

Роль анаэробной флоры в развитии бронхолегочной инфекции у детей, больных муковисцидозом

С. Ю. СЕМЫКИН, С. С. ПОСТНИКОВ, Г. А. ОСИПОВ

Российская детская клиническая больница, Москва
Российский государственный медицинский университет, Москва
Детская городская клиническая больница № 13 им. Н. Ф. Филатова, Москва

Role of Anaerobic Flora in Development of Bronchopulmonary Infection in Children with Mucoviscidosis

S. YU. SEMYKIN, S. S. POSTNIKOV, G. A. OSIPOV

Russian Pediatric Clinical Hospital, Moscow. Russian State Medical University, Moscow.
N. F. Filatov Municipal Pediatric Clinical Hospital No.13, Moscow

Долгое время считалось, что основной микрофлорой, вызывающей воспаление в бронхолегочной системе у больных муковисцидозом (МВ), являются различные представители грамположительных и грамотрицательных аэробных микроорганизмов: прежде всего *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, а также *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus pneumoniae* и приобретающие всё большее значение — *Burkholderia cepacia* и *Stenotrophomonas maltophilia*.

Однако участвовавшие публикации об отсутствии эффекта при традиционной в таких случаях терапии и наша практика лечения этих больных с использованием метронидазола, дающая с положительный эффект, позволили заподозрить наличие анаэробных патогенов при МВ.

Тем не менее длительное время клиницисты не получали бактериологического подтверждения анаэробной инфекции. Связано это было с тем, что у большинства микробиологических лабораторий нет опыта по работе с анаэробными бактериями, поскольку для выделения анаэробов из клинических образцов необходимо специальное дорогостоящее оборудование (анаэробные камеры, пакеты и т. д.), а также специальные среды для транспортировки и последующей идентификации. Кроме того, некоторые клинически значимые анаэробные бактерии требуют длительной (до 1 недели) инкубации. Наконец, частое эмпирическое назначение антибиотиков (АБ) широкого спектра активности, оказывая селективное давление, способствовало редкому выявлению анаэробов [1].

С появлением некультуральной масс-спектрометрии микробных маркеров стало возможным не только качественное и количественное определение анаэробов, но и существенно расширил-

ся сам спектр определяемых патогенов и соответственно наше представление о микробном пейзаже больных МВ [2].

С целью выяснения роли анаэробов в инфекционном воспалении у больных МВ и было предпринято настоящее исследование.

Материал и методы

Под нашим наблюдением в 2004—2008 гг. находилось 25 больных смешанной формой МВ в возрасте от 6 до 17 лет, поступивших в отделение медицинской генетики РДКБ в стадии обострения бронхолегочного процесса. У всех больных отмечалось тяжёлое течение заболевания — ФЖЕЛ $\leq 70\%$ Д.

В динамике на фоне лечения оценивались клинические (одышка, характер кашля — сила, продуктивность; состояние мокроты — цвет, количество; аускультативная картина в лёгких — ослабление дыхания за счет мукостаза, количество влажных хрипов) и функциональные (форсированная жизненная ёмкость лёгких — ФЖЕЛ, объём форсированного выдоха за 1 с — ОФВ₁) показатели лёгких.

Микробиологическую диагностику (до назначения антибиотиков и по окончании лечения) проводили по нелетучим жирным кислотам клеточной стенки бактерий методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии (ГХ-МС). Этот метод, являясь сродни генетическому, позволяет быстро получить количественную информацию о большом спектре микроорганизмов [3].

Поскольку понятия нормы для мокроты, исследованной методом ГХ-МС, не существует, то точкой отсчёта считали содержание маркеров микроорганизмов в крови здоровых людей, а бактериологически значимым для больных МВ — более чем двукратное превышение концентрации маркеров в крови.

Результаты и обсуждение

Аэробные возбудители. В мокроте всех 25 больных были выявлены маркеры *P.aeruginosa* и *S.aureus* в количестве $4,8 \times 10^7$ кл/мл мокроты. Среди других традиционных аэробов были найдены клинически значимые концентрации *H.influenzae* и энтерококков.

Среди анаэробов у всех больных доминировали зубактерии представители рода *Eubacterium* (*E.moniforme*, *E.nodatum*, *E.saburreum*) и *Propionibacterium* — $1,4 \times 10^9$ кл/мл.

© Коллектив авторов, 2009

Адрес для корреспонденции: 117513 Ленинский проспект, д. 117. РДКБ

Далее по средним количественным показателям следовали клостридии (*Clostridium ramosum*, *C.perfringes*) и актиномицеты — $4,8 \times 10^8$ кл/мл. Уровня 1×10^8 кл/мл достигали анаэробные стрептококки и *Eggerthella lenta* (*Eubacterium lentum*).

С учётом выделенной микрофлоры и в целях определения наиболее эффективной комбинации АБ больные были разделены на три группы. Первую группу составили больные, получавшие меропенем + амикацин; вторую — меропенем (или цефтазидим) + клиндамицин; третью группу составили больные, у которых к стартовой терапии из двух АБ (меропенем или цефтазидим + амикацин или полимиксин Е) впоследствии добавлялся метронидазол.

В первую группу вошли 7 больных, средний возраст — 12 лет (8—17). Выбор меропенема в данном случае определялся двунаправленностью его действия как против аэробов (прежде всего *P.aeruginosa*, особенно в комбинации с амикацином), так и против практически всех клинически значимых анаэробов. У всех больных этой группы к концу лечения наступало улучшение, выразившееся в значительном уменьшении или исчезновении мокроты, кашля и хрипов, а также в улучшении функциональных показателей лёгких (ФЖЕЛ от 51,29 до 68%Д; ОФВ₁ от 39,71 до 57,14%Д).

Антимикробный эффект был настолько индивидуален, что правильнее говорить о групповой тенденции или скорее даже о перегруппировке внутри микробного сообщества. Наступление ремиссии мы связывали, прежде всего, с уменьшением общей микробной нагрузки (73474 микробных маркеров до лечения и 58736 после). Причем это уменьшение не было равномерным по всем патогенам, а избирательным. Так, например, снизилось количество традиционных для МВ аэробов, таких как псевдомонады, стрептококки и гемофилы, а количество энтерококков и стафилококков даже несколько увеличилось, хотя меропенем числится среди наиболее активных АБ в отношении стафилококка, а амикацин существенно улучшает эту активность.

Против анаэробов действие меропенема выглядело следующим образом: значительно снизилось количество клостридий, актиномицетов, бактериоидов. На один из ведущих патогенов — эубактерий он не оказал никакого влияния (их количество не изменилось), а количество нокардий, фузобактерий и пропионибактерий (хотим это особо отметить) даже возросло.

Во вторую группу вошло 9 больных; средний возраст — 10,5 лет (9—13). При лечении этой группы больных мы к одному из антисинегнойных АБ (меропенем или цефтазидим), учитывая смешанный характер микрофлоры, добавляли клиндамицин, известный своей антианаэробной активностью.

Клиндамицин подтвердил свою репутацию: практически все анаэробы и, прежде всего, доминирующие — эубактерии (кроме подвида *E.lentum*),

клостридии, актиномицеты, а также пропионибактерии «откликнулись» на действие клиндамицина. Снизилось также количество маркеров псевдомонад и стафилококков. С точки зрения чисто микробиологического эффекта эту комбинацию можно было бы считать одной из лучших, однако клинический эффект был весьма посредственным, что нашло отражение в данных контрольной ФВД: ФЖЕЛ повысилась на 7,5% (17), ОФВ₁ — на 8% (18).

Третья группа включала 9 больных; средний возраст — 13 лет (11—15). Особенностью этой группы наблюдения являлось следующее обстоятельство: к стартовой традиционной антисинегнойной АБ терапии (меропенем или цефтазидим + амикацин или полимиксин Е), от которой не было получено должного клинического эффекта (сохранялись симптомы мукостаза в виде более или менее выраженного ослабления дыхания в сочетании с большим количеством разнокалиберных влажных хрипов, несмотря на приём муколитиков *per os*, ингаляционно и в/в), в течение 7—14 дней добавляли в/в метронидазол, обладающий выраженным антианаэробным эффектом. В течение 7 дней применения метронидазола у больных полностью купировался синдром мукостаза: мокрота стала отходить легко и в большом количестве, что приводило в итоге к полному очищению бронхиального дерева от мокроты, достигалась клиническая ремиссия с соответствующим улучшением функциональных показателей легких — ФЖЕЛ с 52% до 65,3%Д, ОФВ₁ от 38,3 до 55,1%Д.

Микробиологический эффект проявился в незначительном снижении общей микробной нагрузки с 73786 маркеров до 68794, при этом количественные показатели основных патогенов как среди аэробов (*P.aeruginosa*, *S.aureus*), так и среди анаэробов (клостридии, эубактерии, пропионибактерии) даже выросло. В этом смысле добавление метронидазола казалось бы мало что изменило, однако вновь хотим выделить итоговое увеличение пропионибактерий и эубактерий. Ни в одном случае, как и в предыдущих двух группах, не было элиминации возбудителей.

Таким образом, бактериальная инфекция бронхолегочной системы у больных МВ носит смешанный аэробно-анаэробный характер. Как же формируется микрофлора респираторного тракта у больных МВ? Существует два источника: экзогенный и эндогенный. Экзогенный — это среда обитания и окружение больного. Эндогенное обсеменение тоже, в свою очередь, двоякого происхождения: сверху — нисходящий путь (собственная орофарингеальная и флора придаточных пазух носа) и снизу — восходящий путь (транслокация толстокишечной флоры). На последнем феномене следует остановиться поподробнее. Если сам факт транслокации мало кем оспаривается, то на роль этого явления существует две точки зрения. Одна считает его патогномичным и предлагает блокировать, под-

вергая кишечник деконтаминации с помощью ингибиторов АПФ, L-аргинина, α -IFN, глутамина, ингибитора C_1 -эстеразы. Другая точка зрения признает транслокацию естественным защитным механизмом, поскольку, например, при термической травме транслоцируется в основном нормальная микрофлора, которая с помощью собственных протеолитических ферментов, иммуномодуляторов, АБ, факторов роста оказывает заживляющий эффект [4–6].

Транслокации бактерий из ЖКТ в респираторный тракт у больных МВ способствуют два обстоятельства: «проходимость» энтероцитарного барьера и чрезвычайно низкое парциальное давление кислорода в мокроте [7], что делает ее особенно «притягательной» для анаэробов.

«Поселившись» на новом месте, анаэробы образуют некое сообщество и формируют его защитный механизм — биоплёнку [8], которая не позволяет «выкурить» их с насиженного места. Эта «непотопляемость» анаэробов в нашем исследовании, как и в исследовании [7], является, по-видимому, главным доказательством их участия в воспалительном процессе.

Однако роль анаэробов в воспалении у больных МВ не является строго определённой — патогенная или защитная. Вместе с облигатными патогенами, такими как клостридии, фузобактерии, превотеллы, переселяются и доминируют микробы (эубактерии, пропионобактерии, актиномицеты, род *Bacillus*) двойного назначения. Наряду с собственной ролью в воспалительном процессе они в состоянии оказывать противодействие (понижая активность и ограничивая рост) вышеназванных патогенов, способствуя тем самым наступлению ремиссии. Например, пропионобактериям свойственны пробиотические функции — ингибирование роста нежелательной микрофлоры и стимуляция роста бифидобактерий [2]. В то же время пропионобактерии используются в пищевой промышленности при приготовлении сыров в качестве бактерий, способных «загустить» сыр. Таким образом, пропионибакте-

рии у больных МВ можно рассматривать в качестве дополнительного патогенного фактора, обуславливающего повышение вязкости мокроты. Род *Bacillus* продуцирует АБ широкого спектра действия, лизоцим и иммуномодуляторы [5].

Сама по себе идея конкурентных природных взаимоотношений (противоборства) не нова, достаточно вспомнить простоквашу И. И. Мечникова или выделение цефалоспоринов из сточных вод Тибра итальянцем Бротцу.

Отсюда вывод: если выбирать способ, ограничивающий транслокацию анаэробов, то нужна не всеподавляющая деконтаминация кишечника комбинацией АБ [9], а щадящая направленная регуляция толстокишечной микрофлоры с помощью синбиотиков (смесью пробиотиков и пребиотиков), избирательно стимулирующих рост эндогенной физиологической флоры [10], и (или) используя препарат бактисубтил [11], полученный из мутанта со специфическими биохимическими характеристиками, близкими к *B.cereus* и *B.subtilis*, который избирательно подавляет патогенную флору, например, *E.coli*, *Proteus* spp., стафилококк [12].

Если говорить о выборе системных АБ для действия на респираторную, в частности, анаэробную флору, то нужно помнить, что среди этих микроорганизмов есть «наши друзья и наши враги» и с этой точки зрения, как показали наши исследования, клиндамицин (в отличие от метронидазола) действует менее разборчиво, губя и правых и виноватых. В итоге — и более низкий прирост функциональных показателей лёгких.

Таким образом, принимая во внимание современные данные о чувствительности к антибиотикам анаэробных бактерий [1], необходимо продолжить исследования со следующей группой АБ — ингибиторозащищенными β -лактамами: амоксициллином/клавуланатом, амоксициллином/сульбактамом и цефоперазоном/сульбактамом.

Сравнительно новым препаратом для этой цели является также фторхинолон IV поколения — моксифлоксацин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галкин Д. В., Кречикова О. И., Сухорукова М. В., Дехнич А. В. Современные возможности терапии анаэробных инфекций. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2006; 8: 4: 298–313.
2. Семькин С. Ю., Осипов Г. А. Анаэробы участвуют и доминируют в бронхиальном секрете детей, больных муковисцидозом. VIII Национальный конгресс «Муковисцидоз у детей и взрослых». 5–6 июня 2007 г. Ярославль. Сб. статей и тезисов, 137–138.
3. Осипов Г. А., Парфенов А. К., Верховцева Н. В. и др. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическими методами. *Русс мед сервер — микробная диагностика* www.rusmedserv.com/microbdiag/klgastart.htm-76k.
4. Никитенко В. И., Захаров В. В., Бородин А. В. и др. Роль транслокации бактерий в патогенезе хирургической инфекции (обзор литературы). <http://www.bacoren.ru/articles/obzor.htm>
5. Копылов В. А., Захаров В. В. Бактериальная транслокация при термической травме. <http://esculapus.far.ru>
6. Бородин А. В., Симоненко Е. В. Транслокация бактерий при повреждениях. <http://esculapus.far.ru>
7. Worlitzsch D. et al. Strick anaerobes persist in CF sputum despite antibiotic treatment. *J Cystic Fibrosis. Abstracts of the 30th European Cystic Fibrosis Conference, Belek, Turkey. 2007; 6: Suppl. 1-S: 49 (202), Abstract 87.*
8. Field T. R., Elborn J. S., Tunney M. M. Biofilm formation by anaerobic bacteria isolated from sputum of patients with cystic fibrosis. *J.C.F. Abstr. of 30th Europ. CF conf. Belek, Turkey. 2007; 6: Suppl. 1-S. 49 (202), Abstract 89.*
9. Fish D. N. et al. Новое о госпитальной пневмонии: лечение, профилактика и будущие направления. *Highlights from: infections in medicine, 1994; 9: 1: 2–10.*
10. Каширская Н. Ю. Состояние желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и гепатобилиарной системы у больных муковисцидозом. Автореф. дисс. докт. мед. наук. М.: 2001; 426.
11. Никитенко В. И. Взаимоотношения макроорганизма и бактерий в ране и тканях человека и животных. *Хирургия* 1990; 9: 94–98.
12. РЛС-доктор, 1999, бактисубтил.