

## CAPITOLUL 11

# INFECȚIILE BRONHOPULMONARE LA BOLNAVII CU MUCOVISCIDOZĂ

---

## MUCOVISCIDOZA

Mucoviscidoza (MV) sau fibroza chistică este prima cauză de insuficiență respiratorie severă la copilul de rasă albă. În SUA și Europa de Nord, MV este cea mai frecventă boală ereditară cu transmitere autozomal recesivă. În aceste zone, incidența bolii este estimată la 0,3/1.000 nașteri, în timp ce la populațiile afro-americane și asiatiche incidența acestei afecțiuni este de numai 0,01/1000 nașteri<sup>15</sup>. În țările dezvoltate, în care există centre specializate pentru îngrijirea pacienților cu MV, speranța de viață a bolnavilor depășește în medie vârsta adultă.

MV este cea mai frecventă maladie genetică letală întâlnită în populația caucaziană.

## FIZIOPATOLOGIE

După identificarea în 1989 a genei care „codifică” MV, a apărut speranța descifrării fiziopatologiei acestei boli, precum și a descoperirii unor noi mijloace terapeutice.

Proteina CFTR (*cystic fibrosis transmembranar conductance regulator*), codată de gena CF de pe cromozomul 7, aparține familiei de transportoare membranare ATP-dependente, încă numite proteine ABC (*ATP Binding Cassette*). Ea este situată pe membrana citoplasmatică a celulelor epiteliale unde constituie un canal de clor cu funcții multiple, printre care și cea de reglare a activității altor canale ionice prezente la nivelul membranei apicale. El activează ORCC (*Outwardly Rectifying Chloride Channel*), care este un canal de clor dependent de calciu. Acesta inhibă ENaC (*Epithelial Na Channel*), care este un canal de sodiu sensibil la amilorid. Proteina CFTR participă astfel la menținerea echilibrului hidroelectrolitic al secrețiilor mucoase. Se pare că ea are însă și alte funcții: transportul activ al altor molecule decât clorul, intervine în inflamație, în secreția componentelor mucusului, în procesul de reciclare al membranelor celulare și în apărarea antiinfecțioasă<sup>16,17</sup>.

La pacienții cu MV, prezența mutațiilor la nivelul genei CF antrenează absența sau anomalia canalului CFTR, ceea ce alterează mișcarea ionilor de clor. Astfel, celula nu mai este capabilă să elibereze clorul, iar proteina CFTR defectuoasă nu mai inhibă acțiunea canalului de ENaC, ceea ce determină o absorbție exagerată a sodiului. Acesta atrage cu el prin canalele de clor și prin spațiile intracelulare o hiperabsorbție a apei, care va conduce la scăderea hidratării secrețiilor bronșice și la evacuarea dificilă a acestora. Staza secrețiilor favorizează proliferarea bacteriilor și instalarea

precoce a unei suprainfecții care devine rapid cronică. Căile respiratorii vor fi obstruate și deteriorate. Infecția și inflamația duc la distrugerea țesutului bronhopulmonar ajungând în final la insuficiență respiratorie și deces. Relațiile dintre anomaliile CTRF *in vivo* și procesul fiziopatologic care conduce la apariția semnelor clinice nu sunt încă în totalitate explicate. Una dintre teorii este aceea că o concentrație crescută a sodiului în secreții ar inactiva peptidele care asigură apărarea locală, favorizând infecțiile bronșice<sup>14</sup>. A doua teorie presupune că accelerarea absorbției  $\text{Na}^+$  și reducerea secreției  $\text{Cl}^-$  va determina scăderea conținutului în apă și sare al secrețiilor<sup>14</sup>. Reducerea concomitentă a volumului de secreții din căile respiratorii va antrena o afectarea a clearance-ului mucociliar. Creșterea aderenței bacteriilor la epiteliul respirator, în special după ce acesta a fost lezat de o primă infecție, pare a avea un rol în patogeniza suferinței pulmonare din MV. Răspunsul inflamator al gazdei la bolnavii cu MV nu pare a fi afectat, dar atunci când acesta este prea viguros, el va agrava leziunile căilor respiratorii<sup>14,15</sup>. Factorii chemotactici bacterieni și locali atrag celulele inflamatorii în lumenul căilor respiratorii. Unele enzime ale neutrofilelor (elastaza) pot contribui la alterarea pereților căilor aeriene<sup>14,15</sup>. Stimularea antigenică cronică exercitată de infecția persistentă de la nivelul căilor aeriene induce alterări ale peretelui, mediate imunologic.

Infecția bacteriană persistentă inițiază un lanț de evenimente, care conduce la distrucții ale căilor aeriene sau bronșiectazii. Stafilococul și piocianicul produc anumite substanțe implicate în distrucțiile căilor aeriene: lipopolizaharidul, exotoxina A, rhamnolipidul din peretele celular al piocianicului<sup>14</sup>.

La nivel pulmonar, glandele seromucoase ale epiteliului bronșic sunt hiperplazice și pline cu mucus. Vâscozitatea crescută a mucusului bronșic antrenează formarea de dopuri în bronșiole și bronhii. Suprainfecțiile agravează obstrucția bronșică și adaugă detritusuri celulare. În timp, bronhiile se destind și pierd musculatura netedă. Parenchimul pulmonar situat în aval este sediul unor zone de atelectazie sau emfizem, care în timp se fibrozează. Evoluția naturală este către un veritabil cerc vicios (obstrucție bronșică-suprainfecție), care în final va compromite capacitatea respiratorie.

Există și o serie de afectări extrarspiratorii, știind că ARN-ul mesager codificat este tradus în celulele epiteliale din tractul respirator, glandele sudoripare, pancreas, ficat, intestin subțire, acestea sunt de fapt țintele bolii. Obstrucția canalelor pancreatice duce la un deficit de secreție pancreatică exocrină, responsabil de maldigestie și de o fibroză progresivă a pancreasului, de unde și numele de fibroză chistică a pancreasului. Mucusul foarte dens poate favoriza apariția ocluziei neonatale (*ileus meconial*), încetinirea tranzitului și malabsorbție intestinală. Obstrucția căilor biliare poate determina litiază și poate favoriza apariția cirozei hepatice. Obstrucția canalelor deferente este responsabilă pentru azoospermie.

## ASPECTE GENETICE

Gena CF este o genă mare (250 Kilobase) situată pe cromozomul 7. Până în 2002 au fost identificate peste 1000 de mutații ale genei CF, dar una singură este întâlnită mai frecvent. Este vorba despre deleția  $\Delta\text{F508}$ , prezentă în stare homozigotă la peste 50% din pacienți. Această mutație constă în deleția unui aminoacid (fenilalanina) în

poziția 508, datorată unei mutații la nivelul celui de-al zecelea exon al genei. De aceea proteina va avea 1479 de aminoacizi în loc de 1480.

Din multitudinea de mutații doar 5 au o frecvență ce depășește 1%:  $\Delta F508$  (68%), G542X (2,4%), G551D (1,6%), N1303K (1,3%), W1282X (1,2%)<sup>16</sup>. Alte 19 mutații au o frecvență cuprinsă între 0,1-1%. Lista completă a mutațiilor este actualizată permanent de către GFAC (*Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium*), fiind disponibilă la adresa [www.genet.sickkids.on.ca](http://www.genet.sickkids.on.ca).

Frecvența mutației CFTR poate varia considerabil de la un grup etnic sau geografic la altul. De exemplu, frecvența mutației  $\Delta F508$  scade de la nord la sud. Ea este mai frecventă în Marea Britanie, Danemarca și Bretania (82,7%), în timp ce în Europa de Sud este identificată doar în 50% din cromozomi. Franța are o poziție intermediară (70%), cu variații regionale (60-80%).

Deși mutațiile pot atinge 27 de exoni ai genei ele sunt mai frecvente la exonii 4, 7, 10, 11, 19, 20 și 21. Marea diversitate alelică i-a făcut pe Welsh și Smith<sup>18</sup> să propună o clasificare a mutațiilor pe baza tipului de modificare pe care o provoacă la nivelul proteinei. Anumite mutații inhibă sinteza proteică, altele împiedică progresia spre membrana celulară, altele inhibă funcționarea canalului, iar ultimele permit doar unei mici cantități de CFTR să ajungă la membrană. Mutațiile au fost clasificate în 6 clase:

- Clasa 1 – mutații asociate cu deficit de sinteză;
- Clasa 2 – mutații asociate cu deficit de maturare;
- Clasa 3 – mutații asociate cu deficit de activare;
- Clasa 4 – mutații asociate cu deficit de conducere;
- Clasa 5 – mutații asociate cu sinteza unei cantități reduse de CFTR;
- Clasa 6 – mutații asociate cu deficit de reglare.

Această clasificare permite evaluarea severității unei mutații.

- Mutațiile din *clasele 1 și 2* sunt considerate „severe” și se traduc prin absența proteinei sau printr-o proteină incapabilă să atingă membrana. Ele au un răsunset sever asupra fenotipului MV și se asociază cu insuficiența pancreatică.

- Mutațiile din *clasa 3* determină un deficit de reglare a funcționalității canalului și conduc de asemenea la un fenotip sever de MV.

- Mutațiile din ultimele clase sunt considerate „blânde”. Ele generează un canal care nu rămâne deschis un timp suficient de lung. Fenotipul de MV este mai puțin sever. Ele nu generează insuficiență pancreatică și sunt asociate cu o colonizare bacteriană mai tardivă. Durata medie de viață a acestor pacienți este cu 10 ani mai mare decât a celor cu insuficiență pancreatică. Mutațiile puțin severe au un efect dominant asupra celor severe. În consecință un genotip considerat sever presupune două mutații severe, în timp ce unul moderat este compus fie din două mutații „blânde”, fie dintr-o mutație „blândă” și una severă.

- Cu toate acestea, corelațiile genotip/fenotip rămân dificil de stabilit.

## MANIFESTĂRILE CLINICE ȘI PARACLINICE

MV se caracterizează printr-un mare polimorfism clinic. Vârsta la care apar primele simptome este variabilă. Plămânul este în general normal la naștere, în timp ce

leziunile pancreatice și anomaliile mucusului intestinal există încă din perioada intrauterină.

Deși boala afectează mai multe organe, 98% din adulții cu MV prezintă o infecție supurativă cronică bronhopulmonară, iar 95% din decese sunt datorate unei insuficiențe pulmonare progresive<sup>14</sup>.

### a) Manifestările respiratorii

Afectarea respiratorie cronică ce se agravează progresiv cu vârsta, condiționează prognosticul bolii, fiind responsabilă de 90% din decesele pacienților cu MV.

Sindromul respirator este nespecific: bolnavul cu MV este un tușitor cronic, care periodic are episoade de acutizare, caracterizate prin creșterea volumului și a purulenței sputei, stare subfebrilă, dispnee, inapetență și scădere ponderală.

Febra înaltă, bacteriemia și sepsisul sunt rar întâlnite în cursul acutizărilor de MV, în pofida faptului că în căile aeriene se află un volum mare de bacterii (peste  $10^8$  bacterii/ml spută)<sup>14,15</sup>.

La adulții cu MV pot apare complicații ca: hemoptizia, pneumotoraxul, sinuzite subacute sau cronice datorate disfuncțiilor epitelului sinusurilor paranazale, diabet zaharat (15% din adulții cu MV)<sup>14,15</sup>.

Primele manifestări sunt precoce, înaintea vârstei de 1 an (80% din cazuri). Instalarea precoce a distrofiei toracice (cifoză dorsală, torace în carenă) și a hipocratismului digital dovedește evolutivitatea acestei bronhopatii cronice obstructive.

Creșterea numărului de leucocite este modestă.

Deși nespecifice, aspectele radiologice sunt evocatoare prin asocierea imaginilor bronșice și alveolare: îngroșarea peribronșică cu imagine în „șină de tren“, distensia pulmonară cu emfizem, atelectazia segmentară sau subsegmentară în bandă, focare alveolare nesistematizate, opacitate alveolară în jurul bronșiectaziilor „în buchet“<sup>2,5,14,15</sup>. Ele sunt localizate predominant la nivelul lobilor superiori, fapt care creează confuzii uneori cu TBC.

Modificările gazelor sanguine (hipoxemie cu hipercapnie) apar mai ales în stadiile finale ale bolii, atunci când volumul expirator forțat (FEV) scade la sub 40% din valoarea teoretică<sup>14</sup>.

Există și o patologie rinosinuzală care se agravează cu vârsta: sinuzită cronică, polipoză nazală, surditate de transmisie.

Trei bacterii patogene sunt implicate în majoritatea episoadelor de supurație bronșică: *Staphylococcus aureus*, *H. influenzae* și *P. aeruginosa*. Infecția cronică cu piocianic constituie principala problemă infecțioasă și reprezintă un factor de prognostic nefavorabil al bolii. Anumite tulpini numite „mucoide“ se dezvoltă în microcolonii înconjurate de o matrice exopolizaharidică (*slime*). Acest caracter mucoid este practic specific infecției. Incidența tulpinilor mucoide crește cu vârsta și cu vechimea maladiei respiratorii. Probabil că *slime*-ul mărește adeziunea bacteriană la structurile contaminate și împiedică penetrarea antibioticelor. Anumiți patogeni comensali și/sau cu rezistență crescută joacă un rol important datorită alungirii duratei de viață și a presiunii de selecție exercitate de repetatele tratamente cu antibiotice. Este vorba de *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* și *Alcaligenes xylosoxidans*. Infecțiile virale, aspergiloase sau micobacteriene se pot supraadăuga.

Atingerea bronhopulmonară evoluează în pusee, care conduc în zeci de ani la insuficiență respiratorie și cord pulmonar cronic. Puseele de suprainfecție se acompaniază de anorexie, care vine în contrast cu creșterea consumului energetic, ceea ce determină denutriție și retard pubertar. Această evoluție poate prezenta și complicații cu prognostic vital ca pneumotoraxul recidivant sau hemoptiziile. Decesul survine de obicei în cursul unei exacerbări a simptomatologiei respiratorii de cauză infecțioasă, acompaniată de semne de insuficiență cardiacă dreaptă sau globală (1/3 din cazuri).

## b) Manifestările digestive

- *Ileusul meconial*

Ileusul meconial este o ocluzie acută neonatală indusă de meconiul insuficient lichefiat din cauza unei secreții insuficiente a pancreasului exocrin și a glandelor intestinale. El constituie prima manifestare a bolii în 10% din cazuri<sup>19</sup>. Ocluzia apare de regulă la nivelul ileonului terminal. La 48 de ore apar vărsături și meteorism, fără emisie de meconiu. În aproximativ jumătate din cazuri această ocluzie este simplă și poate fi rezolvată prin spălături evacuatorii și hiperosmolare<sup>19</sup>. Pe de altă parte, asocierea unei atrezii ileale, a unui volvulus intestinal sau a unei peritonite impune intervenția chirurgicală.

O astfel de ocluzie poate să apară și mai târziu, mai frecvent la copii decât la adulți, determinând un ileus stercoral ce se poate complica cu invaginație. La sugari, prolapsul rectal este întotdeauna evocator și impune efectuarea sistematică a testului de sudoare.

- *Insuficiența pancreatică exocrină* este prezentă la aproximativ 90% din pacienți<sup>16</sup>.

Ea este responsabilă de diareea cronică cu emisie de scaune voluminoase, steatozice și urât mirositoare. Această diaree cronică de maldigestie este responsabilă de hipotrofia ponderală și apoi staturală care contrastează cu apetitul păstrat (în afara episoadelor respiratorii). Această maldigestie, obiectivată prin steatoree, se acompaniază de carențe secundare în acizi grași esențiali, vitamine liposolubile și oligoelemente.

Fibroza pancreatică poate să afecteze și insulele Langerhans. În 5-10% din cazuri, mai frecvent la adolescenți, apare un diabet zaharat insulino-dependent<sup>16</sup>. Puseele de pancreatită acută apar excepțional.

- *Refluxul gastroesofagian* este în principal o complicație a bronhopneumopatiei cronice. El este datorat emfizemului pulmonar și modificărilor gradientului de presiune abdomino-toracic, secundare chintelor de tuse.

Uneori pot apare modificări de gastro-duodenită.

## c) Manifestările hepatice

Suferința hepatobiliară este frecventă. Evoluția către ciroză hepatică este întâlnită în 10-15% din cazuri<sup>16</sup>. La nou-născut este evocatoare apariția unui icter de

stază prin sindromul de bilă vâscoasă. Ciroza biliară este precedată de creșteri tranzitorii ale transaminazelor și ale  $\gamma$ -glutamyl-transpeptidazei. Ea se poate complica cu insuficiență hepatocelulară sau hipertensiune portală.

Vezi biliară este frecvent atrofică, iar litiaza veziculară (de obicei asimptomatică) este din ce în ce mai des observată odată cu creșterea duratei de viață.

#### **d) Alte manifestări**

Diagnosticul de MV poate fi sugerat și de alte manifestări cum ar fi:

- Hipotrofie ponderală izolată, precoce, de etiologie neprecizată;
- Forme edematoase cu hipoproteinemie și anemie;
- Deshidratare acută datorată pierderilor hidroelectrolitice;
- Miocardopatie neobstructivă;
- Diabet zaharat;
- Artropatie și osteopenie;
- Sterilitate, care este mai frecventă la bărbați, putând fi revelatoare pentru MV. Ea se datorează azoospermiei, precum și afectării prostatei și a veziculelor seminale. La femei există o hipofertilitate prin modificarea mucusului cervical.

### **DIAGNOSTICUL POZITIV**

#### **a) Testul sudorii**

Diagnosticul bolii se face prin testul sudorii: măsurarea concentrației de clor într-un eșantion de sudoare de cel puțin 100 mg, recoltat prin ionoforeză. În mod normal sudoarea conține mai puțin de 40 mmol/l de clor. Testul este patologic la peste 60 mmol/l. În caz de dubiu (40-60 mmol/l), testul trebuie repetat de mai multe ori. Acest test trebuie efectuat cu grijă de un laborator specializat. Pentru confirmarea diagnosticului sunt necesare 2 teste pozitive.

În 90% din cazuri, tehnicile de biologie moleculară permit găsirea mutației în stare homozigotă sau heterozigotă.

#### **b) Diagnosticul MV la nou-născut**

În Franța, depistarea neonatală se face sistematic începând din 2002. Ea constă în dozarea tripsinei imuno-reactive (TIR) într-o probă de sânge prelevată în ziua a 3-a de viață. Această determinare se poate face concomitent cu celelalte teste efectuate sistematic la naștere pentru diagnosticarea fenilcetonuriei, hipotiroidiei congenitale, hiperplaziei de suprarenală și drepanocitozei. O valoare crescută a TIR corespunde unui pasaj al tripsinogenului în sângele circulant, ca urmare a obstrucției acinilor pancreatice. Cu vârsta nivelul TIR scade. Când se descoperă o valoare crescută a TIR trebuie efectuată o cercetare a principalelor mutații genetice ale genei CF, cu acordul părinților<sup>20,21</sup>.

### c) Diagnosticul antenatal

Un diagnostic antenatal este posibil pentru cuplurile heterozigote, diagnosticate în urma nașterii unui prim copil cu MV. Riscul de MV pentru al doilea copil al acestor cupluri este de 25%, afecțiunea fiind autozomal recesivă<sup>20,21</sup>. Metodele actuale, care combină teste directe și indirecte, permit răspunsuri adecvate pentru cvasitotalitatea familiilor la risc. Testul constă în prelevarea de vilozități coriale în săptămâna a 10-a de amenoree. Identificarea mutațiilor cele mai frecvent întâlnite permite un diagnostic direct. Diagnosticul genotipic indirect se sprijină pe rezultatele unei analize genetice efectuate cu ajutorul markerilor ADN ai genei CFTR. Această metodă permite identificarea cromozomului purtător al genei mutante pentru fiecare dintre cei doi părinți.

Deci diagnosticul antenatal prin biologie moleculară trebuie să fie precedat de un studiu familial al ADN-ului. Acesta trebuie efectuat înaintea sarcinii sau la debutul ei, pentru a cunoaște rezultatele înainte de momentul efectuării diagnosticului fetal<sup>20,21</sup>.

## INFECȚIILE BRONHOPULMONARE LA BOLNAVII CU MUCOVISCIDOZĂ

Suprainfecțiile bronhopulmonare sunt practic constante în cursul MV, din cauza stazei mucusului bronșic. Mecanismul și cronologia colonizării bacteriene nu sunt bine descifrate. La copii se constată o colonizare bronșică inițial cu stafilococ auriu și *H. influenzae* și apoi cu *P. aeruginosa*. Între 70-90% din pacienții vârstnici cu MV sunt colonizați cu *P. aeruginosa*<sup>4,14,15</sup>.

## ETIOLOGIA INFECȚIILOR BRONHO-PULMONARE ÎN MUCOVISCIDOZĂ

MV este legată de disfuncția proteinei CFTR. Această anomalie determină modificarea hidratării secrețiilor bronșice care devin vâscoase. Clearance-ul mucociliar diminuează, favorizând staza microorganismelor, fapt ce antrenează suprainfecții bacteriene succesive. Acestea sunt produse inițial de germeni comensali ca *H. influenzae*, apoi de Stafilococul auriu. Infecția cu *Pseudomonas aeruginosa* este însă responsabilă de cea mai mare parte a degradării pulmonare. Infecția cu *Burkholderia cepacia* potențează acțiunea nefastă a piocianicului.

Stadiile succesive ale patogeniei infecției cu *P. aeruginosa* în MV sunt:

- *Stadiul 1*: achiziția bacteriei prin contaminare încrucișată;
- *Stadiul 2*: atașarea (adeziunea) bacteriei la epiteliul respirator prin intermediul pililor, hemaglutinelor, exoenzimelor și alginatului;
- *Stadiul 3*: colonizarea inițială persistentă, intermediată de toxine și enzime (elastaza, proteaza, exotoxinele A și S, fosfolipaza);

- *Stadiul 4*: colonizare cronică, persistentă, care are expresie clinică. Se instalează inflamația și infecția cronică respiratorie. Această fază este caracterizată printr-o reducere progresivă a funcțiilor pulmonare.

Primoinfecția cu *P. aeruginosa* necesită o antibioterapie i.v. în vederea obținerii eradicării, posibilă în acest stadiu primar. În general se recurge la asocierea unui aminoglicozid cu o betalactamină anti-pseudomonas (ureidopeniciline, carboxipeniciline) timp de 2-3 săptămâni. Odată cu instalarea infecției cronice, când nivelul încărcăturii bacteriene se menține la peste 100.000 CFU/ml, se alege un tratament parenteral, ghidat de antibiogramă, în cure secvențiale, dar în acest stadiu nu se mai obține eradicarea infecției.

### a) *Haemophilus influenzae* (Hi)

Toate tulpinile tipabile și non-tipabile de Hi sunt bacterii comensale ale căilor aeriene superioare. Prezența lor în spută este deci interpretabilă în funcție de calitatea prelevării. Aceste bacterii sunt frecvent întâlnite la copii și par să dispară în stadiile tardive ale bolii, când căile respiratorii sunt colonizate de *P. aeruginosa*. Puterea patogenă a Hi este legată în principal de capacitatea de aderență la celulele epiteliale ale arborelui respirator, dar și de activitatea proteazică asupra imunoglobulinelor A secretorii.

### b) *Staphylococcus aureus* (SA)

Habitatul natural al SA este mucoasa nazală. Prezența sa în sputa pacienților cu MV merită deci să fie luată în considerație. Până în 1950 când s-au izolat primele tulpini de *P. aeruginosa*, stafilococul era considerat principalul agent infecțios responsabil de deces în MV. SA este capabil să sintetizeze numeroși factori de virulență, cum ar fi proteina A care îi permite să se fixeze la nivelul fibrinogenului de la suprafața epitelului bronșic<sup>22</sup>. SA sintetizează multiple enzime (lipaza, proteaza, fibrinolizina, collagenaza, leucocidina) capabile să determine leziuni celulare sau tisulare. Rolul acestor factori în evoluția bolii nu este clar demonstrat, iar tratamentul sistematic al infecției cu SA ridică încă numeroase întrebări. Deși permite eradicarea germenumului, nu există încă suficiente date care să ateste rolul benefic al antibioterapiei asupra funcției respiratorii și asupra stării clinice a pacientului.

SA colonizează tractul respirator în primii 2 ani de viață și este găsit la 30% din bolnavii cu MV din SUA<sup>14</sup>. După vârsta de 18-20 ani, prezența SA cu absența *P. aeruginosa* este considerată ca fiind un factor de prognostic favorabil pentru evoluția bolii<sup>23</sup>. Pe de altă parte, există temeri că tratamentul sistematic al infecției cu SA ar crește riscul de colonizare cu *P. aeruginosa*<sup>24</sup>. Acest risc a fost evaluat într-un studiu european recent efectuat pe 3.219 pacienți colonizați cu SA, în absența *P. aeruginosa*, care au fost urmăriți timp de trei ani<sup>25</sup>. S-au individualizat trei grupuri de pacienți: primul grup a beneficiat de o antibioterapie specifică zilnică, al doilea a primit antibioterapie doar în timpul exacerbărilor, iar al treilea grup nu a beneficiat de tratament antibiotic. S-a observat o colonizare semnificativ mai mare cu *P. aeruginosa* la cei cu antibioterapie frecventă, mai ales la copiii sub 6 ani. Pe de altă parte însă, nu s-au observat diferențe semnificative între cele 3 grupuri, în



cea privește evoluția bolii la nivel respirator, și nici în ceea ce privește greutatea corporală. Cea mai bună atitudine pare a fi aceea de a trata numai puseele de exacerbare ale infecției bronșice.

Colonizarea cu SA este cel mai frecvent asimptomatică, dar poate fi uneori responsabilă de infecții severe<sup>26</sup>. Tulpinile de SA sunt din ce în ce mai rezistente la macrolide, datorită utilizării excesive a acestei clase de antibiotice pentru proprietățile lor antiinflamatorii. Izolarea tulpinilor meticilin-rezistente (SAMR) de la pacienții cu MV este și mai îngrijorătoare, ridicând întrebări cu privire la originea lor. Este puțin probabil ca aceste tulpini să fi apărut în urma presiunii de selecție a antibioticelor, SAMR fiind de obicei bacterie de spital, implicată în infecții nozocomiale. Un studiu efectuat în Anglia a arătat că mai mulți pacienți cu MV erau purtători ai unor tulpini de SAMR identice cu cele izolate în spitalul în care au fost consultați periodic<sup>27</sup>. În Franța, date recente arată că 9,2% din pacienții cu MV sunt colonizați cu tulpini MR (după *Observatoire National de la Mucoviscidose*, 1999). În Anglia, la bolnavii cu MV s-au raportat 12% tulpini de SAMR, iar în USA 10-20% tulpini SAMR<sup>14</sup>.

Plecând de la un eșantion de 97 de tulpini de SAMR colectate de la 71 de pacienți din 10 centre spitalicești franceze, s-a dovedit că deși 77% dintre ei erau anterior colonizați de o tulpină sensibilă la meticilină, 23% au fost colonizați la un moment dat cu o tulpină SAMR (după *Observatoire National de la Mucoviscidose*, 2002). Rezistența la meticilină este deseori asociată cu rezistența la alte antibiotice (tobramicină, macrolide, fluorochinolone).

### c) *Pseudomonas aeruginosa* (PA)

Primoinfecția cu *P. aeruginosa* (PA) apare de obicei la vârsta de 8-10 ani, chiar dacă această bacterie poate fi izolată încă din primele luni de viață. Izolarea sa în 3 spute succesive permite definirea unei colonizări definitive. 15-20% din copiii în vârstă de sub 2 ani pot fi astfel colonizați, dar acest procent crește cu vârsta. În SUA, se apreciază că 80% din adolescenții și adulții cu MV sunt infectați cu piocianic<sup>2,5,14</sup>.

PA este o bacterie saprofită dotată cu o remarcabilă capacitate de adaptare și supraviețuire în condiții ostile. Suprainfecțiile bronșice cu PA la pacienții cu MV se diferențiază de infecțiile cu PA observate la bolnavii imunodeprimați sau la arși. Acestea din urmă sunt de obicei infecții nozocomiale, cu tulpini multirezistente la antibiotice, și sunt datorate explorărilor invazive. Colonizarea cu PA a pacienților cu MV are loc de obicei în afara spitalului și ea va persista luni sau ani, chiar dacă inițial este sensibilă la antibiotice.

Rolul PA în patogenia afectării pulmonare cronice din MV este încă insuficient cunoscut. Motivele prevalenței ridicate a acestei bacterii nu sunt clarificate. Nu există o corelație între evoluția clinică și rezultatele determinărilor bacteriologice din spută. Anumiți pacienți colonizați rămân mult timp asimptomatici, în timp ce alții prezintă o deteriorare progresivă a funcțiilor respiratorii.

Piocianicul este principala cauză de deces în MV. În mod paradoxal, nu au fost raportate până acum bacteriemii cu piocianic.

Prima suprainfecție bronșică cu piocianic este de obicei asociată cu simptome evidente: tuse cu expectorație abundentă, verde și vâscoasă, modificări stetacustice pulmonare și scădere ponderală. Prezența acestor semne la un bolnav cu MV obligă

la efectuarea unui examen citobacteriologic al sputei. Izolarea piocianicului obligă la administrarea unor antibiotice active pe piocianic (carboxipeniciline, ureidopeniciline, imipenem, quinolone, aminoglicozide, unele cefalosporine de generația III). Eradicarea piocianicului este posibilă după primul episod, dar reinfecțiile ulterioare sunt din ce în ce mai dificil de eradicat. Frecvența reinfecțiilor crește odată cu vârsta copilului. Ele sunt urmate de colonizarea cronică a bronhiilor. Evoluția pe termen lung a infecției pulmonare este marcată de repetate exacerbări, care impun antibioterapii iterative. Aceste exacerbări conduc la alterarea stării clinice. Treptat se selecționează bacterii din ce în ce mai rezistente la antibiotice, ceea ce conduce în final la un impas terapeutic. Ultimele antibiotice la care piocianicul poate câștiga rezistență sunt polimixina B și colistina<sup>14</sup>. Utilizarea monoterapiei cu antibiotice crește mult riscul de selectare a tulpinilor rezistente de piocianic.

Mecanismele prin care piocianicul se grezează în mod cronic la nivelul bronhiilor bolnavilor cu MV sunt multiple.

- *Rolul proteinei CFTR în infecția cu PA*

Diferite lucrări au arătat că proteina CFTR anormală joacă un rol de receptor celular pentru PA<sup>28,29</sup>. Această interacțiune se face la nivelul LPS și permite pasajul intracelular al bacteriei printr-un mecanism de endocitoză, determinând în consecință multiplicarea progresivă a bacteriei în căile respiratorii<sup>30,31</sup>.

După unii autori, cantitatea de proteină CFTR anormală prezentă la suprafața celulelor ar fi un factor determinant<sup>32</sup>. Tipul de proteină CFTR și mai ales statutul de homo- sau heterozigot joacă un rol important. Astfel, subiecții homozigoți, posesori ai mutației cele mai frecvente ( $\Delta$  F508) par să fie mai des colonizați cu PA. Alți autori susțin însă că genotipul nu are decât un rol modest<sup>33</sup>.

În afara rolului său de receptor, proteina CFTR poate juca un rol indirect în colonizarea cu PA și în geneza leziunilor tisulare. Ea este asociată cu un răspuns inflamator important care se caracterizează printr-un aflus de polimorfonucleare și printr-o creștere a producției de citokine proinflamatorii, mai ales IL-8<sup>34,35</sup>. Aceste anomalii sunt direct legate de celulele glandulare bronșice care exprimă proteina anormală CFTR. Producția anormală de citokine determină acumularea factorului nuclear de transcripție NF $\kappa$ B<sup>36,37</sup>, care controlează expresia genelor multor citokine proinflamatorii. Mobilizarea neutrofilelor antrenează o creștere a ADN-ului, mărind astfel vâscozitatea mucusului, producția de factori oxidanți și de proteaze.

- *Rolul mucinelor în infecția cu PA*

Mucinele bronșice sunt în mare parte responsabile de proprietățile reologice ale mucusului și implicit de buna funcționare a sistemului mucociliar. Ele sunt glicoproteine foarte bogate în glucoză (80% din masa moleculară), formate dintr-un ax peptidic (apomucina) pe care sunt grefate diferite lanțuri glicanice. Diversitatea lanțurilor glicanice face ca mucinele să reprezinte o țintă privilegiată pentru fixarea bacteriilor. Aceste situsuri de atașare pentru diferite microorganisme favorizează captarea și eliminarea bacteriilor prin sistemul mucociliar<sup>38,39</sup>. Numeroase studii sugerează că mucinele secretate de pacienții cu MV prezintă glicozilări și sulfatări anormale.

Aceste modificări explică aderența crescută a bacteriei la mucinele pacienților cu MV față de mucinele indivizilor sănătoși. Cauza acestor modificări nu este încă precizată. Ea poate fi legată direct de boală, dar ar putea rezulta din degradarea mucinelor în absența răspunsului inflamator.

- *Rolul peptidelor antibacteriene în infecția cu PA*

Peptidele antibacteriene joacă un rol important la nivelul mucoaselor prin inhibarea proliferării bacteriilor. Ele aparțin mecanismelor de apărare naturală nespecifică. La pacienții cu MV se constată o scădere a activității antibacteriene a acestor peptide în fluidele de la suprafața mucoasei respiratorii comparativ cu indivizii sănătoși<sup>40</sup>. Această diminuare a activității antibacteriene nu este legată de o scădere a sintezei lor. După Smith<sup>40</sup>, hiperosmolaritatea este cea care limitează eficacitatea antibacteriană a peptidelor. Această ipoteză este actualmente respinsă deoarece nu s-au evidențiat concentrații crescute ale ionilor la pacienții cu MV față de indivizii sănătoși<sup>41</sup>. Diminuarea activității acestor peptide ar putea fi legată de o deshidratare a mucoaselor, secundară unei adsorbții masive a lichidului de suprafață de către celulele epiteliale.

- *Rolul factorilor bacterieni în colonizarea cu PA (tabelul 11.1.)*

- *Factorii de aderență*

Evenimentul inițial al infecției este aderența bacteriei la celulele epiteliale ale mucoasei. Sunt implicate diferite adevine și diferiți receptori. Adevinele cele mai cunoscute sunt „*pili*”, care asigură fixarea bacteriilor la celulele epiteliale prin recunoașterea glicolipidelor membranare ale celulelor lezate. Inițial acești receptori celulari au fost considerați drept ganglioze (asialo-GM1 și asialo-GM2), fapt neconfirmat deoarece ei nu sunt prezenți în număr mare la nivelul celulelor care exprimă proteina anormală CFTR<sup>42</sup>. Fixarea pare foarte complexă, fiind asociată unui clivaj al părții terminale a pililor, în acest fenomen putând interveni și alte structuri. Exoenzima S poate funcționa ca o adevină și se poate atașa de glicolipidele membranare. Acest mecanism ar putea fi potențat de algiinati, a căror sinteză intervine tardiv în fenomenul de colonizare și conferă bacteriei un caracter mucoid.

Utilizarea unor tulpini mutante a arătat că aderența PA la mucinele bronșice se poate face și prin intermediul unor adevine diferite de „*pili*”, cum ar fi flagelul și proteinele membranei externe. Acestea sunt structuri care recunosc partea glicanică a mucinelor. Expresia lor nu pare dependentă de hiperosmolaritatea mediului înconjurător, dar pare influențată de concentrația fierului liber<sup>43</sup>. Într-un mediu normal (fără carență de fier) bacteria exprimă doar 4 adevine, în timp ce într-un mediu feripriv ea sintetizează două adevine suplimentare.

- *Factorii de virulență (tabelul 11.2.)*

Tulpinile de PA izolate de la bolnavii cu MV nu sunt mai virulente decât cele, izolate de la pacienții fără MV<sup>44</sup>. Ele sunt capabile să producă o mare varietate de factori de virulență (exotoxina A, proteaze, lipaze, hemolizine), care induc

necroze tisulare importante. Se pare că efectele negative directe ale factorilor de virulență persistă numai în cursul primelor luni de colonizare, deoarece apoi apar anticorpii specifici. Ulterior leziunile inflamatorii bronșice vor fi cauzate probabil de prezența *in situ* a complexelor imune<sup>45</sup>.

#### - Alginații

Transformarea tulpinilor normale în tulpini mucoide reprezintă un fenomen important, ce urmează colonizării cu PA. Acest fenomen constă în sinteza unor exopolizaharide de natură vâscoasă, numite alginați. Odată produși, alginații reprezintă unul din principalii factori de virulență ai PA, potențând aderența bacteriei la celulele bronșice<sup>46</sup>. Ei antrenează o creștere a vâscozității mucusului, fapt care scade activitatea ciliară și eliminarea mucusului pulmonar infectat. În plus, alginații formează un „scut” în jurul bacteriei protejând-o de acțiunea antibioticelor, de fagocitoză și de acțiunea radicalilor liberi<sup>47,48</sup>.

Producția de alginați este un fenomen de adaptare la mediul hiperosmolar și hipoxic întâlnit în MV. Sinteza de alginați încetează în momentul în care bacteria este cultivată pe un mediu de cultură.

#### - Biofilmul și comunicarea interbacteriană

Sinteza de alginați poate interveni în formarea biofilmului. Metabolismul bacterian încetinește, bacteriile devin imobile și se agregă între ele formând microcolonii<sup>49</sup>. Astfel se creează biofilmul la suprafața epiteliului bronșic. Acesta amplifică patogenicitatea bacteriei, crescând rezistența acesteia la deshidratare, fagocitoză și la acțiunea antibioticelor<sup>50,51</sup>.

Formarea biofilmului bacterian la suprafața mucoasei reprezintă adaptarea definitivă a bacteriei la mediul înconjurător. Pentru majoritatea bacteriilor această adaptare este controlată prin două sisteme de reglare:

- reglarea prin „*quorum sensing*” care permite bacteriilor să comunice între ele și să-și armonizeze comportamentul.
- reglarea printr-un sistem compus din două componente care asigură detectarea unor parametri modificați (stimuli) prezenți în jurul bacteriei. Ca răspuns la semnalele primite are loc activarea uneia sau mai multor căi metabolice. Acești stimuli sunt asemănători cu cei care reglează sinteza alginaților. Unii sunt specifici MV: hiperosmolaritatea, deshidratarea, mediul sărac în fier. Stimulii cei mai importanți sunt hipoxia; acumularea moleculelor de ADN care cresc vâscozitatea; acumularea peroxidului de hidrogen eliberat de celulele fagocitare; acumularea de lactoferină care fixează indirect fierul liber, împiedicând astfel utilizarea lui de către bacterii.

Producția de alginați și formarea biofilmului este prezentă la majoritatea pacienților cu MV colonizați cu PA. Un mic număr de pacienți colonizați nu dezvoltă niciodată tulpini mucoide. Funcția respiratorie a acestor pacienți este mai puțin alterată în comparație cu cea a pacienților colonizați cu tulpini mucoide.

**Tabelul 11.1. Factorii bacterieni și structurile gazdei implicate în adeziune<sup>61</sup>**

Adezine	Structurile gazdei implicate	Locul de recunoaștere
Pili	Celule epiteliale bronșice	Asialo-GM1, Asialo-GM2
Flagel	Mucine respiratorii Celule epiteliale bronșice	Lanț glicanic Asialo-GM1
Proteinele membranei externe	Mucine respiratorii	Lanț glicanic
Exoenzime	Celule epiteliale bronșice	Asialo-GM1 Asialo-GM2
Alginați	Celule epiteliale bronșice Mucine respiratorii	Lectine Legături ionice

**Tabelul 11.2. Factorii de virulență ai P. aeruginosa<sup>61</sup>**

Factori de virulență	Efect
Citotoxina	Alterarea celulelor și eliberarea de enzime lizozomale
Hemolizina termolabilă (Fosfolipaza C)	Eliberarea de fosforilcolină plecând de la surfactantul pulmonar
Hemolizina termostabilă (Rhamnolipid)	Detergent la nivelul membranei celulare
Elastaza	Distrugerea elastinei pulmonare, a colagenului de tip 3 și 4, a proteoglicanilor din structura bazală a țesutului epitelial, a componentei C3 a complementului
Fosfataza alcalină	Degradarea interferonului gama sau a componentelor complementului
Lipaza	Acțiune sinergică cu fosfolipaza C
Neuraminidaza	Degradarea țesutului conjunctiv și a mucinelor
Exotoxina A	Inhibă sinteza proteică a celulelor gazdă prin ADP-ribozilare
Exoenzima S	Acțiune ADP-ribozil-transferază Degradarea IgG și IgA Adeziune la celulele epiteliale, depolimerizare a filamentelor de actină, rezistență la macrofage Inhibă mobilitatea macrofagelor, Favorizează apoptoza fagocitelor
Exoenzima U	Apoptoza celulelor eucariote
Piochelina	Siderofori
Pioverdina	

Mulți autori susțin că fiziopatologia infecției pulmonare cronice cu PA la bolnavii cu MV are la bază o reacție de *hipersensibilitate* de tip 3, caracterizată prin: producția de anticorpi specifici împotriva unui număr mare de antigene bacteriene; complexe imune circulante; concentrare de neutrofile la nivel respirator<sup>61</sup>.

#### d) *Burkholderia cepacia* (BC)

Încă din anii 1980 s-a observat o incidență crescută a colonizării bronșice cu BC la pacienții cu MV. Importanța colonizării a fost demonstrată în SUA și în Anglia unde s-a raportat o prevalență de 40% în anumite centre specializate<sup>52</sup>. În unele centre medicale din SUA, BC este considerată al 3-lea agent etiologic implicat în infecțiile respiratorii ale bolnavilor cu MV<sup>14</sup>. Severitatea acestei infecții este variabilă, mergând de la simplul portaj cronic până la o pneumonie necrozantă cu bacteriemie, numită „sindromul cepacia”, care determină decesul pacientului într-un interval de săptămâni sau luni. BC rămasă în sinusuri sau trahee poate reinfecta grefa pulmonară la bolnavii cu MV, ceea ce atrage o creștere semnificativă a mortalității posttransplant<sup>14</sup>. Aceasta a condus la contraindicarea transplantului cardiopulmonar la bolnavii infectați cu BC.

BC este greu de identificat, crescând cu dificultate pe mediile de cultură, unde poate fi mascată de piocianic. Ea necesită medii de cultură speciale, greu accesibile.

BC este o bacterie multirezistentă la antibiotice. Ea posedă o rezistență naturală la aminoglicozide și polimixină. Dacă inițial ea este sensibilă la betalactaminele anti-piocianic și la sulfametoxazol-trimetoprim, va deveni rapid rezistentă la majoritatea antibioticelor anti-piocianic disponibile<sup>14</sup>.

Numeroase studii au demonstrat că transmisia BC între pacienții cu MV se face interuman. Un contact de 10 minute, cum ar fi o vizită între doi bolnavi, ar putea fi suficient. Din această cauză, de-a lungul anilor s-a practicat izolarea bolnavilor colonizați cu BC, mergându-se până la excluderea acestora de pe listele de așteptare pentru transplant. Identificarea recentă a noi specii de *Burkholderia* a dus la reconsiderarea cunoștințelor referitoare la epidemiologia și puterea patogenă a acestei bacterii.

##### • Taxonomie și epidemiologie

Se disting în prezent 9 genomovariuri ale speciei BC, care sunt numite de obicei „complexul cepacia” (tabelul 11.3.).

**Tabelul 11.3.** Nomenclatura actuală a diferitelor specii ale „complexului cepacia”<sup>52</sup>

Genomovarul de <i>B. cepacia</i>	Specia identificată
Genomovarul I	<i>B. cepacia</i> „sensu stricto”
Genomovarul II	<i>B. multivorans</i>
Genomovarul III (grup A, B)	În curs de denumire
Genomovarul IV	<i>B. stabilis</i>
Genomovarul V	<i>B. vietnamiensis</i>
Genomovarul VI	În curs de denumire
Genomovarul VII	<i>B. ambifaria</i>
Genomovarul VIII	<i>B. anthina</i>
Genomovarul IX	<i>B. pyrrocinia</i>

Unele specii sunt fitopatogene: *B. vietnamiensis* este patogenă pentru orez, iar *B. cepacia* pentru ceapă. Aceste specii pot fi izolate și din sputa bolnavilor cu MV. Un studiu efectuat de Lipima<sup>53</sup> a comparat pe plan molecular tulpinile genomovarului III provenite de la pacienți cu MV cu cele de proveniență telurică, observându-se o omologie de 99,1%. Deci mediul înconjurător poate reprezenta o sursă de infecție, dar calea prin care se contaminează bolnavii este încă necunoscută.

Genomovarul III A a fost asociat cu clona epidemică letală Edimburg-Toronto (clona ET12), deoarece are putere patogenă mare.

Tulpinile speciei *B. multivorans* sunt asociate cu infecții epidemice sau sporadice, unele determinând decesul pacienților. *B. vietnamiensis* (tulpină fitopatogenă pentru orez), a fost izolată de mai multe ori de la pacienți cu MV. Nici un studiu nu permite aprecierea puterii patogene a *B. stabilis* și a *B. vietnamiensis*.

#### ● Factori de virulență

Se consideră că BC nu sintetizează nici algiinați, nici exotoxina A. Cea mai importantă moleculă de adeziune este un pil („*cable pilus*“) cu putere sporită de adeziune la nivelul celulelor epiteliale. BC poate secreta mai multe enzime: o protează ce determină leziuni celulare; o hemolizină implicată în apoptoza și degranularea fagocitelor; o fosfolipază și numeroase siderofore care intervin în transportul fierului. Se pare că BC ar putea crește răspunsul inflamator prin intermediul LPS, care are un potențial de stimulare al citokinelor mai mare decât al *P. aeruginosa*. BC produce melanină care o protejează de acțiunea radicalilor liberi.

Repartiția factorilor de virulență în funcție de genomovar este încă necunoscută. Sinteza unor exopolizaharide diferite de algiinați, numite cepabactine, a fost atribuită genomovarului III.

În tabelul 11.4. sunt prezentați factorii de virulență ai BC „sensu lato“<sup>52</sup>.

**Tabelul 11.4. Factorii de virulență ai BC<sup>52</sup>**

Factor de virulență	Efect
Cable Pilus	Aderență la celulele epiteliale Aderență la mucine
Proteaza	Leziuni tisulare
Hemolizina	Apoptoză și degranulare a fagocitelor
Fosfolipaza C	
Siderofore	Fixarea de Fe
Lipopolizaharide	Endotoxine și stimularea citokinelor
Melanina	Protecție față de radicalii liberi de oxigen

#### e) *Stenotrophomonas maltophilia* și *Achromobacter xylosoxidans*

*Stenotrophomonas maltophilia* (SM) și *Achromobacter xylosoxidans* (AX) pot coloniza luni sau ani de zile căile respiratorii ale pacienților cu MV<sup>54</sup>. Această coloni-

zare este asociată cu o degradare progresivă a funcției respiratorii. Impactul colonizării cu SM și AX este mai puțin sever decât al colonizării cu BC, fapt susținut și de absența cazurilor letale. Transmiterea infecției între pacienți este rară, dar posibilă. Prezența SM și AX în sputa pacienților cu MV se explică prin rezistența la numeroase antibiotice, în special la aminoglicozide și imipenem (numai *S. maltophilia*). Repetarea curelor de antibioticoterapie i.v. sau utilizarea aerosolilor cu aminoglicozide crește prevalența acestor două specii bacteriene la pacienții cu MV<sup>55</sup>. Originea contaminării rămâne deseori necunoscută. Aceste două bacterii sunt izolate atât din mediul spitalicesc, cât și din mediul înconjurător, mai ales din apa potabilă.

#### f) Mycobacterii atipice

Izolarea mycobacteriilor atipice (*M. avium intracelulare*, *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. chelonae*) nu este rară, variind între 4-20% din cazuri<sup>57</sup>. Rolul lor în agravarea insuficienței respiratorii este însă insuficient cunoscut.

*M. avium intracelulare* este izolată din secrețiile respiratorii provenite de la peste 20% din bolnavii cu MV<sup>14</sup>. Prezența sa reprezintă o contraindicație pentru transplantul cardiopulmonar la bolnavii cu MV, din cauza dificultăților în tratamentul etiologic. Deseori infecția cu *M. avium* este asimptomatică, dar pacienții pot evolua oricând către o infecție activă, simptomatică. *M. tuberculosis* este rareori întâlnit.

#### g) Alți agenți etiologici

Din sputa pacienților cu MV pot fi izolate și alte bacterii, cum ar fi cele din genul *Ralstonia* (*R. pickettii*, *R. paucula*, *R. gilardii*, *R. eutropha*) și cele din genul *Pandora* (*P. apista*, *P. sputorum*) care au ca habitat în special apa<sup>56</sup>.

*Aspergillus fumigatus* poate fi prezent în secrețiile respiratorii ale bolnavilor cu MV.

Rolul virusurilor în patologia pulmonară cronică a bolnavilor cu MV este puțin studiat și incomplet cunoscut. Frecvența și gravitatea infecțiilor respiratorii virale la copiii cu MV este similară cu cea de la copiii fără MV<sup>14</sup>.

### EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL SPUTEI LA PACIENȚII CU MV

Una dintre principalele preocupări ale clinicianului este aceea de a decela cât mai precoce primo-colonizarea cu *P. aeruginosa* în vederea tratării și prevenirii colonizării definitive.

Examenul bacteriologic al sputei este dificil, una din principalele probleme fiind legată de calitatea prelevării expectorației.

Exsudatele faringiene sunt deseori recoltate la copiii cu MV. Ele pun în evidență o floră bacteriană polimorfă, fără a preciza specia și nici cantitatea de bacterii prezente la suprafața epiteliului sau în mucusul bronșic.

Recoltarea sputei pare a avea o fidelitate mai mare. Ea necesită o etapă de fluidificare a secrețiilor, care antrenează însă o diminuare a sensibilității acestui examen.

Sensibilitatea tehnicilor actuale de cultură este de  $10^4$ - $10^5$  bacterii/ml, ceea ce este insuficient pentru detectarea primo-colonizărilor. Este recomandat să se însă-



mânțeze prelevările nefluidificate direct pe mediile de cultură, pentru a mări șansa de diagnosticare a primo-colonizării. Detectarea genomului bacterian prin PCR ar fi o alterantivă interesantă, dar este încă greu accesibilă.

*P. aeruginosa* este dificil de identificat, deoarece bacteria poate prezenta 6 tipuri morfologice de colonii: netede și lucioase, rugoase, plisate, mucoase, gelatinoase și pitice. Aceste bacterii au un metabolism încetinit, fiind necesare uneori 2-3 zile pentru dezvoltarea lor pe mediile de cultură, ceea ce necesită o incubare prelungită și o urmărire atentă a coloniilor.

*S. maltophilia* și *A. xylosoxidans* sunt dificil de identificat într-o floră bacteriană polymorfă. Utilizarea mediilor selective conținând vancomicină, amfotericină și imipenem sau tobramicină sunt recomandate pentru facilitarea izolării lor.

*B. cepacia* trebuie cercetată în prelevările bronșice ale pacienților cu MV. Izolarea ei necesită utilizarea de medii selective prin adăugarea de antibiotice ca polimixină și bacitracină (mediul OFPBL), polimixină și ticarcilină (mediul PCA) sau polimixină și gentamicină (mediul BCSA). Deoarece colonizarea cu BC este de obicei redusă, se recomandă utilizarea prelevatului nediluat și izolarea BC direct pe mediul selectiv. Aceste medii vor fi apoi incubate la 37°C și examinate zilnic timp de 5 zile.

Identificarea speciilor din genul *Burkholderia* nu poate fi efectuată decât în laboratoare specializate care pot utiliza concomitent metode fenotipice și de biologie moleculară.

Bacteriile din Genul *Pandora* și *Ralstonia* sunt și mai greu de identificat, motiv pentru care frecvența lor este în mod cert subestimată.

*Consensul European în MV (1999)*<sup>61</sup> recomandă:

- Examenul citobacteriologic al sputei corect recoltate pentru cercetarea infecției cu PA. Evaluarea colonizării/infecției cu PA trebuie efectuată cât mai precoce posibil, fiind indicată la fiecare consultație acordată unui pacient cu MV, sau la fiecare 3 luni;
- Trebuie eliminate prelevatele care conțin multe celule epiteliale și puține neutrofile (origine salivară);
- În cazul absenței expectorației se recomandă aspirat faringian sau endolarin-gian, de preferință după o ședință de kineziterapie respiratorie sau după inhalarea de soluție hipotonă;
- La pacienții care nu expectorează se pot efectua periodic teste serologice pentru PA, pentru a evita rezultatele fals negative ale culturilor. Unii pacienți purtători ai unor tulpini non-mucoide de PA, care au titru mic sau absent de anticorpi specifici și care au cantități reduse de secreții pot tolera ani de zile colonizarea fără deteriorarea funcțiilor respiratorii. Însă, majoritatea pacienților purtători de PA - tulpini mucoide, au expectorație abundentă și suferă o degradare rapid progresivă a funcțiilor respiratorii.

## TRATAMENTUL MUCOVISCOZEI

Pacienții cu MV trebuie dispensarizați în centre de îngrijire specializate, care permit o colaborare între clinicieni, microbiologi, kineziterapeuți, psihologi, dieteticieni și asistente sociale.

Principalul obiectiv al terapiei în MV este întârzierea degradării progresive a funcției respiratorii prin scăderea vâscozității și purulenței sputei, prin controlarea infecției bacteriene și prin asigurarea unei bune nutriții, care să contribuie la o bună apărare locală.

Evoluția MV variază mult de la un pacient la altul. Nu există markeri fiabili pentru a aprecia evoluția bolii. Există însă niște parametri orientativi: probele funcționale respiratorii; gazometria; nivelul gamaglobulinelor serice, care exprimă importanța supurației bronșice; markerii nutriționali; examenul citobacteriologic al sputei; bilanțul biologic; ecografia hepatică. Scorul Shwachman se calculează pe baza probelor funcționale respiratorii, markerilor nutriționali și semnelor radiologice. El permite o apreciere orientativă a evoluției bolii.

Progresele terapeutice din ultima perioadă au permis o ameliorare semnificativă a prognosticului MV. Speranța medie de viață era de câțiva ani în anii '60, în timp ce actualmente, în centrele specializate ea depășește 30 de ani. În Danemarca, probabilitatea de supraviețuire la 40 de ani a pacienților cu MV era estimată în 1995 la 85%<sup>61</sup>.

## ANTIBIOTICOTERAPIA

Corectitudinea și calitatea tratamentului infecțiilor bronhopulmonare condiționează prognosticul vital al pacienților cu MV. Antibioticoterapia trebuie să se supună următoarelor reguli generale:

- Alegerea antibioticelor să se facă după analiza bacteriologică a florei bacteriene din expectorație, urmată de antibiogramă;
- Evitarea monoterapiei. Se preferă biterapia cu 2 antibiotice bactericide din clase diferite, pentru a preveni apariția rezistenței;
- Utilizarea de doze mari, în cure de cel puțin două săptămâni.

Majoritatea suprainfecțiilor provocate de stafilococul auriu și *H. influenzae* sunt controlate printr-o antibioticoterapie prelungită per os. Pentru piocianic se utilizează antibiotice din trei clase: betalactamine, aminoglicozide și fluorochinolone.

Curele de antibiotice ameliorează net starea clinică a pacientului. Având în vedere că infecția cu piocianic este cronică, se pot recomanda cure trimestriale, chiar și în absența exacerbărilor respiratorii. Beneficiul curelor de antibioticoterapie intravenoasă pare a fi amplificat de administrarea ambulatorie a aerosolilor cu antibiotice.

Studiile clinice placebo-controlate au demonstrat necesitatea tratării cu antibiotice a tuturor pacienților cu MV la care apare febră, scădere ponderală, modificarea caracterului expectorației sau a stetacusticii pulmonare. Antibioterapia prelungeste în mod cert supraviețuirea bolnavilor cu MV. Orice degradare a stării clinice la un pacient cu MV justifică o cură de antibiotice, chiar dacă multe suprainfecții sunt virale și chiar dacă starea clinică nu se corelează strict cu încărcătura bacteriană din spută<sup>15</sup>. Astfel, o ameliorare clinică nu se însoțește întotdeauna de o reducere a încărcăturii bacteriene din spută.

Se recomandă alegerea antibioticului după antibiograma efectuată tulpinii bacteriene izolate în culturile efectuate din sputa recoltată la sfârșitul unei ședințe de drenaj prin kineziterapie.

Tratamentul suprainfecțiilor bronșice cu *P. aeruginosa* constă în cure de betalactamine asociate fie cu un aminoglicozid, fie cu o fluoroquinolonă. Durata tratamentului trebuie să fie de 14 zile. O durată mai scurtă scade toxicitatea aminoglicozidelor, dar determină și o limitare a eficacității. Deși există în prezent un consens european de tratament al infecțiilor cu *P. aeruginosa*<sup>61</sup>, rămân în continuare multe neclarități referitoare la posologie, la frecvența curelor, la administrarea aminoglicozidelor i.v. în una sau două prize zilnice, la utilizarea colimicinei sau a tobramicinei în aerosoli, la utilizarea betalactaminelor în perfuzie continuă.

Recomandările actuale prevăd tratarea cât mai precoce și cu doze mari a primocolonizării cu *P. aeruginosa*. Pentru acest obiectiv utilizarea aerosolilor cu tobramicină sau colimicină pare din ce în ce mai indicată. Ea permite obținerea unor concentrații la nivel bronhopulmonar de 10-80 de ori mai mari decât cele obținute după administrare intravenoasă, fapt ce permite reducerea frecvenței efectelor toxice sistemice. Rămâne însă de precizat impactul asupra selecției de tulpini bacteriene rezistente (*P. aeruginosa*, *S. Maltophilia*, *A. Xylosoxidans*).

Concentrațiile optime de antibiotic în căile aeriene sunt obținute prin adaptarea posologiei. Antibioticele pot fi administrate pe cale orală, intravenoasă sau inhalatorie.

Alegerea căii de administrare<sup>61</sup> a antibioticelor este condiționată de datele clinice:

- pentru eradicarea colonizării/infecției precoce cu *P. aeruginosa* se alege calea inhalatorie (tobramicină sau colistină) asociată sau nu cu antibioticoterapie orală (ciprofloxacină);
- pentru un tratament de întreținere se preferă nebulizarea asociată sau nu cu antibioticoterapia intravenoasă;
- pentru exacerbările acute se preferă administrarea intravenoasă a 2 antibiotice din clase diferite.

● *Antibioticoterapia per os*

În acutizările MV se recomandă utilizarea unor doze mari de antibiotic per os, pentru perioade de 3-4 săptămâni. Se asigură în acest fel și un control al sinuzitelor cronice bacteriene, frecvent întâlnite la bolnavii cu MV<sup>14,15</sup>.

Antibioticoprofilaxia per os este o problemă foarte controversată, deși ea și-a dovedit eficacitatea la unii pacienți<sup>14</sup>.

Quinolonele per os sunt antibiotice de obicei active pe piocianic, utile în terapia intermitentă a acutizărilor. Din păcate, utilizarea lor în monoterapie este însoțită de o creștere semnificativă a rezistenței. De aceea se recomandă utilizarea lor în cure mai scurte de 2-4 săptămâni<sup>11</sup>. Ciprofloxacina p.o. atinge în secrețiile bronșice concentrații egale cu 40-90% din cele serice.

Antibioticele cu spectru larg (amoxicilină, cefalexină, tetraciclină, sulfametoxazol-trimetoprim) pot fi utile în acutizările pulmonare din MV, deși ele nu sunt active pe piocianic. Beneficiul clinic obținut se datorează acțiunii pe alți agenți patogeni, a căror creștere este inhibată de tulpinile mucoide de piocianic (stafilococ, *H. influenzae*)<sup>14</sup>. De asemenea, antibioticele cu spectru larg acționează asupra bacteriilor non-patogene existente în concentrație foarte mare în căile respiratorii (> 10<sup>5</sup>/ml). Ele inhibă producția de toxine chiar în absența distrugerii bacteriene, fapt care scade din efectul nefast al acestora asupra peretelui căilor aeriene<sup>14</sup>.

• *Antibioticoterapia parenterală*

Calea parenterală este recomandată pentru acutizările de MV care nu răspund favorabil la antibioticoterapia per os. Ea trebuie să fie ghidată după antibiogramă. Principala țintă este *P. aeruginosa*. Se recomandă utilizarea unor asocieri de antibiotice în scopul prevenirii selectării de tulpini rezistente. Asocierea cea mai frecvent utilizată este aminoglicozid + betalactamină anti-piocianic (ceftazidim, imipenem, ureidopenicilină sau carboxipenicilină)<sup>2,4,5,14,15</sup>. Activitatea antibacteriană a aminoglicozidelor este redusă în secrețiile purulente. Atunci când se suspectează asocierea unui stafilococ auriu, trebuie asociat un antistafilococic.

La bolnavii cu MV s-a observat o creștere a clearance-ului plasmatic al majorității antibioticelor, motiv pentru care se recomandă utilizarea unor doze mai mari, administrate la intervale mai mici, pentru perioade de minim 10-14 zile<sup>3</sup>. Astfel, doza de gentamicină recomandată la bolnavii cu MV este de 6-15 mg/kg/zi. Toxicitatea aminoglicozidelor la bolnavii cu MV a fost rareori raportată, dar se recomandă o monitorizare a funcției renale și a nivelului seric de antibiotic.

În *tabelul 5* sunt reunite principalele antibiotice active asupra *P. aeruginosa*, precum și posologia recomandată în MV, după *Consensul European din 1999*<sup>61</sup>.

Dozele de antibiotice recomandate în MV sunt mai mari decât cele uzuale (*tabelul 11.5*). Durata tratamentului când se apelează la calea i.v. este de 14 zile, ea putând însă crește la 21 de zile în funcție de evoluția clinică. Criteriile după care se apreciază momentul optim pentru oprirea tratamentului sunt: ameliorarea funcției respiratorii, a greutății corporale, a stării clinice generale și a markerilor de inflamație<sup>61</sup>.

*Tabelul 11.5. Antibiotice active asupra P. aeruginosa*<sup>61</sup>

Antibiotic	Cale de administrare	Posologie (mg/kg/zi)	Nr. prize/zi	Doza zilnică minimă (g)
Amikacină*	i.v.	30	2	-
Aztreonam	i.v.	150	4	8
Cefepim	i.v.	100-150	2-3	6
Ceftazidimă	i.v.	150-250	3-4	12
Ceftazidimă	i.v.	100-150	continuu	12
Ciprofloxacină	p.o.	30	2-3	1,5-2,25
Colistin	inhal	80-160**	1-2	0,320**
Imipenem	i.v.	50-100	3-4	4
Meropenem	i.v.	60-120	3	6
Netilmicină*	i.v.	10	2	-
Ticarcilină	i.v.	500-750	4	30
Tobramicină*	i.v.	7-10	2	-
	inhal.	150-300**	1-2	0,6

\* doza se ajustează după nivelul seric, \*\* doza se ajustează după vârstă și situație

Foarte utile în tratamentul infecțiilor cu piocianic sunt asocierile de betalactamine anti-piocianic și inhibitori de betalactamază: ticarcilină/acid clavulanic (Timentin) și piperacilină/tazobactam (Tazocin), ambele disponibile în România. Dozele recomandate pentru Timentin sunt de 3,1 g, i.v., la fiecare 6 ore, iar pentru Tazocin de 3,375 g, i.v. la fiecare 6 ore.

Din păcate, o parte din tulpinile de *P. aeruginosa* provenite de la bolnavii cu MV devin rezistente la unele antibiotice din tabelul 5, motiv pentru care antibiograma este indispensabilă.

#### ● Antibioterapia în aerosoli (nebulizarea)

Ideea utilizării căii inhalatorii pentru administrarea antibioticelor la bolnavii cu MV este veche, fiind citată în literatură încă din 1944. Până în 1981 nebulizarea a fost utilizată sporadic. Hodson<sup>58</sup> a fost primul care a aplicat nebulizarea cu gentamicină + carbenicilină la o serie mai mare de bolnavii cu MV, observând unele beneficii evidente.

**Nebulizarea** constă în administrarea unei substanțe sub forma unei suspensii de particule lichide sau solide într-un gaz. Particulele nebulizate cu un diametru aerodinamic mediu  $> 5 \mu$  se opresc în căile aeriene superioare, iar cele cu diametrul sub  $1 \mu$  sunt ventilate fără a se depune. Este deci necesară obținerea unui nebulizat ale cărui molecule să aibă diametrul cuprins între  $1-5 \mu$ . Cu toate că majoritatea aparatelor disponibile în prezent corespund acestui criteriu, studiile arată că doza de substanță activă care ajunge la țintă este modestă, reprezentând numai 10%. Există mari variații individuale.

Cu cât afectarea respiratorie evaluată prin probele respiratorii funcționale și prin scorul radiologic Chrispin-Norman este mai severă, cu atât mai mic este procentul de antibiotic care ajunge la plămân. Rezultatele modeste ale nebulizării cu antibiotice se datorează și tehnicilor aplicate, hiperreactivității bronșice și mai ales prezenței dopurilor de mucus. Evaluarea dozelor de antibiotic trebuie să țină seama de toți acești factori. În plus, unele studii au demonstrat existența unui risc potențial legat de utilizarea soluțiilor hipertone, care pot induce hipereactivitate bronșică și bronhospasm.

Sunt validate actualmente 2 sisteme prin care se pot produce aerosoli cu antibiotice:

- sistemul compresor: aerosolii sunt produși în timpul propulsării gazului printr-un orificiu minuscul (efect Venturi) și contactului cu o soluție care conține antibioticul. Soluția va fi dispersată în picături microscopice;
- sistemul ultrasonic folosește un quartz piezoelectric pentru producerea unei surse de energie cu înaltă frecvență, care crează fenomenul de nebulizare la contactul cu principiul activ.

Nebulizarea poate fi recomandată în exacerbările subacute ale MV<sup>14,15</sup>.

S-a demonstrat deja că există o ameliorare a funcției respiratorii și o reducere a frecvenței acutizărilor după administrarea de aerosoli cu tobramicină. Aerosolii cu colistină reprezintă o bună alternativă, având față de tobramicină avantajul că nu există riscul de selectare a unor tulpini rezistente la aminoglicozide, care să periclitizeze și eficacitatea aminoglicozidelor parenterale<sup>7,10,14</sup>.

Jansen<sup>7</sup> a studiat comparativ în 1987, timp de 3 luni, eficiența colimicinii în aerosoli versus placebo, în continuarea unei antibioterapii i.v. El a constatat că degradarea clinică și a funcției respiratorii este mai puțin importantă la bolnavii aflați sub colimicină față de placebo ( $p < 0,05$ ). Este de preferat să se utilizeze aerosoli în picături cu diametru  $\leq 3 \mu$ .

Majoritatea studiilor care au evaluat nebulizarea cu antibiotice sunt discutabile din punct de vedere metodologic: loturi mici de pacienți; absența randomizării; heterogenitatea populațiilor studiate; posologii variabile; durata scurtă a tratamentului:

În pofida acestor deficiențe metodologice, toate studiile au demonstrat câteva fapte, indiferent de substanța utilizată:

- absorbția redusă a antibioticelor prin mucoasa respiratorie și pasajul sistemic redus;
- toxicitatea scăzută a aminoglicozidelor administrate în aerosoli;
- toleranță bună;
- penetrabilitate bună a antibioticelor în secrețiile bronșice. Tobramicina poate atinge în secreții un nivel de 1000-2300 mg/l la 30 minute după nebulizare;
- stabilizarea sau ameliorarea, cel puțin tranzitorie, a funcției respiratorii (VEMS, CVF);
- scăderea frecvenței exacerbărilor infecțioase și a necesarului de antibiotice i.v.;
- scăderea numărului de spitalizări;
- ameliorarea stării generale și a greutății corporale;
- absența eficienței nebulizării asupra exacerbărilor infecțioase produse de *P. aeruginosa*, chiar și atunci când se asociază antibioticoterapia i.v.

Din păcate, există în continuare o serie de întrebări: care antibiotice să fie folosite în nebulizări; indicațiile nebulizării; posologia; riscul de contaminare bacteriană prin deficiențe de igienă; emergența de tulpini de PA rezistente la antibiotice; confortul bolnavului.

În ceea ce privește alegerea antibioticelor nebulizate este cunoscut faptul că, încă de la început, aminoglicozidele au ocupat un loc important (kanamicina, gentamicina, neomicina, amikacina) și că, în momentul de față, tobramicina pare să prezinte caracteristici excelente de eficacitate, toleranță și manevrabilitate.

Printre avantajele aminoglicozidelor se numără: efectul post-antibiotic, activitatea bactericidă a tobramicinei, iar la copii, gustul bine tolerat. Apariția unei noi forme de prezentare a tobramicinei inhalatorii a fost impusă de problemele determinate de excipient (risc de bronhospasm), precum și de pH-ul și osmolaritatea soluției nebulizate.

Ramsay<sup>59</sup> a efectuat în 1999 în SUA un studiu multicentric, dublu-orb, placebo-controlat, asupra unui lot de 520 bolnavi cu MV. Timp de 6 luni s-a administrat tobramicină inhalatorie (300 mg de tobramicină, de 2 ori/zi), în cure de 28 de zile, urmate de 28 de zile de pauză. Principalele rezultate ale acestui studiu au fost:

- funcția respiratorie (VEMS) s-a ameliorat cu 10% în grupul tratat, în timp ce în grupul placebo a scăzut cu 2%. Această ameliorare a fost observată mai ales la grupa de vârstă 13-18 ani;
- densitatea bacteriană în *P. aeruginosa* a scăzut în medie la sfârșitul tratamentului cu  $0,8 \log_{10}$  CFU pe gram de spută în grupul tratat, în timp ce în grupul placebo a crescut cu  $0,3 \log_{10}$  CFU ( $p < 0,001$ );

- pacienții care au primit tobramicină au fost spitalizați mai rar (-26%) și au primit mai puțin frecvent antibiotice i.v. (-36%);
- efectele secundare au fost tranzitorii, fiind reprezentate mai ales de acufene (8 bolnavi) și modificări ale vocii (33 bolnavi). Nu s-au raportat efecte toxice renale sau auditive;
- proporția pacienților tratați cu tobramicină de la care s-a izolat o tulpina de *P. aeruginosa* cu CMI > 8 mg/l a crescut de la 25% la începutul tratamentului la 32% la sfârșitul studiului, în timp ce în grupul placebo s-a înregistrat o scădere de la 20% la 17%. Autorii subliniază absența corelației între sensibilitatea bacteriei la tobramicină și evoluția funcției respiratorii. S-a luat în discuție un posibil efect antiinflamator al aerosolilor sau o producție locală de factori care influențează virulența bacteriei. Apariția tulpinilor cu rezistență crescută la tobramicină pare puțin probabilă. În plus, nivelul înalt de antibiotic realizat la nivel pulmonar face ca nebulizarea cu tobramicină să rămâne eficace și în cazul selectării de tulpini de PA rezistente. În cazul utilizării intravenoase a aminoglicozidelor, dozele necesare pentru obținerea unei concentrații adecvate la nivel pulmonar, care să fie activă pe tulpinile cu sensibilitate diminuată, ar depăși pragul toxic pentru rinichi și auz. Neputându-se folosi aceste doze, la nivel pulmonar se realizează concentrații scăzute, fapt care crește riscul apariției tulpinilor rezistente. Acest fenomen nu este regăsit la colimicină, deoarece aceasta este foarte puțin utilizată pe cale i.v.;
- colonizarea cu *S. maltophilia* a crescut de la 10% la 17%, rezultate similare fiind observate și pentru *A. xylosoxidas* și *Aspergillus fumigatus*. Nu s-a raportat însă creșterea frecvenței aspergilozei;
- numărul de cure de antibiotice i.v. la pacienții tratați cu nebulizări de tobramicină a fost mai mic cu 20-25% față de grupul placebo, iar necesarul de quinolone per os a scăzut cu 35%.

Pe baza rezultatelor acestui studiu amplu s-a elaborat un protocol, conform căruia se recomandă utilizarea intermitentă a tobramicinei sub formă de aerosoli pentru a crea periodic posibilitatea recolonizării căilor aeriene cu tulpini de *P. aeruginosa* sensibile la tobramicină. Pe de altă parte, inhalarea continuă ar putea favoriza micro-leziuni la nivelul mucoasei laringelui, care se vindecă numai după oprirea tratamentului.

Dozele utilizate trebuie să asigure obținerea unei concentrații de tobramicină în secrețiile respiratorii de cel puțin 10 ori mai mare decât CMI pentru un efect bacteriostatic și de 25 de ori mai mari decât CMI pentru o acțiune bactericidă<sup>60</sup>. Trebuie subliniat că aceste cifre nu reflectă situația bacteriologică de la nivelul broșiilor distale, care sunt dificil sau deloc afectate de nebulizare.

Riscul apariției tulpinilor de PA rezistente sau a altor bacterii tobramicin-rezistente (*B. cepacia* sau *S. maltophilia*) impune o supraveghere clinică și bacteriologică atentă a pacienților cu MV tratați cu antibiotice pe cale inhalatorie.

Un studiu european efectuat pe 115 pacienți a comparat eficiența tobramicinei inhalatorii cu cea a colistinei-sulfonat de sodiu nebulizate. La sfârșitul celor 28 de zile ale studiului, densitatea bacteriană a PA a scăzut în cele două grupuri, dar tobramicina a determinat în plus și o ameliorare a funcției respiratorii.

Toți pacienții trebuie să fie instruiți cu privire la curățarea și uscarea nebulizatorului. De asemenea, expirul trebuie făcut printr-un filtru pentru ca antibioticele expirate să nu contamineze mediul înconjurător. Unele spitale posedă chiar un spațiu rezervat inhalatiilor cu antibiotice<sup>61</sup>.

- *Rezistența bacteriană la antibiotice în MV*

PA este în mod natural rezistent la numeroase antibiotice: aminopeniciline, cefalosporine de generația 1 și 2 și chiar de generația a 3-a (cefotaxima).

Tulpinile de PA provenite de la pacienții cu MV prezintă o rezistență la betalactamine și aminoglicozide mai mare decât cea observată la bolnavii fără MV. Rezistența este dobândită prin mecanism plasmidic. Piocianicul capătă ușor în bronhiile bolnavului cu MV o formă mucoidă, care antrenează o creștere a rezistenței la antibiotice.

MV implică niște aspecte particulare ale fenomenului de rezistență bacteriană. Astfel, la bolnavii cu MV s-a observat că unele tulpini de piocianic au rezistență încrucișată între betalactamine și aminoglicozide, fenomen care nu a fost descris la pacienții non-mucoviscidozici<sup>15</sup>. Spre exemplu, frecvența rezistenței încrucișate între aztreonam și amikacină este evaluată la 15%. Pentru acest fenomen sunt invocate două mecanisme diferite: plasmide care conferă această dublă rezistență tulpinilor mucoide de *Pseudomonas*; „rezistență membranară” bine documentată pentru gentamicină, care se acompaniază de scăderea conținutului membranelor în lipopolizaharide, fapt care explică rezistența concomitentă la betalactamine<sup>15</sup>.

Evantaiul de antibiotice active asupra piocianicului este relativ limitat. În plus, mulți clinicieni utilizează asocieri de antibiotice din familii diferite (betalactamine + aminoglicozide). În scopul diminuării riscului de selectare a tulpinilor rezistente se recomandă alternarea mai multor antibiotice active și utilizarea moleculelor anti-piocianic nou descoperite.

Studiile *in vitro* asupra sensibilității piocianicului la antibiotice pot reprezenta un ghid pentru alegerea antibioticului, dar din păcate, *in vivo*, la bolnavii cu MV există unele condiții particulare care nu pot fi transpuse *in vitro*<sup>10</sup>.

Pe plan internațional se recomandă ca antibiografele efectuate la bolnavii cu MV să fie efectuate prin metoda diluțiilor (cu determinarea CMI) și nu difuzimetric<sup>2,5,13,14</sup>.

S-a demonstrat că există corelație între puterea bactericidă a serului în a 4-a zi de tratament și rezultatul bacteriologic, obiectivat prin scăderea cu cel puțin 2 log a numărului de germeni/ml de spută. Prin urmare, activitatea antibacteriană intrinsecă a betalactaminelor poate fi predictivă pentru un succes bacteriologic. Aztreonamul are eficiență similară ceftazidimei asupra tulpinilor de piocianic izolate de la bolnavii cu MV, conducând la eradicarea temporară a infecției în 6/10 cazuri<sup>3,15</sup>.

Scăderea volumului zilnic al sputei și diminuarea concentrației de germeni în spută sunt 2 criterii care traduc scăderea presiunii infecției asupra bronhiilor.

Mecanismele de rezistență sunt multiple: inactivarea enzimatică a antibioticului (plasmidică sau cromozomică), modificarea permeabilității peretelui bacterian pentru antibiotic, coexistența ambelor mecanisme. Penicilinazele plasmidice conferă bacteriei rezistență la carboxipeniciline, ureidopeniciline și cefsulodină, dar nu afectează activitatea ceftazidimei, aztreonamului și imipenemului<sup>15</sup>. Tulpinile producătoare de cefalosporinaze cromozomice nu sunt sensibile decât la o singură betalactamină



(imipenem)<sup>15</sup>. Imipenemul devine inactiv asupra tulpinilor care au o diminuare a permeabilității peretelui bacterian. Piocianicul poate deveni rezistent la aminoglicozide prin producerea unor enzime inactivatoare codificate de gene plasmidice, precum și la fluoroquinolone ca urmare a unor mutații cromozomiale.

În scopul întârzierii selectării de tulpini rezistente se recomandă utilizarea de preferință a carboxipenicilinelor și ureidopenicilinelor (când fenotipul de rezistență o permite) și păstrarea în rezervă a cefalosporinelor de generația a 3-a și a imipenemului<sup>15</sup>. Curele de antibiotice i.v. trebuie prelungite 2-3 săptămâni. Unii autori recomandă reluarea terapiei la reparația semnelor clinice, iar alți autori recomandă sistematic o cură de antibiotice la fiecare 3 luni<sup>15</sup>. Nu există studii randomizate care să compare eficiența acestor 2 strategii.

*B. cepacia* este o specie bacteriană rezistentă la numeroase antibiotice, în special la ticarcilină, imipenem, majoritatea cefalosporinelor și aminoglicozidelor, fosfomicină și polimixine. Moleculele care pot fi active pe BC sunt: piperacilina, ceftazidima, temocilina, meropenemul, ciprofloxacina, cotrimoxazol. Absența unei corelații între răspunsul clinic și sensibilitatea *in vitro* face ca infecțiile cu BC să fie greu de controlat.

Pentru tulpinile multirezistente se recomandă o asociere de 2-3 antibiotice dintre următoarele: ceftazidimă, temocilină sau meropenem cu ciprofloxacina și/sau aminoglicozid<sup>62</sup>.

- *Rolul macrolidelor în infecțiile cu P. aeruginosa*

Tratamentul suprainfecțiilor bronșice cu *P. aeruginosa* ar putea include și macrolide (eritromicină, claritromicină, azitromicină). Macrolidele nu au nici un efect bactericid asupra *P. aeruginosa*. Ameliorarea clinică constatată sub macrolide poate fi explicată fie prin capacitatea acestora de a inhiba expresia diferiților factori de virulență ai bacteriei, fie prin proprietățile imunomodulatoare. Efectul antiinflamator al macrolidelor poate fi explicat printr-o acțiune de inhibare a producerii de radicali liberi de oxigen de către fagocite și o diminuare a sintezei de interleukine proinflamatorii<sup>63</sup>. Aceste efecte sunt posibile deoarece macrolidele pătrund și se concentrează bine intracelular. Azitromicina este cea mai potrivită pentru această indicație deoarece concentrația sa intracelulară este cea mai ridicată.

Mai multe studii au arătat că diminuarea puterii patogene a *P. aeruginosa* de către macrolide ar fi corelată cu o scădere a producției diferiților factori de virulență cum ar fi exotoxina A, elastaza și fosfolipaza C<sup>64</sup>. S-a demonstrat o alterare a biofilmului, legată de scăderea sintezei exopolizaharidelor pentru tulpinile non-mucoide sau a alginatului pentru cele mucoide. De asemenea, se pare că macrolidele scad mobilitatea bacteriană și sinteza de pili. Toate aceste efecte ale macrolidelor au la bază acțiunea lor directă asupra sintezei de proteine bacteriene. Astfel poate apare o diminuare a sintezei proteinelor bacteriene sau sinteza unor proteine anormale<sup>65</sup>.

## FAVORIZAREA DRENAJULUI SECREȚIILOR

Drenajul postural, tapotajele toracice, respirațiile profunde și tusea voluntară sunt considerate foarte utile pentru drenajul secrețiilor.

*Kinesiterapia respiratorie* are o importanță capitală. Ea permite evacuarea secrețiilor prin tuse, prelungind cât mai mult posibil permeabilitatea căilor aeriene.

Pentru lichefierea secrețiilor se utilizează aerosoli ce conțin DNA-ază (*Pulmozyme*), care hidrolizează ADN-ului extracelular uscat din secrețiile bronșice purulente ale pacienților cu MV.

## TRATAMENTUL ANTIINFLAMATOR

Antiinflamatoarele nesteroidiene par a fi utile în reducerea edemului mucoasei și favorizarea eliminării secrețiilor. Unele studii controlate au demonstrat că utilizarea unor doze mari de ibuprofen întârzie deteriorarea funcției respiratorii la copiii cu forme ușoare sau moderate de boală. Acest efect nu a fost observat și la adulți<sup>14</sup>. Terapia AINS trebuie obligatoriu însoțită de antibioticoterapie.

Indicațiile corticosteroizilor sistemici nu sunt bine stabilite, iar utilizarea lor pe termen lung este grevată de riscul efectelor adverse.

Corticoizii inhalatorii sunt deseori utilizați, dar beneficiul lor nu a fost demonstrat prin trialuri clinice controlate.

## BRONHODILATATOARELE

Bronhodilatatoarele pot favoriza eliminarea secrețiilor stagnante la unii bolnavi cu MV, dar ele au cel puțin două dezavantaje importante: accelerarea transportului anormal de  $\text{Na}^+$ , reducerea paradoxală a fluxului aerian<sup>14</sup>. Din aceste motive bronhodilatatoarele trebuie utilizate intermitent și cu precauție la adulții cu MV.

Inhalarea unor substanțe cu efect mucolitic și lavajele bronșice repetate nu au o eficiență dovedită.

Bronhodilatatoarele trebuie însă folosite ori de câte ori există un bronhospasm reversibil la explorările funcționale respiratorii.

## TRANSPLANTUL CARDIOPULMONAR

El este recomandat pacienților aflați în stadiile finale ale bolii. Supraviețuirea la 1 an după transplant este apreciată la 80-90%, iar după 5 ani la 50%<sup>14</sup>. În așteptarea transplantului acești pacienți trebuie să primească un tratament antibiotic intravenos prelungit, timp de câteva luni<sup>15</sup>.

## ALTE MĂSURI TERAPEUTICE

- *Regim igienodietetic*

Nevoile calorice sunt crescute din cauza infecțiilor cronice și creșterii activității respiratorii. De aceea mulți bolnavi ajung să sufere de malnutriție, fapt care antrenează o scădere a capacității de apărare locală.

Regimul alimentar clasic recomandat era hipercaloric, hiperprotidic, sărac în acizi grași cu lanț lung și bogat în trigliceride cu lanț mediu, dar era dificil de obținut. Utilizarea extractelor pancreatice și a concentratelor lipidice a permis diminuarea steatoreei reziduale. Trebuie asigurat un supliment de vitamine liposolubile (A, D, E, K) și de oligoelemente, în special zinc și seleniu. Un supliment de acizi grași esențiali poate avea un rol benefic antiinflamator. De asemenea, trebuie compensate pierderile sudorale de clorură de sodiu. Pacienții cu MV trebuie bine hidratați.

- *Vaccinarea copiilor* cu MV trebuie efectuată după calendarul obișnuit, iar vaccinul antigripal anual este obligatoriu. Vaccinul antipneumococic nu este recomandat de rutină, deoarece pneumococul nu face parte dintre patogenii frecvent întâlniți în MV.

- *Oxigenoterapia* este recomandată în caz de insuficiență respiratorie cronică. Inițial este suficientă oxigenoterapia nocturnă, apoi ea devine permanentă. Oxigenoterapia se asociază sau nu cu ventilația nazală noninvazivă.

- În caz de anomalii biologice hepatice, mai ales colestază, este utilă începerea unui tratament cu acid ursodezoxicolic. În cazul unei hipertensiuni portale cu varice esofagiene se are în vedere o scleroterapie endoscopică sau o derivație chirurgicală.

- *Insulina* este necesară în caz de diabet, având în vedere caracterul său insulinopriv.

- *Profilaxia colonizării cu PA:*

- izolarea pacienților cu MV colonizați cu PA de cei non-colonizați;
- decontaminarea rezervoarelor de PA din centrele de MV: aparate de nebulizare, chiuvete, toalete etc.;
- dezinfectarea mâinilor atât pentru pacienți cât mai ales pentru personalul medical.

## PERSPECTIVE TERAPEUTICE

Descifrarea patogenezei moleculare a MV a permis lansarea unor noi mijloace terapeutice, aflate actualmente în studii clinice. Dintre acestea merită amintite următoarele: antiproteazele inhalatorii sau orale; corectarea perturbărilor transportului ionic transmembranar cu agoniști ai receptorilor P2Y<sub>2</sub>; amplificarea procesării celulare și a funcției CFTR; transferul genetic în celulele epitelului respirator a fragmentului de ADN care codifică o CFTR normală, folosind ca vector adenovirusurile sau complexe ADN-lipozomi<sup>14</sup>.

În momentul de față se încearcă punerea la punct a unui vaccin anti-piocianic destinat pacienților cu MV. Administrarea vaccinului conjugat polizaharid-exotoxină A pare a avea o anumită eficacitate clinică. Este în desfășurare în prezent un studiu

europăean multicentric cu un vaccin bivalent, în care au fost incluși deja peste 500 de pacienți.

MV rămâne o maladie gravă, incurabilă, fără tratament etiologic, dar evoluția ei este într-o continuă ameliorare, ca urmare a perfecționării metodelor de îngrijire.

Prevenția genetică este în prezent posibilă. Grefa pulmonară reprezintă actualmente o mare speranță. Sunt în curs de evaluare metode de terapie genică *in vitro*.

### Bibliografie:

1. American Thoracic Society. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis assessment of severity, initial antimicrobial therapy and preventative strategies. A consensus statements. *Am Rev Resp Crit Care Med* 1995; 153: 1711.
2. Bartlett JG. *Management of respiratory tract infections*. Williams & Wilkins 1997.
3. De Groot R. Antibiotics pharmacokinetics in cystic fibrosis. *Clin. Pharmacokinetics*, 1987; 13: 228-253.
4. De Montalembert M et al. Problemes infectieux actuels poses par mucoviscidose. *Lettre de l'infectiologue*, 1989; 4: 256-261.
5. Fein A, Grossman R. *Diagnosis and management of pneumonia and other respiratory infections*. First edition, 1999.
6. Fick RB. Pathogenesis of the *P. aeruginosa* lung lesion in cystic fibrosis. *Chest*, 1989; 96: 158-164.
7. Jensen T et al. Colistin inhalation therapy in cystic fibrosis patients with chronic *P. aeruginosa* lung infection. *J. Antimicrob. Chemother*, 1987; 19: 831-838.
8. Kerem BS et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*, 1989; 245: 1073-1080.
9. Le Popi - guide de traitement. 6<sup>ème</sup> édition, 1999.
10. Modai J et al. Antibioticoterapie des infections a *P. aeruginosa*. *Press Med*, 1986; 15: 1417-1420.
11. Read RC, Morrissey I. *Clinician's manual on respiratory tract infections and fluoroquinolones*; Science & Press, 1997.
12. Scott J et al. Heart lung transplantation for cystic fibrosis. *Lancet*, 1988; 2: 192-194.
13. *The Sanford - guide to antimicrobial therapy*; thirty - first edition, 2001.
14. Donowitz GR, Mandell GL. Acute pneumonia. Chapter 57. Cystic fibrosis. Chapter 61. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. Fifth edition, 2000; 717-74 / 767-772.
15. Gehano P, Leophonte P. *Infections des voies respiratoires hautes et basses*. Edition nouvelle, 1997, pag 193-205.
16. Sermet-Gaudelus et al. Mucoviscidose: physiopathologie, genetique, aspects cliniques et therapeutiques. *Encycl Med Chir, Pediatrie*, 4-060-P-10, 2002, 23 p.
17. Vankeerberghen A et al. The cystic fibrosis transmembranar conductance regulator. *Journal of Cystic Fibrosis* 2002; 1: 13-29.
18. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993; 73: 1251-1254.
19. Roussey M. Circonstances diagnostiques et depistage neonatal. *Rev Prat*, 2002.
20. Roussey M. La mise en place du depistage neonatal de la mucoviscidose en France. *Reference Mucoviscidose* 2002; 7: 35-39.

21. Guillot M. *Depistage neonatal systematique*. *Arch Pediatr* 2001; 8: 833-837.
22. Mongodin E. *Fibronectin-binding proteins of Staphylococcus aureus are involved in adherence to human airway epithelium*. *Infect Immun* 2002; 70: 620-630.
23. Huang NN. *Clinical features, survival rate, and prognostic factors in young adults with cystic fibrosis*. *Am J Med* 1987; 82: 871-879.
24. Govan JR. *Microbiology of lung infection in cystic fibrosis*. *Br Med Bull* 1992; 48: 912-930.
25. Ratjen F. *Effect of continuous antistaphylococcal therapy on the rate of P. aeruginosa acquisition in patients with cystic fibrosis*. *Pediatr Pulm* 2001;31: 13-16.
26. Marks MI. *Clinical significance of Staphylococcus aureus in cystis fibrosis*. *Infection* 1990; 18: 53-56.
27. Rao G. *MRSA in cystic fibrosis*. *J Hosp Infect* 1998; 40: 179-191.
28. Pier GB. *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is an epithelial cell receptor for clearance of P. aeruginosa from the lung*. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1997; 94: 12088-12093.
29. Goldberg JB. *The role of the CFTR in susceptibility to P. aeruginosa infections in cystic fibrosis*. *Trends Microbiol* 2000; 8: 514-520.
30. Schroeder TH. *Transgenic cystic fibrosis mice exhibit reduced early clearance of P. aeruginosa from the respiratory tract*. *J Immunol* 2001; 166: 7410-7418.
31. Goldberg JB. *The role of the CFTR in susceptibility to P. aeruginosa infections in cystic fibrosis*. *J Microbiol*, 2001; 5: 236-241.
32. Gerceker AA. *Impact of heterogeneity within cultured cells on bacterial invasion*. *Infect Immun* 2000; 68: 861-870.
33. Parad RB. *Pulmonary outcome in cystic fibrosis is influenced primarily by mucoid P. aeruginosa infection and immune status and only modestly by genotype*. *Infect Immun* 1999; 67: 4744-4750.
34. Kammouny W. *Altered cytokine production by cystic fibrosis tracheal gland serous cells*. *Infect Immun* 1997; 65: 5176-5183.
35. Tabary O. *Selective up-regulation of chemokine IL8 expression in cystic fibrosis bronchial gland cells in vivo and in vitro*. *Am J Pathol* 1998; 153: 921-930.
36. Tabary O. *Genistein inhibits constitutive and inducible NF-kappaB activation and decreases IL8 production by human cystic fibrosis bronchial gland cells*. *Am J Pathol* 1999; 155: 473-481.
37. Tabary O. *Relationship between I-kappaB-alpha deficiency, NF-kappaB activity and interleukin-8 production in CF human airway epithelial cells*. *Pflugers Arch* 2001; 443: S40-4.
38. Prakobphol A. *Separate oligosaccharide determinants mediate interactions of the low-molecular-weight salivary mucin with neutrophils and bacteria*. *Biochemistry* 1999; 38: 6871-6825.
39. Verman EC. *Binding of human high-molecular-weight salivary mucins (MG1) to Haemophilus parainfluenzae*. *J Dent Res* 1995; 74: 351-357.
40. Simth JJ. *Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid*. *Cell* 1996; 85: 229-236.
41. Knowles MR. *Ion composition of airway surface liquid of patients with cystic fibrosis as compared with normal and disease-control subjects*. *J Clin Invest* 1997; 100: 2588-2595.
42. Schroeder TH. *Lack of adherence of clinical isolates of P. aeruginosa to asialo-GM1 on epithelial cells*. *Infect Immun* 2001; 69: 719-729.
43. Scharfman A. *Adhesion of P. aeruginosa to respiratory mucins and expresion of mucin-binding proteins are increased by limiting iron during growth*. *Infect Immun* 1996; 64: 5417-5420.
44. Govan JR. *Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid P. aeruginosa and Burkholderia cepacia*. *Microbiol Rev* 1996; 60: 539-574.
45. Moss RB. *Association of systemic immune complexes, complement activation and antibodies to P. aeruginosa lipopolysaccharide and exotoxin A with mortality in cystic fibrosis*. *Am Rev Respir Dis*; 133: 648-652.
46. Marty N. *Effects of characterised P aeruginosa exopolysaccharides on adherence to human tracheal cells*. *J Med Microbiol* 1998; 47: 129-134.
47. Baltimore RS. *Immunologic investigations of mucoid strains of P. aeruginosa: comparison of susceptibility to opsonic antibody in mucoid and nonmucoid strains*. *J Infect Dis* 1980; 141: 238-247.
48. Simpson JA. *Alginate inhibition of the uptake of P. aeruginosa by macrophages*. *J Gen Microbiol* 1998; 134: 29-36.

49. Nevens DE. Role of alginate and its O acetylation in formation of *P. aeruginosa* microcolobnies and biofilms. *J bacteriol* 2001; 183: 1047-1057.
50. Meluni GJ. Mucoid *P aeruginosa* growing in a biofilm in vitro are killed by opsonic antibodies to the mucoid exopolysaccharide capsule but not by antibodies produced during chronic lung infection in cystic fibrosis. *J Immunol* 1995; 147: 559-567.
51. Broun A.A dose response study of antibiotic resistance in *P. aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 640-646.
52. Isles A. *Pseudomonas cepacia* infection in cystic fibrosis: an emerging problem. *J Pediatr* 1984; 104: 206-210.
53. Lipuma JJ. An epidemic *Burkholderia cepacia* complex strain identified in soil. *Lancet* 2002; 259: 2002-2003.
54. Saiman L. Identification and antimicrobial susceptibility of *Alcaligenes xylosoxidans* isolated from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3942-3945.
55. Mooney L. A survival of *Stenotrophomonas maltophilia* following exposure to concentrations of tobramycin used in aerosolized therapy for cystic fibrosis patients. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 63-66.
56. Coenye T. Description of *Pandora* gen. *Int J Syst Evol Microbiol* 2000; 50: 887-899.
57. Cullen AR. *Mycobacterium abscessus* infection in cystic fibrosis. Colonization or infection? *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 6: 397-398.
58. Hodson ME. Aerosol carbapenem and gentamycin treatment of *P. aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Lancet* 1981; 8256: 1137-1379.
59. Ramsey B. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1999; 340: 23-30.
60. Pai VB. Efficacy and safety of aerosolized tobramycin in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2001; 32: 314-327.
61. Doring G. Antibiotic therapy against *P. aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J* 200; 16: 749-767.
62. Bonacorsi S. Comparative in vitro activities of meropenem, imipenem, temocilin, piperacilin and ceftazidim in combination with tobramycin, rifampicin or ciprofloxacin against *Burkholderia cepacia* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 213-217.
63. Ianaro A. Antiinflammatory activity of macrolide antibiotics. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 156-163.
64. Molinari G. Inhibition of *P. aeruginosa* virulence factors by subinhibitory concentrations of azithromycin and other macrolides. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 681-688.
65. Tateda K. Direct evidence for *P. aeruginosa* activity of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2271-275.