomonas stut-*



Рис.1. Состав микрофлоры бронхиального секрета при муковисцидозе у взрослых ($n=120$).

zeri (1), *P.mendocina* (1), *P.fragilis* (1), *Acinetobacter anitratus* (1). Удельный вес пневмококков составил 7,5%. В разряд прочих (2,6%) отнесены по 1 штамму *Enterobacter spp.*, *H.influenzae* и *Enterococcus spp.*

Однако показатели удельного веса разных микробных видов в общей структуре выделенной микрофлоры не вполне адекватно отражают их этиологическую роль в развитии инфекции. Более наглядным является так называемый показатель заражаемости — % больных, в материале которых на любом из этапов обследования (в любой из периодов обострений) хотя бы 1 раз выявлен тот или иной возбудитель. Так, *P.aeruginosa*, *S.aureus* и *Candida spp.* выделены у 81—67% больных (рис.2), что в целом согласуется с данными литературы [5]. НФБ обнаружены почти у половины пациентов, пневмококки — у 1/4 больных.

Дополнительной характеристикой этиологической значимости клинических изолятов является показатель постоянства — доля проб бронхиального секрета, содержащих определенный вид микроорганизмов. У *P.aeruginosa* и *S.aureus* он составил 54 и 50%, у *Candida spp.* — 32% (рис.3), что послужило основанием для оценки экологического сходства этих изолятов с помощью коэффициента Жаккарда. Наивысшая экологическая общность (мутуализм) наблюдалась у *P.aeruginosa/S.aureus* (g 83%), синергические взаимоотношения отмечены у *P.aeruginosa/Candida* (g 57%)

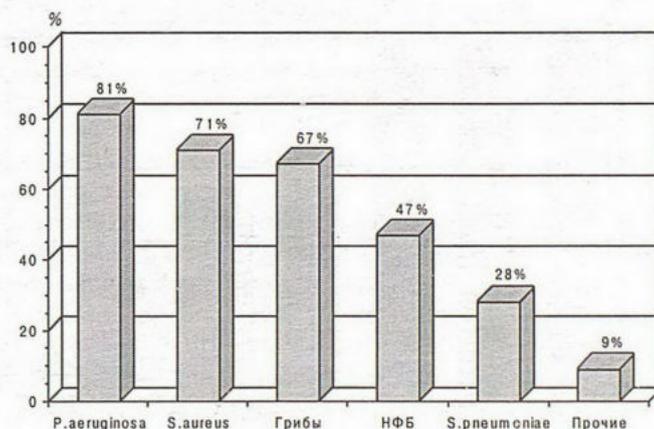


Рис.2. Показатели заражаемости при муковисцидозе у взрослых (пояснение в тексте).

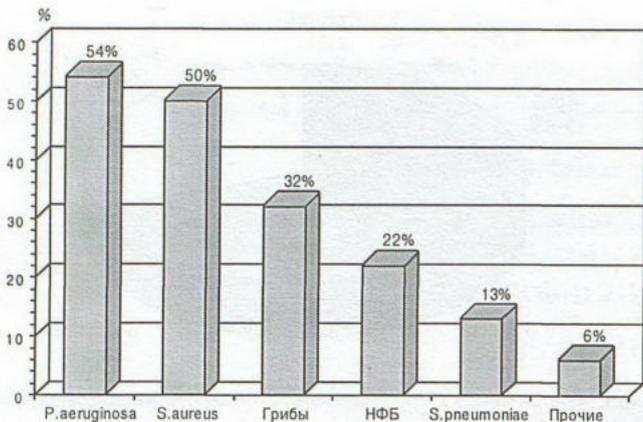


Рис.3. Показатели постоянства микрофлоры бронхального секрета при муковисцидозе у взрослых (n=68).

и *S.aureus/Candida* (g 50%). Отсюда следует, что при МВ у взрослых пациентов сосуществование синегнойной палочки и золотистого стафилококка в бронхолегочном биотопе является закономерным, поэтому при обнаружении в патологическом материале лишь одного из указанных возбудителей антимикробная терапия должна охватывать оба вида бактерий, подразумевая наличие невыявленного по тем или иным причинам второго патогена. В этом случае выбор антибиотиков отчасти является эмпирическим и должен осуществляться с учетом общих сведений об активности препаратов против *P.aeruginosa* и *S.aureus*.

По нашим данным, изоляты *P.aeruginosa* были чувствительны к меропенему, цефтазидиму и нетилмицину (рис.4). Заметно меньшую антисинегнойную активность проявляли амикацин и ципрофлоксацин, чувствительность к гентамицину была слабо выражена и отсутствовала у карбенициллина. Из числа активных антибиотиков следует особо выделить нетилмицин (более известный под торговым названием «Нетромицин»), так как в сравнении с другими аминогликозидами он дает наименьший нефро- и ототоксический эффект (что особенно важно при осуществлении длительной антибиотикотерапии МВ) и в отличие от карбапенемов и антисинегнойных цефалоспоринов су-

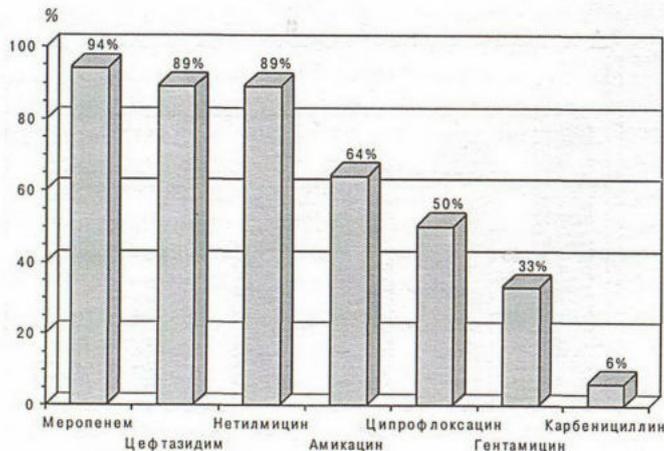


Рис.4. Чувствительность *P.aeruginosa* к антимикробным препаратам.



Рис.5. Чувствительность *S.aureus* к антимикробным препаратам.

точную дозу можно вводить однократно (в/в или в/м), что имеет дополнительные преимущества, особенно при лечении пациентов на дому.

При изучении антибиотикоустойчивости *S.aureus* обращает внимание высокий удельный вес метициллинрезистентных стафилококков (MRSA) — до 60% изолятов, характеризующихся устойчивостью ко всем β-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам) и перекрестной резистентностью к препаратам других групп (рис.5). Все стафилококки были чувствительны к ванкомицину и в 82% случаев к рифампицину, что позволяет рассматривать этот препарат в качестве альтернативы при лечении стафилококковой инфекции (к числу его достоинств относится возможность проведения ступенчатой терапии, т.е. переход с парентерального применения на прием внутрь).

Таким образом, исходя из микробиологических предпосылок, антимикробная терапия обострений бронхолегочной инфекции при МВ у взрослых пациентов должна быть основана на сочетанном применении антибиотиков с антистафилококковой и антисинегнойной активностью (с добавлением по показаниям противокандидозных препаратов, среди которых наиболее эффективным и наименее токсичным является флуконазол, более известный как дифлюкан, выпускаемый в двух формах — для парентерального введения и для приема внутрь). Возможны следующие варианты эмпирической антибиотикотерапии: меропенем (или цефтазидим + нетилмицин) + ванкомицин (или рифампицин) ± флуконазол. Последующая коррекция лечения осуществляется с учетом индивидуальной чувствительности клинических изолятов. Поскольку у больных МВ по сравнению с другими лицами повышены метаболизм и скорость выведения антимикробных препаратов, дозы антибиотиков в 2—3 раза должны превышать рекомендуемые возрастные дозировки [7]. Продолжительность курсов лечения определяется тяжестью заболевания, объемом легочных процессов, сроками эрадикации возбудителей и может варьировать от 2 нед до нескольких месяцев с кратковременными перерывами. Длительную антибак-

териальную терапию, по возможности, следует проводить в домашних условиях, что наряду с улучшением качества жизни пациента (привычная среда обитания, питание, уход и др.) позволяет избежать перекрестного инфицирования госпитальными штаммами среди больных в условиях стационара, предотвращает распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов (MRSA, грамотрицательных бактерий).

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубков М.Н., Меньшиков Д.Д., Гугуцидзе Е.Н. и др. Микробиологическая диагностика смешанных анаэробно-аэробных инфекций в хирургии. Антибиотики и химиотер. 1995; 2: 46—50.

2. Fahy J.V., Keogh M.T., Crummy E.J., Fitzgerald M.X. Bacteraemia and fungaemia in adults with cystic fibrosis. J. Infect. 1991; 22: 241—245.
3. FitzSimmons S.C. The changing epidemiology of cystic fibrosis. J. Pediatr. 1993; 122: 1—9.
4. Govan J.R.W., Brown P.H., Maddison J. et al. Evidence for transmission of *Pseudomonas cepacia* by social contact in cystic fibrosis. Lancet 1993; 342: 15—19.
5. Hodson M.E., Geddes D.M. Cystic fibrosis. London: Chapman; 1995.
6. Hoiby N., Doring G., Schiøtz P.O. Pathogenic mechanisms of chronic *P.aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. Antibiot. Chemother. 1987; 39: 69—76.
7. Pedersen S.S. Prevention early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection. Copenhagen: Righospitalet; 1992.
8. Schwab U.E., Wald A.E., Carson J.L. et al. Increased adherence of *Staphylococcus aureus* from cystic fibrosis lungs to airway epithelial cells. Am. Rev. Respir. Dis. 1993; 148: 365—369.

Поступила 19.04.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК [616.24-003.4-004]-053.2-[085.33:577.182.62].015.3

Т.В.Лубская, Н.И.Капранов, Н.Ю.Каширская, Л.А.Шабалова, А.Л.Пухальский,
Г.В.Шмарина, С.Н.Кокаровцева

КЛИНИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАЛЫХ ДОЗ МАКРОЛИДОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ МУКОВИСЦИДОЗА У ДЕТЕЙ

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

LONG-TERM LOW-DOSE THERAPY WITH MACROLIDES IN CYSTIC FIBROSIS

T.V.Lubskaya, N.I.Kapranov, N.J.Kashirskaya, L.A.Shabalova, A.L.Pukhalsky, G.V.Shmarina, S.N.Kokarovtseva.

Summary

Background — Modulation of the immune response is an attractive alternative approach to therapy in CF. In this regard macrolides with their additional anti-inflammatory properties may be useful in the treatment of CF lung disease.

Objective — to assess action and potential mechanisms of long-term low-dose therapy with 15- and 14-member lactone ring macrolides in children with CF.

Methods — Twenty-five CF patients (14 m, 11f; age range 6.5—16 yrs) were treated with azithromycin (SUMAMED®) in the dose 250 mg 2 times a week or clarithromycin in dose 250 mg every other day and basic therapy (enzymes; mucolytics, including rhDNase; vitamins). The patients were routinely evaluated every three months. This evaluation included anthropometric measurements (Wt/Ht, %), physical examination, pulmonary function test (FEV₁, FVC), microbiology of sputum (respiratory cultures), inflammatory markers in the sputum samples (neutrophil elastase activity, TNF-α, IL-4, IL-8, IFNγ concentrations) and in peripheral blood (sensitivity of lymphocytes to antiproliferative effect of glucocorticoids).

Results — During the six-month period before the start of macrolides most patients had experienced a decline in FVC and FEV₁ (−3.3±2% and −2±1.5% predicted, respectively). Following the treatment the lung disease progression became slower (FVC: 7.0±2.1% and FEV₁: 7.1±2.1%, both *p*=0.02). The effect was more pronounced in the patients with FVC<70 %. Before macrolides treatment this subjects showed a loss of the mean semiannual changes in FVC (−6.0±3.0%) and FEV₁ (−3.3±2.4%). After six month treatment with macrolides we noticed a significant improvement in lung function (FVC: 8.6±3.6 %, FEV₁: 9.4±3.0%, both *p*=0.03). The patients with poor lung function showed an essential elevation of neutrophil elastase activity (from 60.0±15.1 to 130.1±30.4 U/mg protein; *p*=0.05) and decrease of TNF-β (from 68.0±34.1 to 9.3±2.3 IU/mg protein; *p*=0.02) in their sputum. Authors postulate that elastase activity elevation is associated with destruction of neutrophils following the antiinflammatory treatment.

Discussion — Our preliminary findings suggest some potential mechanisms, by which long-term low-dose 15- and 14-member lactone ring macrolides therapy may be beneficial in CF.