

Динамична картина на микробиологичната флора при пациенти с муковисцидоза, лекувани с инхалаторен тобрамицин

Д-р Гергана Петрова,¹ д-р Татяна Стратева,² доц. Пенка Переновска¹

¹Детска клиника, УМБАЛ „Александровска“

²Катедра по микробиология, Медицински университет, София

Резюме

Микробиологичните резултати от изследване на храчка при пациенти с муковисцидоза през последните 50 години са значително изменени благодарение на усъвършенстването на прилаганите терапии и удължаване на средната продължителност на живота при тях. Все по-често се изолират „нетипични“ и мулти-резистентни микроорганизми, сред които мукоидна форма на *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia*. И макар че клиничната значимост на последните два за влошаване на клиничния ход при пациентите с муковисцидоза не е все още изяснена напълно, изолирането им изисква активни мерки за борба с тях и по възможност постигане на ерадикация. Интересен момент е наличието на едновременна или последователна колонизация с различни щамове от посочените микроорганизми. Представяме опита си от продължително лечение с инхалаторен тобрамицин при 13 пациента с муковисцидоза, като по-детайлно са разгледани три случая, илюстриращи променливата микробна флора при тези пациенти, която изисква различно лечение и активно проследяване.

Ключови думи: муковисцидоза, храчка, инхалаторен тобрамицин, *P. aeruginosa*.

The Dynamic Of Microbiological Flora In Cystic Fibrosis Patients Treated Inhaled Tobramycin

Gergana Petrova,¹ Tatyana Strateva,²
Penka Perenovska¹

¹Pediatric clinic, UMHAT „Alexandrovska“

²Microbiology department, Medical University, Sofia

Abstract

Over the past 50 years microbiological results of sputum examination in patients with cystic fibrosis have significantly altered due to the applied more sophisticated therapies and prolonging the life expectancy. More often results of „atypical“ and

multi-resistant organisms, including mucoid form of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia* have been isolated. Although the clinical significance of the last two of deteriorating clinical course in patients with cystic fibrosis has not yet been clarified completely isolating them requires active measures to control them and if possible to achieve eradication. An interesting point is the presence of simultaneous or successive colonization with different strains of these organisms. The authors present their experience with prolonged treatment with inhaled tobramycin in 13 patients with CF and more in detail description of three cases illustrating the variable microbial flora in these patients, which requires different treatment and active follow-up.

Key words: cystic fibrosis, sputum, inhaled tobramycin, *P. aeruginosa*.

Муковисцидозата (МВ) е аутозомно-рецесивно наследствено заболяване, при което е нарушена секреторната функция на всички екзокринни жлези. От МВ боледуват около 180 души в България. Хронична колонизация с *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* и в по-късна възраст *Pseudomonas aeruginosa* е неизменна част от прогресията на заболяването. Патогномонични за МВ микроорганизми се считат *P. aeruginosa* и грам-негативни бактерии (*Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pickettii*, *Burkholderia gladioli*) с мукоиден фенотип, който определя и тяхната полirezистентност.^{1, 15} Преобладаващият колонизиращ патоген на пациентите с муковисцидоза до 10-годишна възраст е *S. aureus*, а след 10 години е *P. aeruginosa*, който се изолира при 80% от пациентите след 18-годишна възраст (табл. 1). Третият най-често открит

ващ се микроорганизъм при по-младите пациенти е *H. influenzae*. По-малка част от пациентите, но относително постоянен процент от тях през годините са колонизирани с *B. cepacia* complex и *S. maltophilia* (табл. 1). *Pseudomonas aeruginosa* е главният патоген, отговорен за влошаването и прогресивното увреждане на дихателните пътища на тези пациенти (изолира се в около 70% от пациентите до навършване на 17 години).⁶ Инфектирането с *P. aeruginosa* е крайъгълен момент в естествения ход на заболяването, тъй като неговото наличие е свързано с влошаване на белодробните показатели и е значителен прогностичен белег за смъртността.^{4, 14} Ето защо агресивното поведение при първоначално изолиране на този микроорганизъм с цел ерадикация е заложено в световните протоколи за лечение на пациентите с МВ. В терапевтичната схема се залага на комбинация от инхалаторни антибиотици (тобрамицин, амикацин, колестин) и ципрофлоксацин, карбеницилин и цефалоспорици от 4 генерация. Не случайно фармацевтичната и научно-изследователската индустрия, свързани с МВ, са насочени предимно в разработването на антипсевдомонадни агенти.

Най-съвременният подход в лечението на *P. aeruginosa* включва използването на инхалаторни антибиотици. Предимствата на инхалаторните антибиотици за болните с МВ са известни повече от 30 години.⁸ Хипотетично погледнато, приложените медикаменти инхалаторно достигат директно до мястото на инфекцията и по този начин са максимално ефективни. Поради йонната си структура филмът, покриващ дихателните пътища при МВ, може да намали натрупването на антибиотика върху бактериите, а активността на аминокликозидите може да се редуцира от свързването им със свърхналичието на екстрацелуларна неутро-

филна ДНК, ето защо се препоръчва концентрацията в хранка на антибиотиците да е 25 пъти по-висока от МИК за достигане на бактерициден ефект. Толкова високи концентрации не могат да се получат при венозна инфузия поради риска от системни токсични ефекти, но са достижими при инхалаторно приложение, което е с пренебрежимо малък риск за системни ефекти и са почти неототоксични.^{9, 16} Макар и не винаги да се достига бактерицидна концентрация, инхалаторните антибиотици намаляват факторите на бактериална вирулентност.¹¹

Ramsey и колеги¹⁴ са установили значително подобрение на белодробните показатели, както и намаляване на броя на хоспитализациите и използването на интравенозни антибиотици след приложение на дълготрайна, интермитентна терапия с инхалаторен тобрамицин. Отбелязва се също и фактът (при възрастово стратифициране), че най-значителен терапевтичен ефект е постигнат при юношите от 13 до 17 години (около три пъти повече в сравнение с всички групи възрастови групи). Данните на Ramsey и колеги са потвърдени в няколко различни проучвания, при които се акцентира върху дълготрайния ефект на подобно лечение, и се постулира необходимостта от възможно най-ранно започване на инхалаторен тобрамицин с цел да се съхрани максимално дълго белия дроб, тъй като минимален спад в показателите е неизбежен при естествения ход на заболяването през годините.^{2, 10, 12} Лечението с инхалаторен тобрамицин е неизменна част от „Standards of care“ на всички съвременни центрове по МВ в света.⁵ От средата на 2008 г. на българските пациенти с МВ, инфектирани с *P. aeruginosa*, се отпуска безплатно от държавата и TOBI™ към лечебния план по наредба № 34 за скъпоструващите медикаменти.

За период от 4 години наблюдавахме 13 пациента с МВ на възраст от 7 до 20 години, лекувани за продължителен период от време с инхалаторен тобрамицин (TOBI™) по схема 28 дена лечение, редувано от 28-дневна пауза. Интерес предизвика смяната на патогенния микроорганизъм при тези пациенти по време на лечението. За отбелязване е, че в 28-дневните курсове с инхалаторен тобрамицин всичките 13 пациенти субективно се чувстват по-добре, с по-добър толеранс към физически натоварвания, а обективно е отчетено повишаване на показателите от функционалното изследване на дишането средно с около 7%. След 6-месечно лечение при пациентите се постигна временно негативиране на микробиологичната находка за период от 4 месеца

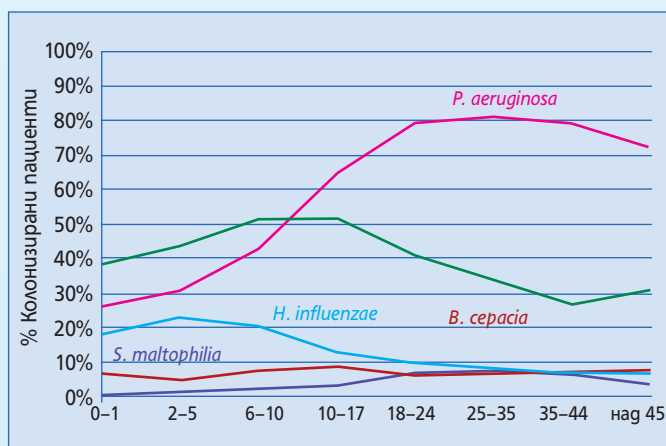


Табл. 1. Процент колонизирани с различни патогени пациенти с муковисцидоза според възрастта им

до 1 година и 3 месеца, след което отново се изолира *P. aeruginosa*. При 6 деца, независимо от лечението с инхалаторен тобрамицин, *P. aeruginosa* се изолира постоянно, като при половината от тях временно се изолират и други патогени (*S. aureus*, *Candida spp.*, *H. influenza*, *S. pneumoniae*) едновременно с *P. aeruginosa*. За отбелязване е фактът, че след лечение с ТОБИ™ при продължаваща колонизация с *P. aeruginosa* микроорганизмите изискват по-високи минимални инхибиращи концентрации от антибиотиците, в сравнение с предходно изследване.

По-специално внимание се обърна на останалите 3 пациенти (1 момче и 2 момичета), при които се наблюдава редуване на патогени от групата на каталазо образувачи неферментативни грамотрицателни микроорганизми, класифицирани до преди 1990 г. в разред *Pseudomonadales*, но отделени в отделни разреди след това, патогени от семейства *Burkholderiaceae*, *Xanthomonadaceae* *Pseudomonadaceae* и *Moraxellaceae*. Последователността на изолираните патогени и съответната приложена терапия е представена в табл. 2.

Първата пациентка е момиче с установена муковисцидоза от кърмаческа възраст по повод на невиреене и рецидивиращи инфекции на дихателните пътища. Диагнозата е потвърдена с двукратно установени повишени стойности на хлоридите в потта и генетично определени две мутации – двоен хетерозигот F508/218insA. Придружаващи заболявания: вродена луксация

на тазобегрената става и хранителна алергия. Провежда системно лечение с Pulmozyme™, Creon™, Flixotide™ и Atrovent™ и перидично антибиотици. На шестгодишна възраст в хрчка се установява първата колонизация с *P. aeruginosa*, която преминава в хронично носителство, с постоянно изолиране на микроорганизма при всяко изследване. От другите патогенни микроорганизми през годините 4-кратно е установявана *K. pneumoniae*, еднократно *Streptococcus* и перидично *Candida spp.* През 2006 г. след 6-месечен курс с Тоби™ за първи път в хрчка не се установява *P. aeruginosa*. След това лечение пациентката е в сравнително добро състояние за период от близо година и половина. Впоследствие е хоспитализирана по повод на екзацербация на основното заболяване. Тогава от хрчка се изолират полирезистентни *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, но не и *P. aeruginosa*. След триседмично парентерално комбинирано антибиотично лечение при повторно изследване на хрчка се доказват единични колонии на същите микроорганизми. Интересна находка при пациентката е, че след приключване на лечението след още една седмица в хрчка се появява *P. aeruginosa* без наличие на другите два щамма. Започнато е отново лечение с инхалаторен тобрамицин и перорални антибиотични курсове съобразно антибиограмите и редуване на *P. aeruginosa* с *B. gladioli* и *P. fluorescens*. От началото на 2010 г. се изолира и *Aspergillus spp.* По повод на поредната екзацербация е хоспитализирана и, независимо от агресивното терапевтично поведение, на фона на разгърнат диабет и полиорганна недостатъчност настъпи фатален изход. Последният изолиран микроорганизъм е *A. xyloxydans*.

Вторият пациент е момче с установена муковисцидоза от едномесечна възраст по повод на стеаторея и лош тегловен прираст. Диагнозата е потвърдена с двукратно установени повишени стойности на хлоридите в потта и генетично определени две мутации – двоен хетерозигот F508/F508. През годините заболяването се усложнява с влошаване в показателите на чернодробната функция. От 1-годишна възраст е с изявена респираторна симптоматика – обостряне на процеса поне двукратно всяка година. Провежда системно лечение с Pulmozyme™, Creon™, Ursofalc™ и Atenolol™ и перидично антибиотици. На десетгодишна възраст в хрчка се установява първата колонизация с *P. aeruginosa*, която преминава в хронично носителство с постоянно изолиране на микроорганизма при всяко изследване. През

	Момиче, 16 години	Момче, 14 години	Момиче, 21 години
патоген	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
лечение	ТОБИ™	ТОБИ™	ТОБИ™
патоген	<i>S. maltophilia</i> + <i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i> + <i>S. aureus</i>	<i>B. cepacia</i>
лечение	Meronem™ + Colistin™	Ciprofloxacin + Klacid™	Ciprofloxacin
патоген	<i>P. aeruginosa</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
лечение	ТОБИ™	Co-trimoxazole	ТОБИ™
патоген	<i>B. gladioli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cepacia</i>
лечение	Co-trimoxazole	ТОБИ™	Co-trimoxazole
патоген	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. aeruginosa</i>
лечение	ТОБИ™	Ciprofloxacin	Colistin™+ Ciprofloxacin
патоген	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
лечение	Ciprofloxacin	Tazocin™	
патоген	<i>Aspergillus spp</i>		
лечение	Voriconazole		
патоген	<i>A. xyloxydans</i>		
лечение	Meronem™		

Табл. 2. Динамична микрофлора на патогени и приложено лечение при трима пациенти с муковисцидоза

2006 г. след 12-месечен курс с TobitTM за първи път в храчка не се установява *P. aeruginosa*. След това лечение пациентът е добро състояние за период от две години и половина. Впоследствие отново е изолиран *P. aeruginosa* в комбинация със *S. aureus*. След триседмично лечение с Ciprofloxacin + KlacidTM се изолира *M. catarrhalis*, за която е лекуван с Co-trimoxazole. Послегва отново изолиране на *P. aeruginosa* и лечение с инхалаторен тобрамицин. След временно негативирание на микробиологичната находка, се изолира *P. fluorescens*. През 2010 г. в хода на поредна екзацербация е хоспитализиран, от храчка се изолира полуреизистентен *P. aeruginosa*, третиран според антибиограмата с TazocinTM. Проследяването продължава.

Третата пациентка е млада жена с установена муковисцидоза от кърмаческа възраст по повод на тежък електролитен дисбаланс и дехидратация, невиреене и рецидивирани инфекции на дихателните пътища. Диагнозата е потвърдена с двукратно установени повишени стойности на хлоридите в потта и генетично определени две мутации – хомозигот F508/F508. Провежда системно лечение с PulmozymeTM, CreonTM и периодично антибиотици. На седемгодишна възраст еднократно е изолиран *P. aeruginosa* и след агресивно лечение през следващите години при многократни изследвания на храчка този патоген не се установява, за сметка на *S. aureus* и периодично *Candida spp.* През месец януари 2008 г. отново се изолира *P. aeruginosa* и започнато лечение с TOBITM, след което в храчка се установява само *Candida spp.* След сравнително кратък период в добро състояние, пациентката отново е с клинични данни на екзацербация, при която от храчка се изолира *V. septicus*, но не и *P. aeruginosa*. Започнато е лечение според антибиограмата. След приключване на антибиотичния курс се установява реколонизация с *P. aeruginosa*, но не се откриват колонии на *V. septicus*. Тази смяна на двата патогена се наблюдава още един път и през 2009 година. През 2010 година, независимо от продължаващото лечение с инхалаторен тобрамицин, постоянно се изолира *P. aeruginosa*. Започнато е лечение с ColistinTM и Ciprofloxacin според антибиограмата. Проследяването продължава.

Заклучение

Изолирането на бактерии от семейства *Burkholderiaceae*, *Xanthomonadaceae* и *Pseudomonadaceae* е затруднено в по-малките микробиологични лаборатории поради нуждата от високоспециализирани тестове за точната им идентификация (напр. BBL Crystal E/NF). Съще-

временно правилната идентификация на тези микроорганизми е есенциална за адекватната терапия и спазване на протоколите за контрол на инфекцията, както е и изключително важна за психо-социалното добруване на пациентите.¹⁶⁴ Точната идентификация е изключително важна и поради някои генетични особености на тези два микроорганизма, които ги правят изключително резистентни към повечето от стандартните анти-псевдомонадни антибиотици. В тези случаи е подходящо комбинирана антибиотична програма според антибиограмата. Според съвременните изследвания за *V. septicus*, удачни антибиотици за тази комбинирана програма са Meropenem, Chloramphenicol, Co-trimoxazole и тетрациклини.⁷ Опциите за поведение при идентифициране на *S. maltophilia* са ограничени от нарастващата през годините резистентност на патогена към Co-trimoxazole и относителната токсичност на ColistinTM – двата медикамента на избор за комбинираното лечение за този микроорганизъм. Вместо co-trimoxazole, colistin може да се комбинира и с rifampin.³

Данните от няколкомесечно приложено лечение с инхалаторен тобрамицин са обнадеждаващи, поради субективното и обективно подобрене, отчетено при пациентите, което е в унисон със съвременните тенденции за лечение.^{5, 13} Липсата на пълна ерадикация обаче потвърждава нуждата от друго допълнително средство за лечение.

Литература

1. Стратева Т. *Pseudomonas aeruginosa* – феномен на бактериална резистентност. *Съвременна медицина*; год. LVI, кн. 2:25–40.
2. Brightling Ch. Sputum. *Clinical Applications of Induced FCCP. Chest* 2006; 129; 1344–1348.
3. Giamarellos-Bourboulis, E. J., L. Karnesis, and H. Giamarelou. Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44:259–263.
4. Henry, RL, Mellis, CM, Petrovic, L. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* is a marker of poor survival in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1992; 12, 158–161.
5. Kerem E, Conway S, Elborn S, Heijerman H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. *Journal of Cystic Fibrosis* 4, 2005; 7–26.
6. Koch, C. Cystic fibrosis – pathogenesis of the lung disease caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5 (suppl. 5):S2–S3.
7. McCloskey M, McCaughern J, Redmond AOB, Elborn JS. Clinical outcome after acquisition of *Burkholderia cepacia* in patients with Cystic Fibrosis. *Irish Journal of Medical Science* 2001; 170:28–31.
8. Mearns MB. Aerosol therapy in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1970; 45:605–7.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.