

2. Totodată, riscul ecologic varia esențial în funcție de vârsta copiilor, formele nosologice ale maladiilor alergice și din punctul de vedere al tipului poluanților. Factorii atmosferici nocivi sunt determinanți în astmului bronșic, și posedă efect cumulativ asupra organismului. Pe când factorii hidrici nocivi acționează indirect, provocând în primul rând dermatită atopică la copiii mici, ca prim pas de “marș atopic”, și în consecință – astm bronșic.

3. Acțiunea cronică a sarcinilor ecologice contribuie la o restructurare profundă a sistemului imuno-competent, cu modificarea calitativă a mecanismelor fiziologice de adaptare a organismului, provocând comutarea reacționării imune la patternul Th2.

Bibliografie

1. Asher M.I. et al. Which Population Level Environmental Factors are Associated with Asthma, Rhinoconjunctivitis and Eczema? Review of the Ecological Analyses of ISAAC Phase One. *Respiratory Research*. 2010, vol.11(8), p.8.

2. Anderson H.R., Butland B.K. et al. Satellite-based Estimates of Ambient Air Pollution and Global Variations in Childhood Asthma Prevalence. *Environ Health Perspect*, 2012, vol.1 (9), p.1333-1339.

3. Dokic D. Asthma and rhinitis part of cronic allergic respiratory syndrome. *Georgian Respiratory J*, 2007, vol.3 (1), p.10-11.

4. Duca G., Cazac V., Gilca G. Poluanți Organici Persistenți. Starea actuală și evaluarea capacităților de monitoring în Republica Moldova. Chișinău. 2004, 52 p.

5. Eggleston P., Diette G., Lipsett M. et al. Lessons Learned for the Study of Childhood Asthma from

the Centers for Children’s Environmental Health and Disease Prevention Research. *Environ Health Perspect*, 2005, vol.113 (10), p.1430-1442.

6. Gordian M., Haneuse S., Wakefield J. An investigation of the association between traffic exposure and the diagnosis of asthma in children. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2006, vol.16, p.49-55.

7. Licari L., Nemer L., Tamburlini G. Children’s health and environment: developing action plans. *WHO Library Cataloguing in Publication Data*, 2006, p.5-29.

8. Procopișin L. Prevalența manifestărilor astmatice în populația de adulți. Materialele Congresului II Național al imunologilor, alergologilor și imunoreabilitologilor cu participare internațională, 2007, p.173-176.

9. Schultz E., Gruzieva O., Bellander T. et al. Traffic-Related Air Pollution and Lung Function in Children at 8 Years of Age – A Birth Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, vol.186, p.1286-1291.

10. Teresa T., Shixin S. et al. The Air Quality Health Index and Asthma Morbidity. A Population-Based Study. *Environ Health Perspect*, 2013, vol.121(1), p.46-52.

11. Vasilos L. și Cojocaru A. Sănătatea copilului în corelație cu mediul ambiant. Monogr Chișinău, 2007, 190 p.

12. WHO. Air Quality Guidelines for Europe. WHO Regional Publication, European series, 2000, №91, p.273.

13. WHO/UNICEF. Global Water Supply and Sanitation Assess. Report, 2000, p.80.

14. Yang Gao, Chan Emily Y. et al. Chronic Effects of Ambient Air Pollution on Lung Function Among Chinese Children. *Arch Dis Child*, 2013, vol.98 (2), p.128-135.

© Светлана Щука, Димитрова Ольга

Светлана Щука, Димитрова Ольга
**АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ
ПРИ ЛЁГОЧНОМ ПОРАЖЕНИИ У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ.**

*Государственный Университет Медицины и Фармации им.Николая Тестемицану, Департамент Педиатрии
(директор – д.н., профессор Н.Ревенко)*

SUMMARY

**ANTIBIOTIC RESISTANCE IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PULMONARY INFECTION
AT CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS**

Key words: cystic fibrosis, antibiotic susceptibility, *Pseudomonas aeruginosa* infection

Aim of our study was to evaluate changes of antibiotic susceptibility patterns of *Ps.aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis

Materials and methods. The study included 63 sputum-samples of collected from patients aged from 1 to 26 years (20

girls/women and 16 boys/men) with confirmed diagnosis of cystic fibrosis. The antibiotic susceptibility patterns in patients with cystic fibrosis with confirmed *Pseudomonas aeruginosa* infection were evaluated. The identification of the infectious agent was performed by spread of the biological material (sputum) on the bacteriological culture media (chocolate agar, blood agar). The next step was to determine the diagnostic bacterial titer ($>10^6$ cells/ml of sputum). Muller-Hinton agar was the bacteriological culture media used for antibiotics susceptibility testing by the disk diffusion method.

Results: There were analyzed results of the bacteriological study of sputum with the first-time identified *Ps.aeruginosa* in comparison with examinations of the follow-up samples of the same patients while antibiotics resistance was developing (in average). The study of the antibiotic susceptibility in the first group and in follow – up samples showed a continuous high level of antibiotic susceptibility to carbapenems and aminoglycosides. There was noticed a moderate decrease of susceptibility to 1st and 2nd generation of cephalosporins and marked decrease of susceptibility to synthetic penicillins.

Conclusion: *Ps.aeruginosa* in patients with cystic fibrosis showed resistance pattern to 1st and 2nd generations of cephalosporins, along with the antibiotic resistance to penicillins. The antibiotic resistance inevitably increased with repeated courses of therapy.

REZUMAT

ANTIBIOTICOREZISTENȚA INFECȚIEI CU PSEUDOMONAS AERUGINOSA LA COPII CU AFECTAREA TRACTULUI RESPIRATOR ÎN FIBROZA CHISTICĂ.

Cuvinte cheie: fibroza chistică, infecția piocianică, antibioretistența, sensibilitatea la antibiotice

In studiul au fost incluse 63 probe ale secretului bronhopulmonar (obținut de la pacienții cu fibroza chistică confirmată), care au fost analizate la spectrul de sensibilitate la antibiotice a *Ps.aeruginosa*. Materialul colectat a fost inoculat pe medii de cultură corespunzătoare pentru izolarea culturilor pure, care ulterior vor fi testate la sensibilitate vis-a-vis de antibiotice. Au fost evaluate rezultatele examenului bacteriologic al sputei la copii cu infecția piocianică primar determinată comparativ probelor bacteriologice efectuate în dinamică la etapa dezvoltării antibioretistenței (peste 2,4 ani). S-a constatat, că spectrul de sensibilitate antibacteriană la pacienții cu bacilul piocianic evaluați primar și în dinamică, este la nivelul înalt pentru grupele carbopenemelor și aminoglicozidelor, în același timp se observă o majorarea a rezistenței către cefalosporinele de generația I și a II și o rezistență marcată la antibioticele din grupul penicilinelor anti-piocianice.

Муковисцидоз (МВ) — одно из наиболее частых моногенно наследуемых заболеваний, с полиорганным поражением и полисиндромными проявлениями. МВ относится к генетическим заболеваниям, угрожающим жизни и влияющим негативно на качество жизни больного. Его прогноз в первую очередь зависит от тяжести поражения органов дыхания, в патогенезе которых огромную роль играют инфекции, вызванные золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), гемофильной палочкой (*Haemophilus influenzae*), пневмококком (*Streptococcus pneumoniae*), реже - представителями семейства *Enterobacteriaceae* [8].

Микробно-воспалительный процесс играет важную роль в эволюции хронического бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом. Поражение респираторного тракта является причиной смерти более чем у 90% больных МВ. В настоящее время, благодаря внедрению в практику адекватных лечебных программ по МВ, средняя продолжительность жизни в лучших центрах МВ превышает 31-35 лет. [5].

Инфекция *Pseudomonas aeruginosa* вызывает наиболее тяжелое и прогностически неблагоприятное течение хронической бронхолегочной пато-

логии у больных МВ. Обладая многочисленными факторами вирулентности и самыми различными механизмами устойчивости, *Pseudomonas aeruginosa* обуславливает потенциальную опасность и тяжесть инфекций у детей с МВ. Если возбудитель регулярно высевается на протяжении 6 месяцев из бронхолегочного секрета, используется термин хронической синегнойной инфекции, что сопровождается нарастанием респираторной симптоматики и прогрессивным ухудшением функции легких.[5]. При хронической синегнойной инфекции санация бронхолегочных путей от *Pseudomonas aeruginosa* практически невозможна, однако её временное исчезновение из мокроты наблюдается более часто по мере увеличения длительности курсов адекватной антибиотикотерапии (АТ) [4].

У больных МВ при колонизации эпителия респираторного тракта *Pseudomonas aeruginosa* подвергается трансформации в мукоидные (слизистые) формы, которые начинают продуцировать слизь, содержащую алгинат, защищающую микробную клетку и снижающую чувствительность микроорганизма к антибиотикам [4]. Развитие множественной лекарственной устойчивости синегнойной палочки связано с продукцией

β -лактамаз, гиперпродукцией цефалоспоринызы AmpC или неферментных механизмов устойчивости, таких как активное выведение антибиотика (эффлюкс), опосредованное различными системами эффлюкса (MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN и MexXY-OprM), которые обуславливают приобретенную резистентность как следствие гиперэкспрессии генов эффлюкса, вызванной мутационными процессами [1,3]. Наиболее неблагоприятно протекает синегнойная инфекция, обусловленная мукоидными штаммами, продуцирующими алгинат – экзомукополисахарид, которые являются важнейшим фактором вирулентности этих бактерий. Микроколонии *Ps.aeruginosa*, покрытые алгинатом, становятся труднодоступными действию антибиотиков, что значительно снижает эффективность лечения и ухудшает прогноз заболевания [6].

Антибиотикотерапия является жизненно необходимой составной частью лечения больных МВ [5]. Рациональная АТ может предупредить или задержать развитие хронической инфекции нижних дыхательных путей. При развившейся легочной инфекции применение адекватных режимов АТ дает возможность замедлить темп прогрессирования легочных расстройств. Продолжительность жизни и ее качество у больных с синегнойной инфекцией значительно улучшились с появлением новых антибиотиков, активных против синегнойной инфекции. *Pseudomonas aeruginosa* обладает природной чувствительностью к β -лактамам антибиотикам (цефтазидиму, цефепиму, имипенему, меропенему), аминогликозидам и фторхинолонам, которые являются эффективными при терапии синегнойной инфекции. Кроме того, более эффективными для этих целей являются комбинированная терапия β -лактамных антибиотиков в сочетании с аминогликозидами [1,2].

Результаты многочисленных исследований показали, что длительный прием малых доз макролидов, подавляют продукцию алгината, а так же разрушают биофильм, защищающий микроколонию *P.aeruginosa*, предотвращая тем самым развитие антибиотикорезистентности синегнойной палочки и замедляя прогрессирование хронического бронхолегочного процесса у больных МВ [7].

В свою очередь, АТ в отношении *P.aeruginosa* у пациентов с МВ оказывает положительное влияние и на клиническое состояние, функцию легких, количество колоний *P.aeruginosa* в мокроте, маркеры воспаления, нутритивный статус, качество жизни и уровень выживаемости больных.

Целью исследования явилось определение спектра чувствительности к антибиотикам штаммов *Ps.aeruginosa* у больных с муковисцидозом и развитие антибиотикорезистентности на фоне длительной антибиотикотерапии.

Материалы и методы:

Нами было исследовано 63 пробы бронхиального секрета у пациентов в возрасте от 1 года до 26 лет (20 девочек и 16 мальчиков), с подтвержденным диагнозом муковисцидоза на основании клинических данных, повышенной концентрации ионов хлора в потовом тесте (выше 60 ммоль/л), молекулярно-генетического исследования (выявлении мутаций, в частности дел F508). Материал для бактериологического исследования бронхиального секрета получали при откашливании мокроты в стерильную посуду, процедура проводилась в период обострения бронхолегочного процесса. При невозможности сбора мокроты исследовали мазки из глубоких отделов задней стенки глотки. Для установления этиологии инфекции осуществлялся посев на соответствующих средах (шоколадный агар, кровяной агар), с последующим определением диагностического титра выделенной микрофлоры ($\geq 10^6$ клеток в 1 мл мокроты). Чувствительность бактерий к антибиотикам проводилась диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона.

Всем пациентам в период обострения в условиях стационара, проводился курс внутривенной АТ двумя антибиотиками, руководствуясь чувствительностью выделенного микроорганизма (цефалоспорины 3 поколения + аминогликозид), чаще всего это сочетание цефтазидим + амикацин. Длительность курса составляла 14 дней. Амбулаторно, после нормализации клинических и параклинических показателей, дети продолжали получать АТ энтерально (ципрофлоксацин 40 мг/кг, азитромицин по схеме 10мг/кг – 3 раза в неделю).

Результаты и обсуждение:

Результаты исследования показали, что в первой группе, где было исследовано 36 проб с первично-выделенной *Ps.aeruginosa*, степень бактериального обсеменения исследуемого материала была следующей: 10^3 – пять пациентов, 10^4 – у четверых, 10^5 – у четверых, 10^6 – у семерых, 10^7 – у семерых, 10^8 – у восьмерых пациентов.

При изучении антибиотикограммы на этапе первичного исследования отмечается относительная чувствительность к антибиотикам пенициллинового ряда, используемых при лечении синегнойной инфекции (пиперацилин – 87,5%; пиперациллин+тазобактам – 86,9%), в целом, была выявлена высокая чувствительность выделенной *Ps.aeruginosa* ко всем перечисленным цефалоспорином II–III-го поколения (цефуроксим 58,3%; цефтриаксон – 47%; цефтазидим – 78,1%; цефоперазон – 74,1%), аминогликозидам (гентамицин – 91,1%; тобрамицин – 93,1%, амикацин – 50%), карбапенемам (имипенем 74%) и 100% чувствительность всех штаммов к ципрофлоксацину (рис 1.)

Стоит отметить, что у 8 из 36 обследуемых детей, *Ps.aeruginosa* впервые была выделена на

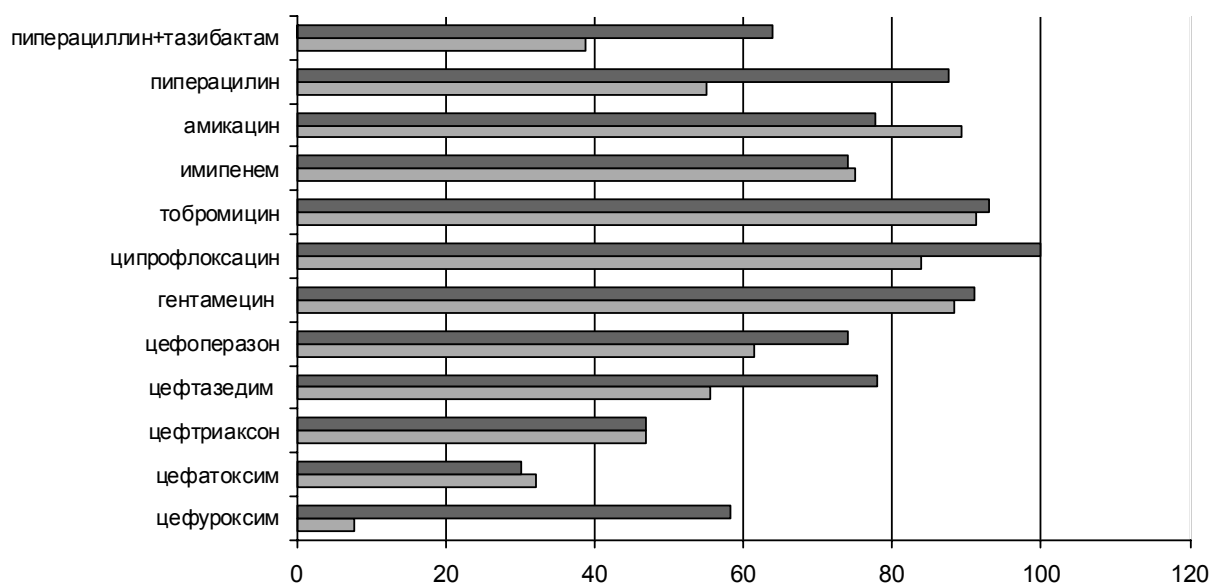


Рисунок 1. Спектр чувствительности *Ps.aeruginosa* к антибиотикам

протяжении первого года жизни, а у 10 пациентов впервые высеянная *Ps.aeruginosa* была полирезистентна, что можно объяснить поражением респираторного тракта у этих пациентов внутригоспитальными штаммами синегнойной палочки.

Повторный посев мокроты производился спустя $\pm 2,14$ года от первого посева. Были обследованы 27 проб мокроты с *Ps.aeruginosa*, в которых выявлены изменения чувствительности к антибиотикам штаммов синегнойной палочки. В этих пробах мокроты концентрация синегнойной палочки составляла 10^3 в трех случаях, 10^4 в шести, 10^5 так же в шести случаях, 10^6 в четырех, 10^7 в двух, 10^8 в пяти случаях. Обращает на себя внимание понижение чувствительности синегнойной палочки за этот период к цефалоспорином II–III-го (цефтриаксон – 50%, цефтазидим – 55,5%, цефоперазон – 61,5%), к противосинегнойным пенициллинам (пиперацилин – 87,5%, тикарцилин 28,5%, пиперациллин+тазобактам – 63,8%). За период исследования чувствительность к имипенему составила 75% и к ципрофлоксацину – 84%, изменилась незначительно и остается на высоком уровне, в свою очередь к аминогликозидам по сравнению с первой группой незначительно повысилась (гентамицин – 88,4%, тобрамицин – 91,3%, амикацин – 89,4%). За период исследования было выявлено, что у 6-х пациентов из 27-ми развилась резистентность к цефтазидиму: у троих детей за промежуток в один год, и по одному пациенту – в промежуток времени через 7 месяцев, 3 года и 4 года, соответственно. В пяти пробах из 36 были выделены штаммы синегнойной палочки с резистентностью к имипенему, но с сохранением чувствительности к цефтазидиму, пиперацилину и к пиперациллину+тазобактаму.

Лечение инфекций, вызванных *Ps.aeruginosa*, является одной из самых сложных проблем клинической химиотерапии из-за тяжести этих заболеваний и множественности механизмов устойчивости у микроорганизма. Синегнойная палочка способна формировать устойчивость ко всем известным на сегодняшний день антибактериальным препаратам.

Анализ полученных данных позволяет утверждать, что на фоне антибактериального лечения *Ps.aeruginosa* вырабатывает устойчивость к большинству антипсевдомонадных препаратов (цефтазидиму, пиперацилину/тазобактаму, гентамицину и ципрофлоксацину). Незначительная часть штаммов обладала устойчивостью и к карбапенемам, т.е. могла быть отнесена к категории «панрезистентных». Лечение инфекций, вызываемых такими штаммами, является на сегодняшний день практически неразрешимой проблемой для химиотерапии [9].

Отмеченное выше понижение чувствительности в динамике к природным и полусинтетическим пенициллинам используемых в лечение *Ps.aeruginosa* (пиперацилин, пиперациллин + тазобактам). Несмотря на то что, на уровень природной активности антибиотиков этой группы в отношении синегнойной палочки оказывает способность последней к синтезу индуцибельных хромосомных бета-лактамаз класса C (AmpC), активность которых не подавляется сульбактамом, клавуланатом и тазобактамом. Основой феномена являются мутации в генах, регулирующих продукцию указанных ферментов [3].

Развитие резистентности внегоспитальных, наряду с высокой резистентностью госпитальных штаммов синегнойной палочки, отмеченная к цефалоспорином II-III поколений (цефутоксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефоперазон), обусловлена

избыточной выработкой гиперпродукцией бета-лактамаз, как хромосомных АмрС, так и плазмидных. В свою очередь плазмидные бета-лактамазы типа PSE-1 и PSE-2 устойчивы к бета-лактамазам, но чувствительны к карбапенемам, цефтазидиму, цефепиму, что и определяет несколько меньшую к ним резистентность *P.aeruginosa* [3].

По результатам исследования аминокликозиды на протяжении всего исследования пациентов с муковисцидозом сохраняют наибольшую природную активность в отношении *Ps.aeruginosa*.

Особый интерес представляют выделенные штаммы *Ps.aeruginosa* со сниженной чувствительностью к имипенему, но сохранивших чувствительность к цефтазидиму и пиперациллину/тазобактаму. Подобные штаммы достаточно часто описывают в литературе, механизм избирательного снижения чувствительности к имипенему связывают с дефектами белка внешней мембраны D₂, через который в норме происходит транспорт имипенема к чувствительной мишени действия [9,10].

Согласно данным научного проекта MYSTIC, изучение распространения антибиотикоустойчивости в учреждениях, использующих меропенем у специфических категорий больных в отделении реанимации, у пациентов с муковисцидозом, которые получают массивную антибактериальную терапию, характерен максимальный риск селекции устойчивых микроорганизмов, в частности *Ps.aeruginosa*. При исследовании в динамике антибиотикорезистентности среди этих групп высока вероятность наиболее раннего выявления новых механизмов устойчивости и тенденции к их распространению. В течение 3 лет наблюдения, меропенем оставался наиболее активным антибиотиком в отношении грамотрицательных микроорганизмов особенно при МВ. По мере убывания активности, изученные антибиотики располагались следующим образом: меропенем > имипенем > ципрофлоксацин > гентамицин = цефтазидим > пиперациллин/тазобактам. За период наблюдения не было выявлено тенденции к нарастанию устойчивости к карбапенемам, в то же время частота устойчивости к фторхинолонам и аминокликозидам явно возросла [9,11].

Мы обратились к исследованиям других авторов, и нашли возможные объяснения данным изменениям. Развитие нечувствительности синегнойной палочки к антибиотикам группы цефалоспоринов II-III поколений, пенициллинам, и меропенему при сохраненной чувствительности к имипенему/циластатину говорит о развитии полирезистентного штамма *Pseudomonas aeruginosa* и позволяет предположить лидирующую роль гиперактивации системы активного эффлюкса, являющейся молекулярной основой поливалентной устойчивости возбудителя к указанным антибиотикам. Данная теория также объясняет сохранение чувствительности

к имипенему/циластатину, поскольку активация эффлюксных насосов (MexAB-OprM) у синегнойной палочки снижает активность меропенема [3,1].

Вывод: *Ps.aeruginosa* у пациентов с муковисцидозом обладает резистентностью в большей степени к цефалоспорином II-III поколения, наряду с развитием устойчивости к антипсевдомонадным антибиотикам пенициллинового ряда, которая неизбежно возрастает при повторных курсах проводимой терапии.

Библиография

1. Шагинян, И. А. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности / И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т.7, № 3. – С. 271 – 285.
2. Oie S. In vitro effects of combinations of antipseudomonal agents against seven strains of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* / S. Oie [et al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2003. – V. 52, № 6. – P. 911-914.
3. Илюкевич Г. В., Смирнов В. М., Левшина Н. Н. Антибиотикорезистентность госпитальных штаммов синегнойной палочки и оптимизация выбора антимикробной терапии в отделениях интенсивной терапии и реанимации. Медицинские новости. Белоруссия 2006. № 11 с 101-106.
4. Капранов Н. И., Каширская Н. Ю., Симонова О. И. Муковисцидоз. Методические рекомендации. - Москва. с.1997 – 67.
5. Капранов Н. И., Шабалова А. А. Рациональная антибиотикотерапия и роль ципрофлоксацина в лечении бронхолегочной инфекции у детей с муковисцидозом. Москва.
6. Ленарт Т.В. Антибактериальная терапия муковисцидоза у детей. г. Донецк, Украина, 2008. № 236.
- 7.Осипова И. А., Блистинова З. А., Капранов А.Н., Пятова С. В. Опыт внутривенной антибактериальной терапии на дому у детей, больных муковисцидозом. Пульмонология. Москва. 2001. № 3 с. 27-31.
8. Зубков М. Н., Самойленко В. А., Гугуцидзе Е. Н., Чучалин А. Г. Микробиологические аспекты этиологии и антимикробной терапии бронхолегочной инфекции при муковисцидозе у взрослых. Пульмонология. Москва. 2001. № 3 с. 38-41.
9. Сидоренко С. В., Резван С. П., Грудина С. А., Стерхова Г. В. Динамика антибиотикорезистентности возбудителей госпитальных инфекций в отделении реанимации. Consilium Medicum Том 3/№ 2/2001 – Приложение, 56с.
10. Yoneyama H., Nakae T. Mechanism of efficient elimination of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother 1993; 37: 2385–90.
11. Goossens H. for MYSTIC Study Group (European centres only). J Antimicrob Chemother 2000; 46 (Topic T2): 39–52.