

*А. В. Покровский¹, А. Г. Пономарёва², А. М. Панин³,
Е. А. Стаценко³, М. П. Королевич⁴*

МОНИТОРИНГ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРОБНОЙ ФЛОРЫ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ

*Спасо-Перовский госпиталь мира и милосердия (ГКБ № 70), г. Москва¹,
Московский государственный медико-стоматологический университет,
г. Москва²,*

*Белорусская медицинская академия последипломного образования,
г. Минск³,*

Минская центральная районная больница, Минский район⁴

На основании бактериологического исследования образцов мокроты и бронхиального секрета у больных хронической обструктивной болезнью (ХОБЛ) лёгких установлено, что у больных ХОБЛ 3-го типа по Anthonisen NR. в отличие от пациентов с 1-м и 2-м типом ХОБЛ примерно в 2 раза реже определяли штаммы бета-гемолитических стрептококков; в 1,5 раза чаще — анаэробных пародонтопатогенных видов и грибов кандиды; в 3 раза чаще — энтерококков; доминировали ассоциации, состоящие из 3–6 видов микроорганизмов, включая штаммы устойчивые к антибиотикам. При стоматологическом обследовании пациентов с ХОБЛ в возрасте от 34 до 78 лет у 95,2% диагностирован хронический генерализованный пародонтит средней и тяжёлой степени, причём в возрастной группе до 40 лет он выявлялся в 84% случаев, а после 40 лет — в 100%. Исходя из полученных данных, выявление в составе микрофлоры нижних дыхательных путей представителей анаэробных пародонтопатогенных видов с определённым спектром устойчивости является основанием для включения в схему антибактериальной терапии цефалоспоринов III–IV поколения (цефтриаксон, цефепим) и современных фторхинолонов (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин).

Ключевые слова: *хроническая обструктивная болезнь лёгких, антибиотикорезистентность, пародонтит.*

**A. V. Pokrovsky, A. G. Ponomarev, A. M. Panin,
E. A. Statsenko, M. P. Korolevich**

MONITORING THE RESISTANCE OF THE MICROBIAL FLORA OF THE RESPIRATORY TRACT TO ANTIBIOTICS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

In the result of bacteriological examination of sputum samples and bronchial secretion of patients that are ill with chronic obstructive pulmonary disease (CORP) we found that patients with CORP type 3 by Anthonisen NR. differed much from patients with the first or second type of the disease. The frequency of infection, caused by beta-hemolytic streptococci, was approximately 2 times less in the group with type 3 of CORP rather than in patients with type 1 and type 2 of the disease. The rate of detection of anaerobic pathogenic species and Candida fungi was 1.5 times more, the rate of detection of enterococci was 3 times more. The association that consisted of 3–6 species dominated. While stomatological examination of the patients with CORP disease aged from 34 to 78 the chronicle spread paradontitis was found in 95.2%. In the group with the age under 40 y. o. it was found in 84%, while after 40 y. o. – in 100%. Thus, the identification of parodontopatogenic anaerobic species in the microflora of the lower airways is the base to include cephalosporin III-IV generation (ceftriaxone, cefepime) and modern fluoroquinolones (levofloxacin, moxifloxacin, gemifloxacin into the scheme of antibiotic therapy.

Key words: *chronic obstructive pulmonary disease, antibiotic resistance, periodontitis.*

Мониторинг возбудителей хронического воспалительного процесса нижних дыхательных путей и уровня их резистентности к антибиотикам, составление на его основе практических рекомендаций по рациональной антибиотикотерапии хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ) является актуальной задачей практического здравоохранения [3, 7–9]. В то же время у пациентов при ХОБЛ в качестве сопутствующего заболевания нередко диагностируют патологию полости рта – хронический генерализованный пародонтит, который сопряжён со специфической вирулентной анаэробной флорой, получившей название пародонтопатогенной [4, 5, 10].

К сожалению, в известных литературных источниках недостаточное внимание уделяется именно анаэробному компоненту микробных ассоциаций и не изучены пародонтопатогенные виды как возможные возбудители хронического воспалительного процесса респираторного тракта [1, 6].

Это связано с отсутствием техники анаэробного культивирования и специалистов, владеющих современными методами идентификации облигатно-анаэробных бактерий. Анаэробное исследование по классическому алгоритму представляет собой достаточно трудоёмкую и длительную процедуру, поэтому оно не всегда рационально и удобно для практических медицинских учреждений. Только в последние годы, когда стали внедряться новые, молекулярные, методы исследований, в этом направлении наметился определённый сдвиг [2, 4]. Поэтому новые исследования по выявлению и установлению резистентности микробной флоры респираторного тракта к антибактериальным препаратам имеют несомненную актуальность.

Целью исследования являлась рационализация антибиотикотерапии ХОБЛ на основании новых данных о возбудителях хронических воспалительных процессов нижних дыхательных путей. Задачи: 1) изучить видовой состав микробной флоры нижних дыхательных путей, включая представителей облигатно-анаэробных видов у пациентов, страдающих ХОБЛ; 2) определить частоту выявления резистентности к основным группам антибиотиков у выявленной микрофлоры; 3) разработать предложения по коррекции схем антибактериальной терапии ХОБЛ.

Материалы и методы. Проведено бактериологическое исследование 164 образцов мокроты и 180 образцов бронхиального секрета, полученных в период с 2009 по 2013 год у больных ХОБЛ. Обследовано 249 больных ХОБЛ (88 мужчин и 171 женщина), которые наблюдались в пульмонологиче-

ских отделениях г. Москвы и Московской области (Спасо-Перовский госпиталь мира и милосердия – ГКБ № 70, ЦРБ № 2, г. Одинцово). Материал доставляли на кафедру микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А. И. Евдокимова. Из материала выделено и идентифицировано 540 штаммов микроорганизмов. Полученные данные сопоставляли с наблюдениями за клиническим состоянием больных и эффективностью комплексного лечения.

В соответствии с классификацией Anthonisen N. R. (1987) всем пациентам по наличию трёх ключевых симптомов в период обострения (усиление одышки, увеличение объёма мокроты, появление гнойной мокроты) ставили диагноз ХОБЛ 1-го типа, при наличии двух симптомов – ХОБЛ 2-го типа, одного из симптомов – ХОБЛ 3-го типа. Были выделены две группы сравнения, в каждой по 139 человек в возрасте от 34 до 78 лет. Первую группу составили больные ХОБЛ 3-го типа; во вторую объединённую группу вошли пациенты с ХОБЛ 1-го и 2-го типов.

Взятие материала для исследования (мокроты) осуществляли утром, натощак в стерильные баночки (Himedia, Индия) и доставляли в микробиологическую лабораторию не позднее трёх часов с момента сбора мокроты. Промывные (лаважные) воды бронхов получали при проведении бронхоскопии и разводили в соотношении 1:1 средой АС (Oxoid, США) для поддержания роста анаэробной и стрептококковой флоры, затем их доставляли в бактериологическую лабораторию в охлаждённом состоянии в тот же промежуток времени.

Выделение и идентификация чистых культур микроорганизмов проводились по общепринятым методам, утвержденным Приказом Минздрава СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. и Manual of Clinical Microbiology, 1999. Для идентификации грамположительных аэробных и факультативно анаэробных кокков использовали биохимическую тест-систему «BBL CRYSTAL GP ID». Для идентификации грамотрицательных аэробов, ферментирующих и неферментирующих глюкозу – «BBL CRYSTAL E/NF ID». Для идентификации нейссерий, моракселл и гемофильных палочек – «BBL Crystal N/H ID» (BD™, США). Дополнительное выявление пародонтопатогенных видов осуществляли с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (набор реактивов «МультиДент-5», фирма «ГенЛаб», РФ).

Штаммы микроорганизмов, полученные при свободном откашливании, расценивали как этиологически значимые при концентрации $\geq 10^{5-7}$ КОЕ/мл, полученные с помощью бронхиальных смывов – в концентрации $\leq 10^{3-4}$ КОЕ/мл [1].

Оригинальные научные публикации

Для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам использовали стандартизированный диско-диффузионный метод по Керби-Бауэру. При определении чувствительности использовали стандартизированные диски фирмы Himedia (Индия). Внутренний контроль качества определения чувствительности к антибиотикам осуществляли с использованием штаммов Американской коллекции типовых культур (ATCC), рекомендуемых МУК 4.2.1890-04, МЗ РФ.

Резистентность штаммов к метициллину (оксациллину) и выявление β -лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий, включая анаэробные, проводили с помощью фенотипических методов [3].

Статистическая обработка включала подсчет описательной статистики и определение достоверности отличий по качественным показателям (выявление/отсутствие определенной группы возбудителей) с помощью критерия χ^2 . Обработка результатов исследования проводилась в программе StatSoft Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение. При культуральном исследовании клинического материала, полученного от больных группы 1, выделено 203 штамма в значимой концентрации ($\geq 10^{5-7}$ КОЕ/мл). Среди них преобладали альфа-зеленящие стрептококки: *S. sanguinis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. anginosus*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. bovis* – 46%, в то время как на бета-гемолитические, преимущественно, *S. pneumoniae* приходилась меньшая доля – 6,4%, на *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.* – 8,9 и 3,4% соответственно, на другие группы аэробных бактерий: неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) – 13%, энтеробактерии – 7%.

Частота выявления пародонтопатогенных видов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum* составила 13,3%. Прочие бактерии – *Aerococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Stomatococcus spp.* выделены в 3,9%, а грибы *Candida spp.* – в 2,9% случаев.

Из 203 проб в 52% проб микроорганизмы были выделены в монокультуре, в 48% проб в составе ассоциаций со *Streptococcus* группы *viridans* и пародонтопатогенными видами.

При культуральном исследовании клинического материала, полученного от больных группы 2, выделено 337 штаммов в значимой концентрации ($\geq 10^{5-7}$ КОЕ/мл). В микробном пейзаже нижних дыхательных путей больных группы 2, также как и по результатам исследования группы 1, доминировали альфа-зеленящие стрептококки – *S. sanguinis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. bovis* – 40,1%, бета-гемолитические *S. pneumoniae* – 3,3%, *Staphylococcus spp.* – 5,1%. В отличие от группы 1 выделено до 8% *Enterococcus spp.*, преимущественно *E. faecalis*.

Частота выявления пародонтопатогенных видов *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum* составила 21,1%. На долю НГОБ приходилось 11%, энтеробактерий – 8%, прочих бактерий – 3%, грибов рода *Candida spp.* – 5% случаев.

Из 337 проб в монокультуре выделено 36%, в ассоциациях – 54% от общего количества положительных посевов, то есть существенно больше, чем в группе 1. Преобладали ассоциации, состоящие из трёх-шести видов микроорганизмов (93%).

Таким образом, в микробном пейзаже нижних дыхательных путей у второй группы были выявлены следующие отличия от такового у представителей первой группы: в 2 раза ниже доля бета-гемолитических стрептококков; в 1,5 раза выше доля анаэробных пародонтопатогенных видов; почти в 3 раза выше доля энтерококков; почти в 1,5 раза больше доля грибов кандиды; доминировали ассоциации, состоящие из 3–6 видов микроорганизмов.

Известно, что резидентные виды не имеют выраженного органного тропизма, поэтому, клиническая картина болезни определяется не видом возбудителя, а характером поражённого органа. Из-за очень низкой патогенности важным усло-

Таблица 1. Частота выявления основных групп микроорганизмов в составе микробных ассоциаций нижних дыхательных путей

Группа возбудителей	Группа 1		Группа 2		P ₁₋₂
	n	%	n	%	
Альфа-зеленящие стрептококки	84	41,4	135	40,1	>0,05
Бета-гемолитические стрептококки	13	6,4	10	3,3	<0,05
Стафилококки	18	8,9	17	5,1	>0,05
Энтерококки	7	3,4	27	8,1	<0,05
Пародонтопатогенные анаэробы	26	13,3	71	21,1	<0,05
Энтеробактерии	15	7,3	27	8,1	>0,05
НГОБ (нейссерии, моракселлы, ацинетобактер, псевдомонас и др.)	26	12,8	37	11,0	>0,05
Прочие (бациллы, коринебактерии и др.)	8	3,9	10	3,3	>0,05
Кандида	6	2,9	17	5,1	<0,05
Всего выявлено штаммов	203	100	337	100	–

вием развития вторичных инфекций у больных является увеличение концентрации микробных клеток в дыхательных путях при нарушении дренажной функции, длительная и не всегда рациональная антибиотикотерапия, что ведёт к обострению патологического процесса и обуславливает разнообразие микробного пейзажа [2, 6]. Участие анаэробных пародонтопатогенных видов, очевидно, является не случайным и определяется наличием у них широкого набора факторов инвазивности и токсичности [4, 5].

В клинической части нашего исследования установлено, что у 95,2% всех больных ХОБЛ, включенных в исследование, диагностирован хронический генерализованный пародонтит средней и тяжёлой степени, причём в возрастной группе до 40 лет он был диагностирован у 84% пациентов, после 40 лет – у 100%.

Был проведён мониторинг антибиотикорезистентности преобладающих изолятов, выделенных от больных. Установлено, что в отношении *Streptococcus* группы *viridans* самыми активными антибактериальными препаратами являлись β -лактамы антибиотики (амоксциллин, цефалоспорины) и фторхинолоны – моксифлоксацин и левофлоксацин. В отношении *Streptococcus pneumoniae* наиболее активными антибактериальными препаратами являлись моксифлоксацин и левофлоксацин, линкозамы (линкомицин), макролиды (кларитромицин, азитромицин) и β -лактамы антибиотики. В отношении энтерококков выявлена устойчивость к ванкомицину и рифампицину 20–25% штаммов.

По полученным нами данным анаэробные грамм-отрицательные бактерии пародонтопатогенных видов проявляли чувствительность к защищённым пенициллинам (амоксциллин/клавулановая кислота, пиперациллин/тазобактам), карбапенемам (имипенем/целастин и меропенем), макролидам (рокситромицин, кларитромицин, спирамицин, азитромицин), фторхинолонам III-IV поколения (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин) и цефалоспорином III-IV поколения (цефтриаксон и цефепим). Свыше 70% штаммов пародонтопатогенных были устойчивы к аминогликозидам, включая III поколение (амикацин), а также ампициллину и эритромицину. В отношении *P. gingivalis* установлено, что более более 70% штаммов были устойчивы и к метронидазолу, более 50% – к линкомицину и клиндамицину (другие пародонтопатогены – более 30 и 50% соответственно).

Полученные в настоящем исследовании данные подтверждают концепцию о циркуляции антибиотикорезистентных штаммов пародонтопатогенных анаэробов в человеческой популяции [10], причём впервые установлено наличие в респираторном тракте при ХОБЛ представителей *P. gingivalis* и в меньшей степени других пародонтопатогенных видов с выраженной устойчивостью к производным имидазола и линкозамидам.

Сопоставляя полученные нами данные с рекомендациями по фармакотерапии оппортунистических инфекций респираторного тракта, мы считаем обоснованным смещение вектора при выборе антибактериальных препаратов в сторону цефалоспоринов III–IV поколений и фторхинолонов, так как эти препараты хорошо действуют на аэробные и некоторые анаэробные компоненты ассоциаций нижних дыхательных путей [1, 2]. Кроме того, немаловажным обстоятельством при выборе схемы антибактериальной терапии хронических воспалительных процессов, следует считать благоприятное действие некоторых антибиотиков (макролидов) на иммунную систему макроорганизма.

Результаты микробиологического мониторинга с учётом чувствительности выделенных штаммов, в том числе пародонтопатогенных видов, легли в основу предложенного алгоритма рациональной антимикробной терапии больных ХОБЛ:

1. Антибактериальную терапию вторичных инфекций у больных ХОБЛ 3-го типа рекомендуется проводить в режиме монотерапии (у них преобладают монокультуры), а 1-го и 2-го типов – в режиме комбинированной терапии (высокая частота микробных ассоциаций).

2. Для эмпирической терапии препаратами первого ряда лечения вторичной инфекции нижних дыхательных путей являются цефалоспорины III-IV поколения (цефтриаксон, цефепим), фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин).

3. Для этиотропной антимикробной терапии при лечении вторичной инфекции нижних дыхательных путей β-лактамами антибиотиками, имидазолами, линкозамидами, макролидами необходим учёт антибиотикограммы штаммов.

4. Для применения антибиотиков в режиме комбинированной терапии в случае определения высокой чувствительности и тяжести состояния могут быть рекомендованы гликопептиды (ванкомицин) в комбинации с цефалоспорином III (цефтазидим) и IV поколения (цефепим), макролиды (кларитромицин, азитромицин) в комбинации с аминогликозидами III поколения (амикацин), фторхинолоны III-IV поколения (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин). Карбапенемы могут назначаться в режиме монотерапии.

Выводы

1. При стоматологическом обследовании пациентов с ХОБЛ в возрасте от 34 до 78 лет у 95,2% диагностирован хронический генерализованный пародонтит средней и тяжёлой сте-

пени, причём в возрастной группе до 40 лет он выявлялся в 84% случаев, а после 40 лет – в 100%.

2. Выявление в составе микрофлоры нижних дыхательных путей представителей анаэробных пародонтопатогенных видов с определённым спектром устойчивости является основанием для коррекции схем антибактериальной терапии с включением цефалоспоринов III–IV поколения (цефтриаксон, цефепим) и современных фторхинолонов (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин).

Литература

1. Митрохин, С. Д. Рациональная антимикробная фармакотерапия вторичных инфекций у больных туберкулезом легких / С. Д. Митрохин, Л. В. Ивушкина, А. Ю. Миронов // Антибиотики и химиотерапия. – 2006. – Т. 51, № 1. – С. 16–20.
2. Ольхин, В. А. Применение антибиотиков в пульмонологии и кардиологии / В. А. Ольхин, В. Н. Царёв, Е. В. Ипполитов // Руководство для врачей (УМО МЗ РФ). – М.: 2010. – 84с.
3. Фурсова, Н. К. Лекарственная устойчивость микроорганизмов / Н. К. Фурсова // Учебное пособие. – 2012. – 248с.
4. Царёв, В. Н. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика / В. Н. Царёв. – М.: Бином, 2013. – С. 439–454.
5. Царёв, В. Н. Применение пероральных цефалоспоринов при амбулаторных хирургических операциях в челюстнолицевой области на основании ПЦР-диагностики / В. Н. Царёв [и др.] // Стоматология. – 2014. – Т. 93, № 5. – С. 43–48.
6. Чучалин, А. Г. Диагностика и лечение пневмоний с позиций медицины доказательств / А. Г. Чучалин, А. Н. Цой, В. В. Архипов // Consilium medicum. – 2002. – Т. 4, № 12. – С. 620–644.
7. Ющук, Н. Д. Антибиотики и противоионфекционный иммунитет / Н. Д. Ющук, И. П. Балмасова, В. Н. Царёв. – М.: Практическая медицина. – 2012. – 232 с.
8. Anthonisen, N. R. Antibiotic therapy in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease / N. R. Anthonisen, J. Manfreda, C. P. Warren // Ann. Intern. Med. – 1987. – Vol. 106, № 2. – P. 196–204.
9. Ferrari, R. Three-year follow-up of Interleukin 6 and C-reactive protein in Chronic obstructive pulmonary diseases / R. Ferrari // J. Respiratory Research. – 2013. – Vol. 14, № 24. – P. 3–7.
10. Tsarev, V. Susceptibility of oral anaerobic bacteria to fluoroquinolones of various generations and molecular characterization of resistant strains / V. Tsarev, V. Chuvilkina, E. Ippolitov // Int. J. of Infection Diseases. – 2008. – Vol. 12, № 1. – P. 309–310.