

Активность тобрамицина в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у пациентов с муковисцидозом

А.В. Горяинова¹, С.В. Поликарпова², С.Ю. Семькин¹, Н.Ю. Каширская³, П.И. Михалаки¹

¹ Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Москва

² ГБУЗ «Городская клиническая больница имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы»; Россия, г. Москва

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; Россия, г. Москва

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: определить *in vitro* активность тобрамицина в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у детей с муковисцидозом (МВ), ретроспективно изучить динамику эффективности ингаляционного тобрамицина при лечении обострения бронхолегочного процесса у детей с МВ за 9 лет (2009–2018).

Дизайн: ретроспективный анализ.

Материалы и методы. В исследование включены 173 ребенка с МВ в возрасте от 3 до 17 лет, медиана возраста в общей группе составила 11 [8; 15] лет. Участников разделили на группы сравнения, исходя из различных схем 14-дневной комбинированной антипсевдомонадной терапии: 42 ребенка получали цефепим 150 мг/кг + амикацин 20 мг/кг внутривенно (в/в) капельно; 48 участников — меропенем 100 мг/кг + амикацин 20 мг/кг в/в капельно; 83 пациента — цефтазидим 200 мг/кг в/в + тобрамицин (Брамитоб) 300 мг 2 раза в сутки ингаляции + ципрофлоксацин *per os* 30–40 мг/кг.

Результаты. После двухнедельного курса терапии 83 детей путем ингаляций тобрамицина в сочетании с пероральным приемом ципрофлоксацина и в/в введением цефтазидима из 150 штаммов патогенной флоры 123 (82%) штамма *P. aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* были элиминированы ($p < 0,001$ при сравнении с результатами бактериологического исследования бронхиального секрета перед началом терапии). В группах сравнения эффект был статистически значимо слабее: в группе цефепима и амикацина из 73 патогенных штаммов в контрольных образцах мокроты *P. aeruginosa* и *S. aureus* удалось добиться элиминации 32 (43,8%), а в группе меропенема и амикацина из 79 штаммов микробных патогенов только 28 (35,4%) удалось элиминировать.

У 50 оставшихся под наблюдением детей при поступлении в 2013 г. проведена противомикробная терапия с использованием ингаляционного тобрамицина по той же схеме, что и в 2009 г., и эффект элиминации *P. aeruginosa* был идентичным: из 61 штамма только 11 (18%) колоний патогенов сохраняли жизнеспособность, а 50 (82%) штаммов оказались элиминированными в образцах контрольной мокроты. Разница между количеством колоний синегнойной палочки и золотистого стафилококка до и после лечения оказалась статистически значимой ($p < 0,001$). Практически такой же эффект антимикробной терапии с ингаляционным тобрамицином отмечался и в 2018 г.: у 14 (70%) из 20 детей со штаммами *P. aeruginosa* наблюдалась санация мокроты в контроле ($p < 0,001$).

Заключение. Ингаляционный тобрамицин, несмотря на более чем 20-летний мировой опыт применения у пациентов с МВ, сохраняет клиническую эффективность и активность в отношении изолятов *P. aeruginosa* в схемах первичной эрадикации и лечения хронической синегнойной инфекции легких.

Ключевые слова: муковисцидоз, *Pseudomonas aeruginosa*, ингаляционный тобрамицин.

Вклад авторов: Горяинова А.В. — написание текста статьи, подбор литературы; Семькин С.Ю. — проведение исследования, подсчет данных статистики; Поликарпова С.В. — написание и редактирование материалов по микробиологии; Каширская Н.Ю. — общая редакция статьи, утверждение рукописи в печать; Михалаки П.И. — работа над диаграммами.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Горяинова А.В., Поликарпова С.В., Семькин С.Ю., Каширская Н.Ю., Михалаки П.И. Активность тобрамицина в отношении штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у пациентов с муковисцидозом. Доктор.Ру. 2021; 20(3): 17–23. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-3-17-23

Tobramycin Activity for *Pseudomonas Aeruginosa* spp. Isolated in Cystic Fibrosis Patients

A.V. Goryainova¹, S.V. Polikarpova², S.Yu. Semykin¹, N.Yu. Kashirskaya³, P.I. Mikhailaki¹

¹ Russian Children Clinical Hospital at N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Public Health of the Russian Federation; 117 Leningradsky Prosp., Moscow, Russian Federation 119571

² O.M. Filatov Municipal Clinical Hospital at Moscow Healthcare Department; 23 Veshnyakovskaya Str., Moscow, Russian Federation 111539

³ N.P. Bochkov Medical Genetics Scientific Centre; 1 Moskorechiye, Moscow, Russian Federation 15522

ABSTRACT

Study Objective: To determine *in vitro* activity of Tobramycin for *Pseudomonas aeruginosa* spp. isolated in children with cystic fibrosis (CF); to retrospectively study the efficiency dynamics of inhalative Tobramycin in management of bronchopulmonary process exacerbation in children with CF aged 9 years old (2009–2018).

Горяинова Анастасия Васильевна (**автор для переписки**) — к. м. н., врач-педиатр, гастроэнтеролог ОСП Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 119571, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 117. E-mail: dr.goryainova@gmail.com (Окончание на с. 18.)



Study Design: retrospective analysis.

Materials and Methods. The study included 173 children with cystic fibrosis aged 3 to 17 years old; the median age in the general group was 11 [8; 15] years. Subjects were divided into two comparison groups, depending on various 14-day combined antipseudomonal therapy: 42 children were treated with Cefepime 150 mg/kg + Amikacin 20 mg/kg IV drop infusion; 48 subjects — with Meropenem 100 mg/kg + Amikacin 20 mg/kg IV drop infusion; 83 patients — with Ceftazidime 200 mg/kg IV + Tobramycin (Bramitob) 300 mg twice daily, inhalation + Ciprofloxacin *per os* 30–40 mg/kg.

Study Results. After the two-week therapy of 83 children with Tobramycin inhalations plus oral Ciprofloxacin and Ceftazidime IV, 123 (82%) out of 150 pathogenic *P. aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* spp. were eliminated ($p < 0.001$ when compared to bacteriologic test results of pre-therapy bronchial mucus). Comparison groups demonstrated statistically significantly lower number of such subjects: in Cefepime + Amikacin group, 32 (43.8%) out of 73 pathogenic *P. aeruginosa* and *S. aureus* spp. were eliminated; whereas in Meropenem + Amikacin group, only 28 (35.4%) pathogens were eliminated out of 79 species.

Upon admission in 2013, 50 followed up children underwent antimicrobial therapy with inhalative Tobramycin using the same regimen as in 2009; the *P. aeruginosa* elimination was the same: 11 (18%) out of 61 pathogenic species remained viable, 50 (82%) species were eliminated, as demonstrated by control sputum. The difference between the number of *P. aeruginosa* and *S. aureus* colonies before and after therapy was statistically significant ($p < 0.001$). Practically the same result after the use of inhalative Tobramycin was observed in 2018: 14 (70%) out of 20 children with *P. aeruginosa* spp. had their control sputum samples sanitised ($p < 0.001$).

Conclusion. Despite a 20-year history of using in patients with cystic fibrosis, inhalative Tobramycin is still clinically efficient and potent for isolated *P. aeruginosa* as a component of primary eradication and management of chronic Pseudomonal lung infections.

Keywords: cystic fibrosis, *Pseudomonas aeruginosa*, inhalative Tobramycin.

Contributions: Goryainova, A.V. — text of the article; selection of references; Semykin, S.Yu. — study conduction; statistical data; Polikarpova, S.V. — preparation and editing of microbiology information; Kashirskaya, N.Yu. — overall article editing; approval of the manuscript for publication; Mikhailaki, P.I. — diagrams.

Conflict of interest: The authors declare that they do not have any conflict of interests.

For citation: Goryainova A.V., Polikarpova S.V., Semykin S.Yu., Kashirskaya N.Yu., Mikhailaki P.I. Tobramycin Activity for *Pseudomonas Aeruginosa* spp. Isolated in Cystic Fibrosis Patients. Doctor.Ru. 2021; 20(3): 17–23. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-3-17-23

ВВЕДЕНИЕ

Муковисцидоз (МВ) — одно из наиболее часто встречающихся и изученных моногенных наследственных заболеваний, обусловленное мутациями в гене *CFTR* (трансмембранного регулятора проводимости МВ) [1]. Дегидратация секрета в легких, вызванная генетическим дефектом, приводит к обструкции дыхательных путей, присоединению бактериальной инфекции и развитию хронического воспалительного процесса. Прогрессирующее поражение бронхолегочной системы при МВ остается основной причиной смерти [2]. Ранняя диагностика и терапия, направленная на предотвращение колонизации и хронического инфицирования респираторного тракта патогенными микроорганизмами, является одним из условий благоприятного прогноза заболевания [3–5].

Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ), обладающие природной устойчивостью ко многим антибактериальным препаратам, выраженной резистентностью к дезинфицирующим средствам и широко распространенные в различных медицинских организациях, включая больничные стационары, занимают важное место среди возбудителей хронической легочной инфекции у больных МВ [6]. К НГОБ, вызывающим инфекции у человека, принадлежат несколько видов возбудителей, включая *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter* spp., *Chryseobacterium* spp.

При инфекциях нижних дыхательных путей у больных МВ наибольшее значение имеют *P. aeruginosa* и *B. cepacia* complex, определяющие во многих случаях неблагоприятный прогноз заболевания.

К факторам, затрудняющим уничтожение микроорганизмов в респираторном тракте больных МВ на фоне антибактериальной терапии (АБТ), относятся наличие у бактерий мукоидных фенотипов, их антибиотикорезистентность, возможность формировать биофильм, затрудняющий проникновение антибактериальных препаратов. Хронизация процесса чаще всего характеризуется трансформацией плоских колоний *P. aeruginosa* в мукоидные, нарушающие нормальные фагоцитарные функции, а также содействующие образованию биопленок [7–9].

Согласно данным национальных регистров и Европейского регистра за 2017 год, распространенность *P. aeruginosa* среди детей, больных МВ, вариабельна: от 6,75% ($n = 286$) во Франции до 21,6% ($n = 46$) в Израиле и 25,76% ($n = 612$) в России. По сведениям Регистра США за 2018 год, общая частота взрослых и детей с МВ, инфицированных синегнойной палочкой, — 40% ($n = 12\,310$ пациентов из 30 775 больных в США) [10, 11].

Разделение колонизации *P. aeruginosa* при МВ на интермиттирующую (высев *P. aeruginosa* хотя бы 1 раз при нормальном уровне преципитирующих антител) и хроническую инфекцию (повторяющийся высев *P. aeruginosa* в течение 6 и более месяцев подряд или менее полугода, но при наличии преципитирующих антител против *P. aeruginosa*) лежит в основе определения тактики АБТ при синегнойной инфекции.

При первичной колонизации *P. aeruginosa* возможность санации мокроты больных МВ значительно выше. Выделяемые при этом штаммы обычно имеют немуюкоидный фенотип, а количество мокроты невелико. В исследовании

Поликарпова Светлана Вениаминовна — к. м. н., заведующая бактериологической лабораторией ГБУЗ «ГКБ им. О.М. Филатова ДЗМ». 111539, Россия, г. Москва, ул. Вешняковская, д. 23. E-mail: spolikarpova@mail.ru

Семькин Сергей Юрьевич — к. м. н., заведующий педиатрическим отделением ОСП Российской детской клинической больницы ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 119571, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 117. E-mail: dr.semykin@mail.ru

Каширская Наталья Юрьевна — д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии ФГБНУ «МГНЦ им. акад. Н.П. Бочкова». 15522, Россия, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1. E-mail: kashirskayanj@mail.ru

Михалки Павел Иванович — врач-педиатр педиатрического отделения ОСП Российской детской клинической больницы ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. 119571, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 117. E-mail: pavelmihalaki@live.ru

(Окончание. Начало см. на с. 17.)

по применению ингаляций колистина в комбинации с приемом ципрофлоксацина при первых высевах *P. aeruginosa* выявлены значительно более частая санация мокроты и снижение частоты развития хронической синегнойной инфекции, чем у больных МВ, не получавших лечение [12].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании показано, что ингаляции тобрамицина при первом высеве *P. aeruginosa* эффективны для предупреждения хронической синегнойной инфекции [12].

В последующих многолетних исследованиях продемонстрировано, что активная АБТ позволяет предупредить или отсрочить формирование хронической инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, более чем у 80% больных МВ [3, 13–15].

Если эрадикация *P. aeruginosa* после курса АБТ не произошла и у больного развилась хроническая синегнойная инфекция, назначение ингаляционной противосинегнойной терапии позволяет уменьшить риск обострений бронхолегочного процесса, степень выраженности респираторных проявлений и улучшить показатели ФВД.

Ранее считалось, что санация бронхиального секрета от мукоидных форм *P. aeruginosa* при хронической синегнойной инфекции практически невозможна. Это обусловлено рядом факторов, прежде всего невозможностью достижения бактерицидных концентраций в условиях биофильма, содержащего вязкий алгинат. На фоне АБТ при хронической инфекции *P. aeruginosa* возможно лишь уменьшение степени обсемененности возбудителем бронхиального секрета. Однако в некоторых публикациях это положение опровергается [16, 17].

При хронической синегнойной инфекции вне обострения бронхолегочного процесса рекомендуется ингаляционная АБТ с использованием ингаляционных аминогликозидов и/или полимиксинов (уровень доказательности А) [18–21].

При ингаляционном пути доставки антибактериальный препарат попадает непосредственно в просвет бронхов. При этом в бронхиальном секрете создаются высокие концентрации лекарственного средства непосредственно в очаге инфекции (от 100 до 200 мкг/мл) при низком его уровне в сыворотке крови, что дает дополнительные возможности для преодоления антибиотикорезистентности, часто наблюдаемой при МВ. При аэрозольном введении концентрации действующих веществ многократно превышают те, которых можно достичь при парентеральном способе вве-

дения. В связи с этим традиционные значения чувствительности *P. aeruginosa* к тобрамицину, которые установлены для парентерального и/или перорального введения, не подходят для оценки чувствительности *P. aeruginosa* при ингаляционном применении препарата [22, 23].

При получении высоких концентраций тобрамицина (T_{max} /минимальная подавляющая концентрация (МПК) = 8–12) в бронхиальном секрете возможно воздействие на формально устойчивые к АБТ штаммы *P. aeruginosa*. В 2005 году Испанским советом по стандартизации чувствительности и резистентности к антибиотикам (Mesa Espanola de Normalizacion de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos) были рекомендованы более высокие точки отсечения для ингаляционных форм тобрамицина при определении чувствительности *P. aeruginosa*: для чувствительных штаммов МПК < 64 мг/л; для устойчивых штаммов МПК > 128 мг/л. В то же время для парентерального введения приняты следующие значения МПК: для чувствительных штаммов ≤ 4 мг/л; для устойчивых штаммов > 4 мг/л [24].

Применение критериев, установленных для определения чувствительности к ингаляционной форме, поможет более точно интерпретировать показатели чувствительности *P. aeruginosa* при ингаляционном пути введения тобрамицина [24].

Цель исследования: определить *in vitro* активность тобрамицина в отношении штаммов *P. aeruginosa*, выделенных у детей с МВ, ретроспективно изучить динамику эффективности ингаляционного тобрамицина при лечении обострения бронхолегочного процесса у детей с МВ за 9 лет (2009–2018).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты бактериологического исследования бронхиального секрета и применения схемы АБТ детей с диагнозом МВ, наблюдавшихся в педиатрическом отделении Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2009 по 2018 г. В исследование включены 173 ребенка в возрасте от 3 до 17 лет, медиана возраста в общей группе составила 11 [8; 15] лет (Me [Q1; Q3]). Медиана ИМТ в исследуемой когорте — 16 [14; 17] кг/м². Тяжесть течения МВ оценивалась по параметру ОФВ₁ в процентах от должного (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Характеристика обследованных детей
Characteristics of children

Параметры / Parameter	Группа цефепима и амикацина / Cefepime + Amikacin group	Группа меропенема и амикацина / Meropenem + Amikacin group	Группа тобрамицина / Tobramycin group
Число детей / No. of children : • мальчики / boys • девочки / girls	42 14 28	48 25 23	83 26 57
Возраст, годы / Age, years (Me [Q1; Q3])	13 [10; 15]	12 [7; 14]	13 [11; 16]
Легкие нарушения вентиляционной функции легких (ОФВ ₁ ≥ 70%) / Slightly impaired lung ventilation (forced expiratory volume ₁ ≥ 70%)	16	27	33
Умеренные, средне-тяжелые и тяжелые нарушения вентиляционной функции легких (ОФВ ₁ < 70% от должного) / Moderate, severe and extremely severe lung ventilation impairment (forced expiratory volume ₁ < 70% of normal value)	26	21	50

У всех детей, включенных в исследование, отмечался хронический высеv *P. aeruginosa* из респираторного тракта (плоские и мукоидные штаммы как в монокультуре, так и в ассоциации с другими патогенами дыхательных путей) (табл. 2). Все дети госпитализировались с симптомами обострения бронхолегочного процесса.

Участников разделили на группы сравнения, исходя из различных схем 14-дневной комбинированной антипсевдомонадной терапии: 42 ребенка получали цефепим 150 мг/кг + амикацин 20 мг/кг в/в капельно; 48 участников — меропенем 100 мг/кг + амикацин 20 мг/кг в/в капельно; 83 пациента — цефтазидим 200 мг/кг в/в капельно + тобрамицин (Брамитоб) 300 мг 2 раза в сутки ингаляции + ципрофлоксацин *per os* 30–40 мг/кг.

Идентификацию микроорганизмов проводили культуральным методом с применением рутинных методик. МПК тобрамицина определяли с использованием градиентного метода (high range) E-test (BioMerieux, Франция), а также методом последовательных разведений как в варианте пограничных концентраций, так и в варианте серийных разведений на микробиологическом анализаторе BD Phoenix (США).

Мы провели исследование, в котором симитировали данные, полученные при клинических испытаниях ингаляционных тобрамицинов [24], когда была достигнута концентрация препарата в мокроте от 800 мкг/г мокроты при использовании тобрамицина в дозе 300 мг/5 мл до 1289 мкг/г мокроты при дозе 300 мг/4 мл.

В питательную среду для культивирования *P. aeruginosa* был добавлен тобрамицин в концентрациях 16–32 мкг/г, 800 мкг/г и более 1200 мкг/г. На данные среды проводился посев штаммов *P. aeruginosa*, которые при рутинном бактериологическом исследовании демонстрировали устойчивость *in vitro* с МПК > 16 мкг/мл. Оценка результата проводилась по способности указанных штаммов осуществлять рост на питательной среде с возрастающей концентрацией тобрамицина [25].

Чувствительность к антибактериальным препаратам оценивали в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (2004), с 2015 г. — согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (2018).

Таблица 2 / Table 2

Структура микробиологического пейзажа респираторного тракта обследованных детей
Microbiological pattern of respiratory channel of children

Микроорганизмы / Microorganism	Количество пациентов / No. of patients, n (%)
<i>Монокультуры / Pure cultures</i>	
<i>P. aeruginosa</i>	29 (34,9)
<i>Микробные ассоциации / Microbial clusters</i>	
<i>P. aeruginosa</i> + <i>P. aeruginosa muc.</i>	43 (51,8)
<i>P. aeruginosa</i> + <i>P. aeruginosa muc.</i> + метициллин-чувствительный <i>Staphylococcus aureus</i> / <i>P. aeruginosa</i> + <i>P. aeruginosa muc.</i> + methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i>	11 (13,3)

При анализе количественных признаков выполнялась проверка характера их распределения с помощью критерия Колмогорова — Смирнова. При отличии распределения количественного признака от нормального он характеризовался при помощи медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). Так как производилось сравнение связанных совокупностей (анализ «до — после») количественных переменных, измеренных по порядковой шкале, а распределение признаков было отлично от нормального, то применялся двухфакторный доленой дисперсионный анализ при аппроксимации на нормальность. При попарном сравнении полученных результатов для трех выборок в случае $p < 0,05$ использовался критерий Тьюки.

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью пакета прикладных программ SPSS v.22. Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные нами результаты демонстрируют бóльшую эффективность комбинации ингаляционного тобрамицина 300 мг (в ампуле, 75 мг/мл) с пероральным фторхинолоном, чем у внутривенных аминогликозидов в комбинации с цефалоспоридами, карбапенемами. На рисунках 1 и 2 показано, что после двухнедельного курса терапии 83 детей путем ингаляций тобрамицина в сочетании с пероральным приемом ципрофлоксацина и в/в введением цефтазидима из 150 штаммов патогенной флоры 123 (82%) штамма *P. aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* были элиминированы ($p < 0,001$ при сравнении с результатами бактериологического исследования бронхиального секрета перед началом терапии). В группах сравнения эффект был статистически значимо слабее: в группе цефепима и амикацина из 73 патогенных штаммов в контрольных образцах мокроты *P. aeruginosa* и *S. aureus* удалось добиться элиминации 32 (43,8%), а в группе меропенема и амикацина из 79 штаммов микробных патогенов только 28 (35,4%) удалось элиминировать.

Рис. 1. Микробный пейзаж респираторного тракта у обследованных детей до лечения (число штаммов)

Fig. 1. Microbial pattern of respiratory channel of children before therapy (No. of species)

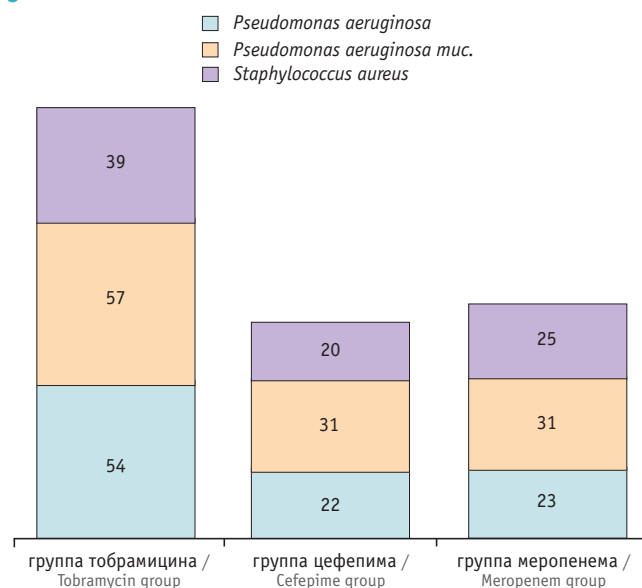
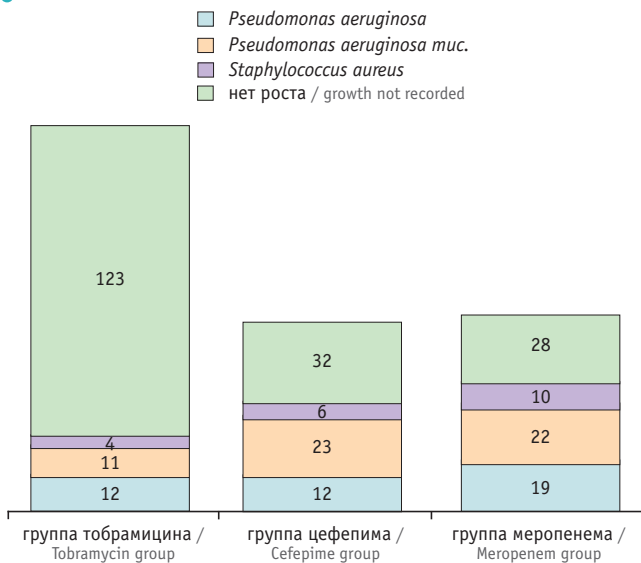


Рис. 2. Микробный пейзаж респираторного тракта у обследованных детей после лечения (число штаммов)

Fig. 2. Microbial pattern of respiratory channel of children after therapy (No. of species)



В 2013 г., через 4 года после начала наблюдения, из 83 детей с МВ, вошедших в группу ингаляционного тобрамицина, 33 ребенка были переведены во взрослую сеть по причине достижения совершеннолетия. У 50 оставшихся под наблюдением в педиатрическом отделении Российской детской клинической больницы детей при поступлении в 2013 г. проведена противомикробная терапия по той же антисинегнойной схеме, что и в 2009 г.: цефтазидим 200 мг/кг/сутки в/в капельно, ципрофлоксацин 30-40 мг/кг/*per os* и тобрамицин в ингаляциях 300 мг 2 раза в сутки 14 дней. Интересно, что эффект элиминации *P. aeruginosa* и *S. aureus* был идентичным: из 61 штамма у 50 детей только 11 (18%) колоний патогенов сохраняли жизнеспособность, а 50 (82%) штаммов оказались элиминированными в образцах контрольной мокроты. Разница между количеством колоний синегнойной палочки и золотистого стафилококка до и после лечения была статистически значимой ($p < 0,001$).

Практически такой же эффект антипсевдомонадной терапии с ингаляционным тобрамицином отмечался и в 2018 г.: из 83 детей в педиатрической сети остались 20 пациентов, которым вновь была назначена вышеописанная схема лечения на 2 недели. У 14 (70%) из 20 детей со штаммами *P. aeruginosa* наблюдалась санация мокроты в контроле ($p < 0,001$).

Данные по эффективности схем АБТ с включением тобрамицина в ингаляциях представлены на рисунках 3 и 4.

При проведении клинических исследований ингаляционных тобрамицинов отмечено, что концентрация антибиотика в бронхиальном секрете достигает от 800 до 1200 мкг/мл, что гораздо выше МПК, определяемой в сыворотке крови больных МВ. Мы провели отдельное исследование, в которое включили 62 больных МВ с резистентностью *in vitro* (МПК ≥ 16 мг/л) синегнойной палочки к тобрамицину. Больные были разделены на три группы по возрастанию концентрации тобрамицина в питательной среде (32 мкг/г; 800 мкг/г и 1200 мкг/г).

При точке отсечения 32 мкг/г 30 плоских и 15 мукоидных штаммов синегнойной палочки не демонстрировали рост

на питательной среде с тобрамицином. При концентрации тобрамицина 800 мкг/г 7 плоских и 4 мукоидных штамма также не дали роста. При МПК > 1200 мкг/г только 4 плоских и 2 мукоидных штамма *P. aeruginosa* дали рост на среде с тобрамицином, что позволило отнести их к истинно резистентным к ингаляционному тобрамицину. Штаммы, сохраняющие чувствительность при МПК 32 мг/л и до 800 мг/л, клинически «отвечают» на терапию ингаляционными аминогликозидами, в частности тобрамицином, не высеваются после завершения курса комбинированной АБТ с включением тобрамицина.

Полученный нами результат свидетельствует о том, что резистентность *P. aeruginosa* к тобрамицину *in vitro* не может

Рис. 3. Микробиологический пейзаж образцов мокроты 50 детей до и после комплексной антибактериальной терапии с включением тобрамицина в ингаляциях, 2013 год (число штаммов)

Fig. 3. Microbiological pattern of sputum samples from 50 children before and after complex antibacterial therapy with inhalative Tobramycin, 2013 (No. of species)

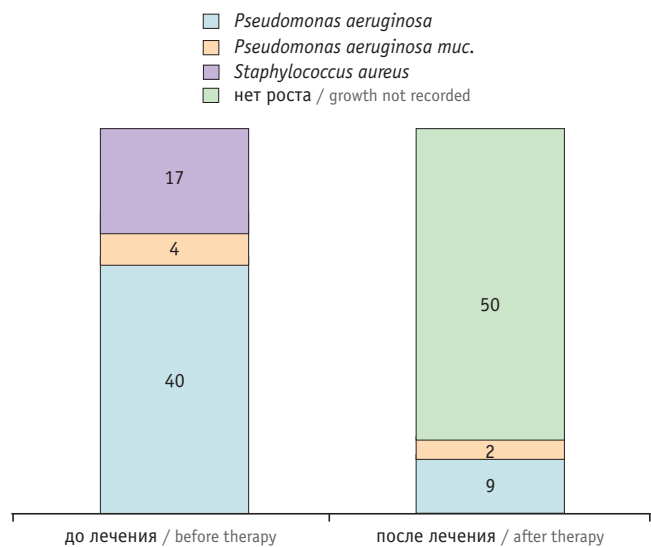
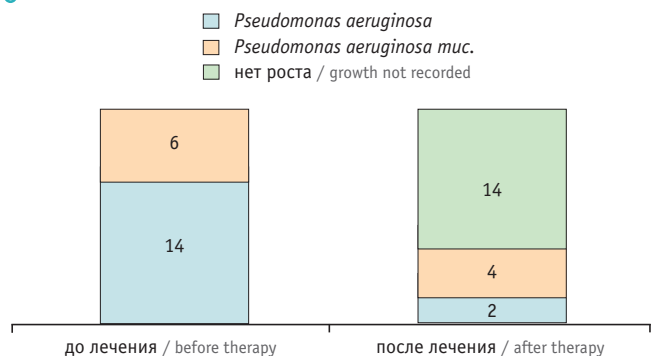


Рис. 4. Микробиологический пейзаж образцов мокроты до и после комплексной антибактериальной терапии с включением тобрамицина в ингаляциях, 2018 год (число штаммов)

Fig. 4. Microbiological pattern of sputum samples from 50 children before and after complex antibacterial therapy with inhalative Tobramycin, 2018 (No. of species)



являться основанием для отказа от его использования при борьбе с хронической синегнойной инфекцией или для прекращения такой терапии при наличии выраженного клинического эффекта от лечения.

На рисунке 5 приведены данные по чувствительности 110 штаммов *P. aeruginosa* к ингаляционному тобрамицину и минимальному проценту резистентности патогена. После 2-недельного курса антипсевдомонадной терапии с включением тобрамицина в ингаляциях 2 из 10 резистентных плоских штаммов и 2 из 4 мукоидных сохранили резистентность *in vitro* и *in vivo*, при этом 42 плоских и 46 мукоидных штаммов оказались чувствительными и не высевались при контрольном исследовании бронхиального секрета по окончании курса антимикробной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

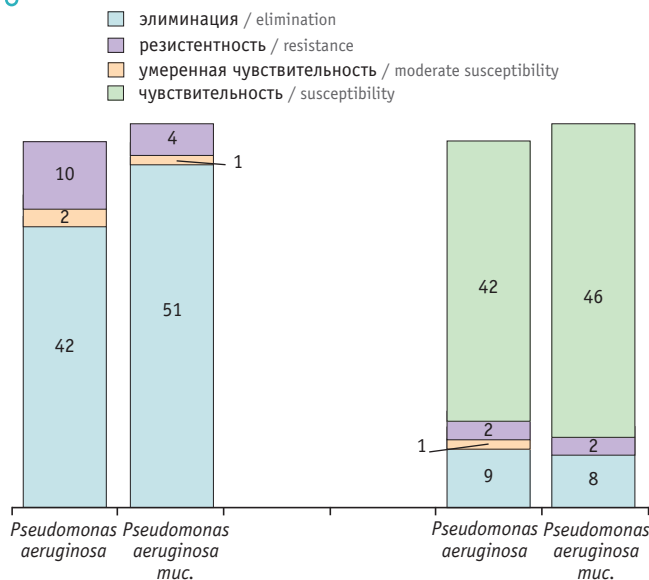
В статье представлен опыт 9-летнего успешного применения ингаляционного аминогликозида тобрамицина в схемах комбинированной противомикробной терапии (в сочетании с внутривенными и пероральными формами лекарственных средств, направленных на борьбу с инфекцией респираторного тракта, ассоциированной с *P. aeruginosa*). Продемонстрировано отсутствие роста синегнойной палочки в подавляющем числе случаев в контрольных образцах мокроты после 14-дневной терапии, проведенной у детей с хронической *P. aeruginosa*-инфекцией дыхательных путей в 2009, 2013 и 2018 г.

Критерии «чувствительный», «умеренно чувствительный», «резистентный», основанные на сывороточной концентрации антимикробных препаратов, при борьбе с хронической синегнойной инфекцией теряют свою значимость, так как концентрация антибактериального препарата в бронхиальном секрете при ингаляционном пути введения многократно превышает ту, которой можно достичь при парентеральном введении. Это значит, что показанием для применения ингаляционного тобрамицина является не только наличие *in vitro*-чувствительных штаммов *P. aeruginosa*. Следует признать ошибочной практику отмены ингаляционного антибиотика или отказа от его назначения при получении результата МПК > 16 мг/л. Эффективность антимикробной терапии следует оценивать клинически — по динамике обратного развития симптомов обострения бронхолегочного процесса — и бактериологически — по окончании курса лечения.

Оценку чувствительности микроорганизмов, выделенных у пациентов с МВ, к антибактериальным препаратам и интерпретацию результатов нужно проводить в соответствии

Рис. 5. Чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* (n = 110) к ингаляционному тобрамицину в 2009 году до и после лечения (курс терапии — 14 дней)

Fig. 5. *Pseudomonas aeruginosa* (n = 110) susceptibility to inhalative Tobramycin in 2009 before and after therapy (duration: 14 days)



с актуальной версией рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам [27]. У устойчивых к тобрамицину штаммов *P. aeruginosa* рекомендуется вычислять значение МПК. Полученные показатели МПК необходимо интерпретировать, применяя более высокие точки отсечения для ингаляционного тобрамицина при определении клинической чувствительности/устойчивости *P. aeruginosa*. Штаммы с МПК ≤ 64 мг/л следует относить к чувствительным для ингаляционного применения, с МПК ≥ 128 мг/л — к устойчивым.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ


Ингаляционный тобрамицин, несмотря на более чем 20-летний мировой опыт применения у пациентов с муковисцидозом, сохраняет клиническую эффективность и активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa* в схемах первичной эрадикации и лечения хронической синегнойной инфекции легких.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Welsh M.J., Smith A.E. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell*. 1993; 73(7): 1251–4. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90353-r
- Flume P.A., Mogayzel P.J. Jr, Robinson K.A. et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: treatment of pulmonary exacerbations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2009; 180(9): 802–8. DOI: 10.1164/rccm.200812-1845PP
- Saiman L., Siegel J.; Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference on Infection Control Participants. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Am. J. Infect. Control*. 2003; 31(3 suppl.): S1–62.
- Saiman L., Siegel J.D., LiPuma J.J. et al. Infection prevention and control guideline for cystic fibrosis: 2013 update. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 2014; 35(suppl.1): S1–67. DOI: 10.1086/676882
- Lee T.W., Brownlee K.G., Conway S.P. et al. Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic

fibrosis patients. *J. Cyst. Fibros*. 2003; 2(1): 29–34. DOI: 10.1016/S1569-1993(02)00141-8

- Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2005; 7(3): 271–85. [Schagenyan I.A., Tchernukha M.Yu. Infections caused by nonfermenting gram-negative rods: epidemiological, microbiological and clinical features. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2005; 7(3): 271–85. (in Russian)]
- Kiska D.L., Gilligan P.H. *Pseudomonas*. In: Murray P.R., Baron E.J., Tenover J.C., Tenover F.C., eds. *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press; 2003: 719–28.
- Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C. et al., eds. *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press; 2015. 774 p.
- Mogayzel P.J. Jr, Naureckas E.T., Robinson K.A. et al. Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Clinical Practice Guidelines Committee.

- Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. Pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2014; 11(10): 1640–50. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201404-1660C
10. Zolin A., Orenti A., Naehrlich L. et al. ECFS Patient Registry. Annual report. 2017 data. version 1.2019. URL: https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-images/working-groups/ecfs-patient-registry/ECFSPR_Report2017_v1.3.pdf (дата обращения — 15.03.2021).
 11. Marshall B., Faro A., Elbert A. et al. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report 2018. URL: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2018-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf> (дата обращения — 15.03.2021).
 12. Wiesemann H.G., Steinkamp G., Ratjen F. et al. Placebo-controlled, double-blind, randomized study of aerosolized tobramycin for early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in patients with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 1998; 25(2): 88–92. DOI: 10.1002/(sici)1099-0496(199802)25:2<88::aid-ppul3>3.0.co;2-j
 13. Alexander S., Alshafi K., Anderson A.-K. et al. Clinical guidelines: care of children with cystic fibrosis. Royal Brompton Hospital 2017. URL: <https://www.rbht.nhs.uk/sites/nhs/files/Cystic%20fibrosis%20guidelines/CF%20guideline%202017%20FINAL%20-%2013%201%202017.pdf> (дата обращения — 15.03.2021).
 14. Cystic Fibrosis Foundation. Clinical practice guidelines for cystic fibrosis. 2016. URL: <https://www.cff.org/Care/Clinical-Care-Guidelines> (дата обращения — 15.03.2021).
 15. Fothergill J.L., Walshaw M.J., Winstanley C. Transmissible strains of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infections. *Eur. Respir. J.* 2012; 40(1): 227–38. DOI: 10.1183/09031936.00204411
 16. McPherson H., Rosenfeld M., Bush A. Can mucoid *Pseudomonas aeruginosa* be eradicated in children with cystic fibrosis? *Pediatr. Pulmonol.* 2010; 45(6): 566–8. DOI: 10.1002/ppul.21220
 17. Troxler R.B., Hoover W.C., Britton L.J. et al. Clearance of initial mucoid *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2012; 47(11): 1113–22. DOI: 10.1002/ppul.22543
 18. Ratjen F., Moeller A., McKinney M.L. et al. Eradication of early *P. aeruginosa* infection in children < 7 years of age with cystic fibrosis: the early study. *J. Cyst. Fibros.* 2019; 18(1): 78–85. DOI: 10.1016/j.jcf.2018.04.002
 19. Langton Hewer S.C., Smyth A.R. Antibiotic strategies for eradicating *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 4(4): CD004197. DOI: 10.1002/14651858.CD004197.pub5
 20. Proesmans M., Vermeulen F., Boulanger L. et al. Comparison of two treatment regimens for eradication of *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12(1): 29–34. DOI: 10.1016/j.jcf.2012.06.001
 21. Каширская Н.Ю., Амелина Е.Л., Красовский С.А. Ранняя эрадикация синезнойной инфекции при муковисцидозе. *Пульмонология.* 2017; 27(1): 81–6. [Kashirskaya N.Yu., Amelina E.L., Krasovskiy S.A. Early eradication of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Pulmonologiya.* 2017; 27(1): 81–6. (in Russian)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-1-81-86
 22. Hodson M.E., Gallagher C.G., Govan J.R. A randomized clinical trial of nebulized tobramycin or colistin in cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2002; 20(3): 658–64. DOI: 10.1183/09031936.02.00248102
 23. Ramsey B.W., Pepe M.S., Quan J.M. et al. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340(1): 23–30. DOI: 10.1056/NEJM199901073400104
 24. Morosini M.I., Garcia-Castillo M., Loza E. et al. Breakpoints for predicting *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to tobramycin in cystic fibrosis patients: use of high-range Etest strips. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(9): 4480–5. DOI: 10.1128/JCM.43.9.4480-4485.2005
 25. Poli G., Acerbi D., Pennini R. et al. Clinical pharmacology study of Bramitob, a tobramycin solution for nebulization, in comparison with Tobi. *Pediatr. Drugs.* 2007; 9 (suppl.1): S3–9. DOI: 10.2165/00148581-200709001-00002 

Поступила / Received: 15.02.2021

Принята к публикации / Accepted: 19.03.2021