

Л.А.Вишнякова, Т.С.Сологуб, Л.А.Желенина

## ИНФЕКЦИОННЫЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ДЕТЕЙ (ЭТИОЛОГИЯ И НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА)

Государственный научный центр пульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург

INFECTIOUS INFLAMMATORY PROCESS IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS (ETIOLOGY AND SOME  
QUESTIONS OF PATHOGENESIS)

L.A.Vishniakova, T.S.Sologub, L.A.Zhelenina

### Summary

The microbiological and immunological examination of 173 children with cystic fibrosis was carried out in 1986—1997 in dynamics. The polyetiology of lungs infectious inflammatory process with the prevalence of *S.aureus* and *Ps.aeruginosa* which course the colonisation and acute and chronic infections was revealed. Criteria for diagnostics of these infectious forms were produced. The intensive purposeful antibiotics therapy allowed to remove the acute process and to prevent its conversion to chronic form. The severity of course was due to chronic *Ps.aeruginosa* infection which appeared with the frequency depending on the genotype.

### Резюме

При динамическом микробиологическом и иммунологическом обследовании в 1986—1997 годах 173 детей, страдающих муковисцидозом, была установлена полиэтиологичность инфекционного воспалительного процесса в легких при преобладающей роли *S.aureus* и *Ps.aeruginosa*, вызывающих колонизацию, острую и хроническую инфекции. Созданы критерии диагностики этих форм инфекции. Интенсивная целенаправленная антибиотикотерапия позволяла купировать острый процесс и предотвратить его хронизацию. Тяжесть течения была обусловлена хронической синегнойной инфекцией, частота возникновения которой зависит от генотипа.

Инфекционному процессу принадлежит ведущая роль в возникновении, течении и прогнозе бронхолегочного воспаления при муковисцидозе, о чем свидетельствуют многочисленные отечественные и зарубежные работы [2,3,4,5—7]. Однако до настоящего времени остаются открытыми или не имеют всеобщего признания многие вопросы этиологии и диагностики инфекционных процессов и патогенеза их. Целью настоящей работы было изучение с помощью микробиологических и иммунологических методов исследования этиологии инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе у детей с различными генотипами и динамики его формирования в течение заболевания.

В данной статье будут представлены фрагменты результатов изучения инфекционного воспалительного процесса у 173 больных муковисцидозом в возрасте от 1 месяца до 15 лет на основе 1434 микробиологических и 1577 иммунологических исследований, проведенных в лаборатории клинической микробиологии ГНЦ пульмонологии в 1987—1997 годах. Определение этиологии инфекционного процесса было основано на выделении диагностических концентраций бактерий, высоком уровне антител в крови и бронхиальном содержимом или 4кратном и более значительном из-

менении их титра в течении заболевания. Иммунологические исследования с целью определения антител к поверхностным гликопротеинам и гликолипидам целых бактериальных клеток аутоштаммов различных бактерий проводился при помощи реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ). Определение секреторных IgA-антител (SIgA-антител) осуществляли также с помощью четырехслойного варианта этой реакции и моноклональных антител к SIgA. Уровень антистафилококкового местного и системного иммунитета определяли в РПГА со стандартным антигенным препаратом.

Как результаты наблюдения одного обострения муковисцидоза у детей, так и многолетних наблюдений за течением этого заболевания свидетельствуют о полиэтиологичности инфекционного воспалительного процесса в легких. Если роль таких микроорганизмов, как *S.aureus* и *Ps.aeruginosa* при муковисцидозе общепризнана, то значение *S.pneumoniae* и *H.influenzae* — обычных патогенов острых и хронических заболеваний легких — недостаточно ясно. Однако пневмококковая инфекция наблюдалась у 58% обследованных больных, примерно у 1/3 в каждой возрастной группе, а высокий уровень местного иммунитета и его преобладание над системным свидетельствовали о преиму-

щественно остром ее течении, но у некоторых больных пневмококковая инфекция была хронической [1]. Острая гемофильная инфекция наблюдалась у 1/3 больных. Стафилококковая инфекция при муковисцидозе у детей наблюдалась с наибольшей частотой — у 62% больных, а синегнойная инфекция — примерно у 50% больных, течение их было переменным. Наблюдались три варианта течения этих инфекций: 1) колонизация или контаминация; 2) острое течение; 3) хроническое течение. Диагностика этих процессов имеет очень большое значение. Колонизация или контаминация, разделить которые пока не всегда возможно, обусловлены непродолжительным и неинтенсивным инфицированием дыхательных путей, без клинических проявлений обострения инфекционного воспалительного процесса. При микробиологическом исследовании мокроты у этих больных в течение 1—3 недель выделялись низкие концентрации этих бактерий в пределах  $10^3$ — $10^4$  КОЕ/мл при отсутствии антител в крови и бронхиальном содержимом. Очень важно диагностировать острое течение этих инфекций, так как с помощью интенсивной целенаправленной антибактериальной терапии удается купировать только острую инфекцию и тем самым предотвратить развитие хронического процесса.

Об остром течении инфекции свидетельствует обнаружение в течение 1—3 месяцев, иногда дольше, в бронхиальном содержимом высоких концентраций этих бактерий, порядка  $10^6$  КОЕ/мл и более, причем при синегнойной инфекции практически постоянно выделялись только немуконидные штаммы *Ps.aeruginosa*. Антитела были определены примерно у половины больных. Частота и уровень антител в бронхиальном содержимом часто превалировали над уровнем системного иммунитета, что характерно для острой инфекции.

Определение хронического течения данных инфекций имеет большое прогностическое значение. Накопленный в нашей лаборатории опыт позволил определить особенности хронической инфекции при муковисцидозе. Хронический инфекционный процесс характеризовался стабильностью и массивностью ( $10^7$ — $10^9$  КОЕ/мл) обсеменения бронхиального дерева и высоким уровнем антител в крови. При стафилококковой инфекции наблюдалось или постоянное (в каждом анализе мокроты) обнаружение *S.aureus*, или длительно при каждом обострении хронического воспалительного процесса, а отрицательные результаты в периоды “ремиссии”, вероятно, были обусловлены интенсивной антибиотикотерапией. При хронической синегнойной инфекции постоянно при каждом бактериологическом исследовании выделялись мукоидные и/или немуконидные штаммы *Ps.aeruginosa*. Перекрестное исследование в РНИФ всех выделенных при обострении штаммов *Ps.aeruginosa* и одновременно взятых проб крови позволило установить антигенную гетерогенность популяции этих бактерий. Высокий уровень антител и антибиотикотерапия обуславливают клиренс гемологичных, чувствительных культур бактерий и появление новых штаммов в иной антигенной струк-

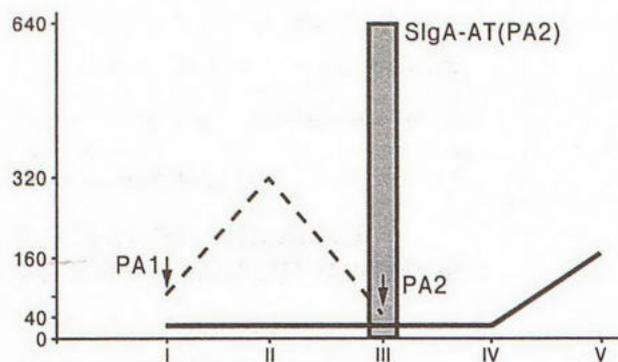


Рис. 1. Гетерогенность штаммов *Ps.aeruginosa* (PA 1 и PA 2) выделенных от больного муковисцидозом в период одного обострения.

По оси ординат — титр антисинегнойных антител. По оси абсцисс — сыворотка крови больного. slgA-AT (PA 2) — секроторные IgA-антитела.

турой поверхностных компонентов клеток *Ps.aeruginosa*, что вызывает антигенную гетерогенность популяции этих бактерий, вегетирующих в организме больных. Новые поверхностные антигены бактерий позволяли им вегетировать в организме в течение 1—6 месяцев. Так, у больного Б., 6 лет, одновременно были выделены три штамма *Ps.aeruginosa*, из которых один фиксировал антитела в 16 раз слабее двух других. Использование при иммунологических исследованиях таких “новых” штаммов может создать ложное представление об отсутствии антител в крови. Синтез антител этими штаммами *Ps.aeruginosa* начинается с образования SIg-антител, т.е. с появления местной иммунологической реакции организма (рис.1). Этот факт установлен нами впервые [9]. Таким образом, изменчивость и селекция обуславливают появление в популяции *Ps.aeruginosa* штаммов бактерий с иной антигенной структурой поверхностных гликолипидов и гликопротеидов, которые поддерживают хроническое течение инфекционного воспалительного процесса и высокий уровень антител, т.е. вероятно, это один из механизмов, обуславливающих хроническое течение синегнойной инфекции.

С целью изучения динамики формирования и возможных изменений этиологии инфекционного воспалительного процесса были проанализированы микробиологические и иммунологические данные у детей в течение первого года жизни и последующие годы до 15 лет или до гибели больных. В течение первого года жизни из 18 обследованных больных обычные комменсалы верхних дыхательных путей были выявлены только у 3 (16,7%), а *S.pneumoniae* и *H.influenzae* с одинаковой частотой (27,8%) и *S.aureus* у половины этих маленьких детей. *Ps.aeruginosa* выделена только у 33%, причем только у одного ребенка синегнойная инфекция с первого года жизни носила стабильный характер, который в дальнейшем сформировался в хроническую инфекцию данной этиологии. Таким образом, соотношение хронического и острого течения ее у детей первого года жизни было 1:5. Несмотря на то, что наблюдались значительные возрастные колебания частоты стафилококковой инфекции (28,6 — 72,2%), данная этиология инфекционного воспали-

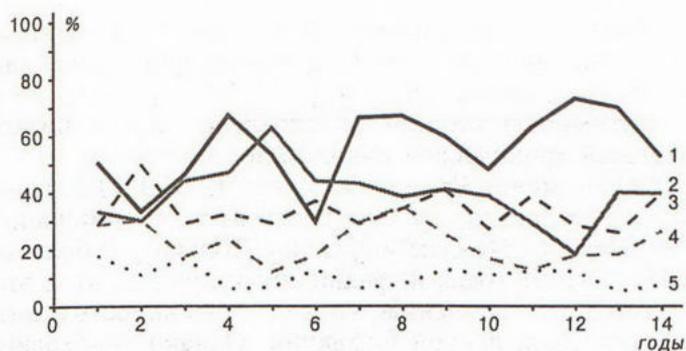


Рис.2. Этиология инфекционного воспалительного процесса в легких при муковисцидозе у детей 1—14 лет.

По оси ординат — частота обнаружения. По оси абсцисс — возраст (годы). 1—*S.aureus*, 2—*Ps.aeruginosa*, 3—*S.pneumoniae*, 4—*H.influenzae*, 5—*Ps.cepatia*.

тельного процесса в среднем наблюдалась у 55,3% больных, т.е. с наибольшей частотой, причем преобладающая роль *S.aureus* увеличивалась с возрастом детей (рис.2).

Частота синегнойной инфекции у обследованных больных прогрессивно нарастала в первые 5 лет жизни с 33 до 63% и после некоторого снижения уровень ее стабилизировался около 40%. Причины снижения частоты ( $p < 0,05$ ) этой инфекции у детей 11—12 лет выяснить не удалось. Однако наибольший интерес представляет динамика острой и хронической инфекции (рис.3). Уже на втором году жизни частота обнаружения этих форм инфекций сравнялась, и дальнейшее волнообразное нарастание частоты синегнойной инфекции было установлено, главным образом, ее хронической формой, а ее отношение к острому течению достигало 10:1 — 17:1. Однако каждому подъему частоты хронической инфекции предшествует увеличение частоты острого течения ее (см. рис.3).

Многолетнее динамическое изучение инфекционного процесса при муковисцидозе у детей позволило представить схему формирования и изменения его этиологии. Высокая циркуляция у детей, особенно младших возрастных групп, респираторных вирусов, пневмококков

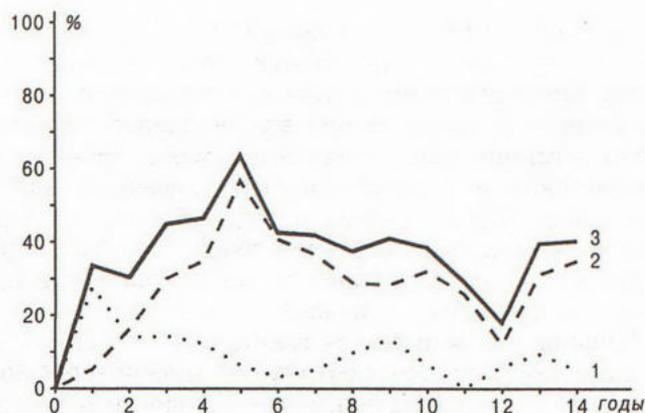


Рис.3. Синегнойная инфекция при муковисцидозе у детей (n=173).

По оси ординат — частота обнаружения. По оси абсцисс — возраст (годы). 1 — острая форма инфекции, 2 — хроническая форма инфекции, 3 — всего.

и гемофилов дает возможность предполагать, что инфекционный процесс и при муковисцидозе впервые вызывают эти обычные патогены, которые нарушают различные механизмы защиты и целостность эпителиального покрова, в результате чего обнажаются ирритативные рецепторы, а только к ним прикрепляются *H.influenzae*, *S.aureus* и *Ps.aeruginosa* [8,10].

Два основных направления формирования инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе у детей обусловлены ведущей ролью стафилококка и псевдомонад, которые вызывают острую инфекцию, повторные острые инфекции и ее хронизацию. Частота и скорость хронизации инфекции зависят от особенностей возбудителей и вызываемых ими инфекций, генотипа больного и адекватности лечения. Наиболее часто прогрессирование инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе у детей обусловлено развитием острой стафилококковой инфекции, часто в сочетании с пневмококковой и гемофильной. Это наиболее благоприятный вариант течения инфекционного воспалительного процесса. Часто наблюдалось сочетанное течение острой стафилококковой и синегнойной инфекции, исход которого зависел не только

Т а б л и ц а

**Влияние генотипа на этиологию и течение инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе у детей (n=166)**

Виды микроорганизмов и формы инфекции	Генотипы			
	$\Delta F508/\Delta F508$ (n=23)	$\Delta F508/\text{nonF}$ (n=83)	Редкие мутации (n=9)	$\text{nonF}/\text{nonF}$ (n=51)
<i>S.aureus</i>	65,2	67,5	66,7	53,0
<i>S.aureus</i> + <i>Ps.aeruginosa</i>	47,8	18,0	11,1	9,8
<i>Ps.aeruginosa</i>	78,3	60,2	33,3	31,4
Острое течение	21,7	14,4	22,2	17,6
Хроническое течение	52,2	41,0	11,1	11,8
<i>Ps.cepatia</i>	6,9	7,2	11,1	3,9
Острое течение	4,3	4,8	11,1	3,9
Хроническое течение	4,3	1,2	—	—
Летальность	18	14,5	—	3,9

от лечения, скорости хронизации отдельных инфекций, но и от межвидовых взаимоотношений этих возбудителей. При естественном течении инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе наиболее часто доминирующее значение имеют хроническая синегнойная и стафилококковая инфекции или их сочетание. Однако гибель детей наблюдалась и при остром течении этих инфекций, ввиду тяжести течения и поражения других органов и систем или при неадекватности проводимой терапии.

Муковисцидоз является генетически детерминированным заболеванием, поэтому большой интерес представляло изучение зависимости этиологии и течения инфекционного воспалительного процесса от генотипа. Генетические исследования были проведены у 166 анализируемых больных. Генотип  $\Delta F508/\Delta F508$  выявлен у 23 больных,  $\Delta F508/\text{поп F}$  — у 83, редкие мутации — у 9 и у 51 больного генотип определить не удалось.

Стафилококковая инфекция была обнаружена примерно с одинаковой частотой у больных с различными генотипами, а имеющиеся колебания (53,0—67,5%) статистически недостоверны ( $p > 0,05$ ). Обращает на себя внимание высокая частота сочетания данной инфекции с синегнойной у больных с генотипом  $\Delta F508/\Delta F508$ . Синегнойная инфекция была выявлена с наибольшей частотой также при  $\Delta F508$  (60,2 и 78,3%), а наблюдающиеся различия статистически недостоверны. Частота синегнойной инфекции (31,4—33,3%) у больных при других генотипах была достоверно ниже ( $p < 0,01$ ). Наиболее интересным фактом является 2—3-кратное преобладание при генотипе  $\Delta F508$  хронической синегнойной инфекции над острой, в то время как при других генотипах наблюдалось двукратное преобладание острого течения данной инфекции (табл.).

Полученные результаты исследований дают возможность заключить, что наиболее тяжелое и прогрессивно неблагоприятное течение инфекционного воспалительного процесса при муковисцидозе наблюдалось у детей с генотипом  $\Delta F508/\Delta F508$  и было связано не только с наибольшей частотой синегнойной инфекции (78,3%), но, главным образом, сочетанием ее со

стафилококковой инфекцией (47%). Относительно более благоприятное течение инфекционного воспалительного процесса в легких при муковисцидозе у детей с другими генотипами обусловлено только низкой частотой хронической синегнойной инфекции.

Обнаружение *Ps. cepacia* всего у 12 (6,9%) больных было обусловлено преимущественно контаминацией или острым течением инфекции. Только у 2 больных в 1996—1997 годах инфекционный процесс этой этиологии стал стабильным, что дало возможность судить о хронизации данной инфекции. Однако необходимо отметить, что в последние годы частота выделения этих бактерий несколько увеличилась.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вишнякова Л.А. Новые представления о патогенезе хронического бронхита // Тер. арх.— 1993.— № 3.— С.31—36.
2. Вишнякова Л.А., Желенина Л.А., Марзавина О.В., Гембицкая Т.Е., Орлов А.В., Дринецкий В.П. Этиология инфекционного процесса при легочной и смешанной формах муковисцидоза у детей // Вестн. Рос. АМН.— 1995.— № 9/2.— С.57—60.
3. Капранов Н.И., Рачинский С.В. Муковисцидоз.— М., 1995.— 188 с.
4. Hoiby N., Koch Ch. Pseudomonas aeruginosa infection in Cystic Fibrosis and its management // Thorax.— 1990.— Vol.45.— P.881—884.
5. Hoiby N. Antibiotic therapy for chronic infection of pseudomonas in the lung // Ann. Rev. Med.— 1993.— Vol.44.— P.1—10.
6. Southern K.W. #DF508 in cystic fibrosis: willing but not able // Arch. Dis. Childh.— 1997.— Vol.76.— P.278—282.
7. Suter S. New perspectives in understanding and management of the respiratory disease in CF // Eur. J. Pediatr.— 1994.— Vol.153.— P.144—150.
8. Tsang K.W.T., Rutman A., Tanaka E., Lund V., Dewar A., Cole P.J., Wilson R. Interaction of Pseudomonas aeruginosa with human respiratory mucosa in vitro // Eur. Respir. J.— 1994.— Vol.7.— P.1746—1753.
9. Vishniakova L., Sologub T., Jelenina L. Antibodies against superficial components of Pseudomonas aeruginosa (PA) in CF patients // E.R.S. Annual Congress: Abstracts.— Berlin, 1997.— P.1117.
10. Wilson R., Dowling R.B., Jackson A.D. The biology of bacterial colonization and invasion of respiratory mucosa // Eur. Respir. J.— 1996.— Vol.9.— P.1523—1530.

Поступила 05.08.98.