



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57622 (13) U
(51) МПК (2011.01)
G01N 33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЕМПІРИЧНОЇ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ НИЖНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

1

2

(21) u201008745

(22) 13.07.2010

(24) 10.03.2011

(46) 10.03.2011, Бюл.№ 5, 2011 р.

(72) КОЛЯДА ТЕТЯНА ІВАНІВНА, БРУСНІК СВІТЛАНА ВАСИЛІВНА, КОЛЯДА ОЛЕГ МИКОЛАЙОВИЧ, КРЕСТЕЦЬКА СВІТЛАНА ЛЕОНІДІВНА, НЕСТЕРЕНКО АНАСТАСІЯ МАРКІВНА, МИХАЙЛИЧЕНКО МАРИНА СЕРГІЙВНА, КУЧМА ІРИНА ЮРІЙВНА, ВОЛЯНСЬКИЙ АНДРІЙ ЮРІЙОВИЧ, МАРТИРОСЯН ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ЛАХМАН СЕРГІЙ МИХАЙЛОВИЧ, БОЖКО МАРИНА ГЕННАДІЙВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ МІКРО-

БІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І.І. МЕЧНИКОВА АМН УКРАЇНИ"

(57) Спосіб прогнозування ефективності емпіричної антибіотикотерапії інфекційно-запальних захворювань нижніх дихальних шляхів із застосуванням як критерію, що підтверджує бактерійну етіологію процесу, сироваткового рівня прокальцитоніну, який **відрізняється** тим, що додатково використовується показник sTREM, при цьому прогнозування вірогідності позитивного ефекту здійснюється за умови, якщо рівень PCT > 0,25 нг/мл, а при PCT < 0,25 нг/мл за умови, якщо сироваткова концентрація sTREM < 0,4 нг/мл.

Корисна модель відноситься до медицини, зокрема до пульмонології та може бути використана для підвищення ступеню обґрунтованості призначення антибіотиків пацієнтам з інфекційними запальними захворюваннями нижніх дихальних шляхів (НДШ).

Гострий бронхіт, загострення хронічного обструктивного захворювання легень і пневмонія належать до основних причин виникнення бактеріального сепсису в шпитальних умовах та є найбільш вагомим і розповсюдженим приводом для призначення антибіотиків. При цьому відомо, що значна частина вказаних процесів має вірусну етіологію з цілком прогнозованим рівнем ефективності застосування антибактерійних засобів.

Загальновідомі негативні ефекти емпіричної антибіотико-терапії як на індивідуальному, так і на популяційному рівні. Однак, широке застосування такої практики при лікуванні інфекцій нижніх дихальних шляхів зумовлено цілою низкою об'єктивних причин. Діагностична цінність культуральних методів бактеріологічного дослідження мокротиння досить низька і завжди подовжена в часі. Кваліфіковане отримання біоматеріалу для мікробіологічного дослідження безпосередньо з нижніх дихальних шляхів являє собою досить складну

процедуру, та передбачає застосування інвазивних маніпуляцій. При цьому, навіть за наявності такої можливості, вилучення та ідентифікація культури потенційно патогенних бактерій не завжди свідчить про її етіологічне значення, а у 30-50% випадків бактеріологічне дослідження бронхоальвеолярного лаважного біоматеріалу дає негативні результати (стан класифікується, як «інфекційний процес, викликаний невизначеним патогеном»). Як наслідок, - антибіотики призначаються фактично з профілактичною ціллю, без достатньої інформації щодо видової приналежності та профілю чутливості збудника до протимікробних засобів.

Відповідно до діючої в Україні нормативно-методичної документації [1] при виборі засобу протимікробної терапії рекомендовано орієнтуватися, на вік пацієнта, частоту загострень запальних захворювань НДШ впродовж останнього року, наявність супутньої патології та рівень показника ОФВ. Цілком очевидно, що застосування більш адекватних критеріїв оцінки ступеню імовірності бактерійної етіології гнійно-запального процесу здатне суттєво підвищити ступінь обґрунтованості та, відповідно, адекватності і ефективності застосування антибактерійних препаратів.

(19) UA (11) 57622 (13) U

Відомо використання в якості таких критеріїв гострофазових показників, зокрема С-реактивного білку (CRP) [2] та інших пентраксинів [3]. CRP продукується гепатоцитами під впливом цілого арсеналу медіаторів запалення, зокрема у відповідь на стимуляцію IL-6, продукція якого зростає у відповідь на агресію патогену. Рівень CRP більш суттєво підвищується на тлі бактерійної інфекції (у порівнянні з вірусною) та при системному процесі (у порівнянні із локалізованим). До позитивних якостей цього маркера належить стабільність CRP *in vivo* та *ex vivo*, значно вища тривалість його циркуляції та відсутність суттєвих коливань денного рівня у порівнянні з сироватковими цитокинами. До причин, що заважають отриманню бажаного технічного результату, в способах, які передбачають використання CRP для оцінки вірогідності бактерійної природи процесу, належить низький рівень специфічності та, відповідно, дискримінативної здатності цього показника. Крім того, зростання рівня CRP відбувається поступово, з піком на 2-3 добу з моменту прояву інфекційного процесу.

Відомий спосіб прогнозування ефективності антибіотикотерапії у пацієнтів з захворюваннями НДШ, що передбачає використання в якості маркера наявності бактерійної інфекції рівню сироваткового прокальцитоніну (PCT) [2,4,5,6]. Прокальцитонін являє собою пептидний прекурсор тиреоїдного гормону кальцитоніну. В фізіологічних умовах PCT продукується виключно С-клітинами щитоподібної залози. Його нормальна сироваткова концентрація знаходиться в межах 0,01-0,1 нг/мл, однак, на тлі бактерійних інфекцій з важким перебігом та деяких інших форм запалення, експресія цього білка спостерігається в нейроендокринних клітинах ряду паренхіматозних органів та тканин (легенів, печінки, надниркових залоз, підшлункової залози). Таке розширення кола продуцентів PCT супроводжується швидким та стійким зростанням його рівня в десятки, а при септичних станах - в сотні разів. Механізм такої індукції експресії в процесі розвитку інфекційного процесу остаточно поки що не з'ясовано, однак доведено, що вона може відбуватися як безпосередньо під впливом бактерійних ендотоксинів, ліпополісахаридів та цільних мікробних тіл, так і опосередковано - під впливом медіаторів гуморальної або клітинної імунної відповіді (IL-1b, TNF- α , IL-2 та IL-6). При цьому окремі цитокини, що продукуються під час вірусної інфекції, зокрема IFN- γ , пригнічують цю індукцію, що, у порівнянні з CRP, забезпечує більш високу специфічність при диференціюванні бактерійних та вірусних інфекцій НДШ [2,6]. Фахівцями базельського університетського шпиталю (Швейцарія) запропоновано наступну шкалу імовірнісної оцінки наявності бактерійної етіології процесу та доцільності застосування антибактерійної терапії у пацієнтів з інфекціями нижніх ділянок респіраторного тракту [6]:

- при значенні <0,1 нг/мл надається висновок про відсутність бактерійної інфекції та недоцільність початку або продовження курсу антибіотикотерапії; антибіотики можуть бути призначені пацієнтам у критичному стані; якщо антибіотик вже призначено, то при збереженні рівня PCT <0,1

нг/мл курс достроково припиняють на 1-3 день від його початку;

- при значенні PCT в діапазоні 0,1-0,25 нг/мл роблять висновок про низьку вірогідність бактерійної інфекції; антибіотики можуть бути призначені пацієнтам, що належать до групи високого ризику; якщо антибіотик призначено - показано раннє переривання курсу за умови відсутності зростання рівня прокальцитоніну;

- рівень PCT між 0,25-0,5 нг/мл свідчить про імовірну наявність бактерійної інфекції та доцільність початку або продовження антибіотикотерапії;

- рівень PCT >0,5 мкг/л розцінюється як маркер наявності бактерійної інфекції та чітко показання щодо початку або продовження курсу антибіотикотерапії.

Метод апробовано в клінічних дослідженнях „ProCAP” та „ProRESP” [5,6], в межах яких було досягнуто 50 % зниження частоти призначення антибіотиків у пацієнтів із запальними захворюваннями нижніх ділянок респіраторного тракту в групі з низькими показниками прокальцитоніну, у порівнянні з групою контролю, при аналогічних показниках клінічної ефективності застосованих терапевтичних схем.

До позитивних якостей методу слід віднести той факт, що лабораторна процедура з використанням стандартної тест-системи (Kryptor PCT; Brahms, Hennigsdorf, Germany) триває менше 20 хвилин, результати вже доступні для аналізу за годину, що робить цей показник досить зручним інструментом для клінічного моніторингу. Однак, попри наявність статистично значимої асоціації з бактерійною інфекцією, підйом рівня прокальцитоніну (так саме, як і CRP) відбувається під впливом досить широкого спектру медіаторів запального процесу, в значній мірі залежить від стану індивідуальної реактивності організму та чітко корелює зі ступенем важкості перебігу. Крім того показано [7], що при інфекціях, обумовлених атипичними бактеріями патогенами (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* and *Legionella pneumophila* *Mycobacterium*) значного підйому рівня прокальцитоніну не спостерігається. Наявність такої вибіркості знижує рівень чутливості методу за рахунок підвищення вірогідності отримання хибно негативних результатів.

Найближчим аналогом способу, що заявляється, є "Спосіб підтвердження бактерійної інфекції у дітей раннього віку з пневмоніями" [8], за яким аналізуються показник фагоцитарної активності нейтрофілів (HCT-тест) та рівень CRP. Бактеріальний характер процесу діагностується при значенні HCT ≥ 17 % та CRP ≥ 10 мг/мл. Спільними ознаками з рішенням, що заявляється, є використання комплексу маркерів активації імунної системи, зокрема гострофазового біологічного маркера та показника активації фагоцитів.

Причинами, що заважають отриманню бажаного технічного результату, є недостатньо високий рівень специфічності, що забезпечується при використанні CRP, а також суттєва залежність стану метаболічної активності нейтрофільних лейкоцитів від вихідного рівня імунологічної резистентності організму, що зумовлює низький рівень інформа-

тивності цього показника у дорослих, та, особливо, у людей похилого віку.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб прогнозування ефективності емпіричної антибактерійної терапії гострих запальних захворювань НДШ, в якому за рахунок застосування PCT в комплексі з маркером атипової бактерійної інфекції забезпечити підвищення чутливості та дискримінативного потенціалу методу.

Поставлена задача вирішується в наступний спосіб.

Пацієнту з гострим запальним процесом НДШ I-III ступеню важкості перед прийняттям рішення про початок антибактерійної терапії проводять дослідження сироваткового рівня прокальцитоніну:

- при значенні PCT $>0,25$ нг/мл роблять висновок про доцільність початку або продовження курсу антибіотикотерапії;
- при значенні PCT $<0,25$ нг/мл додатково проводять визначення сироваткового рівня sTREM (triggering receptor expressed on myeloid cells);
- при значенні sTREM-1 $<0,4$ нг/мл прогнозують високу імовірність приналежності етіологічного чинника до атипових бактерійних збудників, та, відповідно, потенційну ефективність відповідних антибіотиків;
- при значенні sTREM-1 $>0,4$ нг/мл прогнозують високу імовірність вірусної етіології процесу та, відповідно, низький рівень ефективності антибактерійної терапії.

До суттєвих ознак способу, що заявляється належить використання в якості прогностичних критеріїв граничних рівней сироваткових концентрацій PCT $0,25$ нг/мл та sTREM-1 $0,4$ нг/мл.

Застосування та параметри прогностичного значення рівню прокальцитоніну відповідають таким, що належать до існуючого рівня техніки та пройшли клінічну апробацію.

Сироватковий рівень sTREM-1 використано в якості критерію, що дозволяє оцінити вірогідність наявності бактерійної інфекції, викликаній атиповими збудниками, та, відповідно, підвищити ступень достовірності прогнозу, що забезпечується дослідженням рівня прокальцитоніну. Цей рецептор експресується на поверхні фагоцитів (нейтрофілів, CD 14 моноцитів та макрофагів) і відіграє важливу роль на ранніх етапах розвитку запальної відповіді: рівень його експресії швидко та суттєво зростає при інфекціях, викликаних позаклітинними мікроорганізмами; активація sTREM-1 призводить до фосфорилування DAP 12, мобілізації внутрішньоклітинного кальцію, секреції медіаторів запалення та супроводжується скиданням рецепторних структур з відповідним зростанням їх сироваткової концентрації [9]. Показано, що на тлі інфекцій, викликаних атиповими збудниками рівень цього показника є достовірно нижчим у порівнянні з процесами, викликаними типовими позаклітинними бактеріями [10]. Дискримінативна здатність цього показника при використанні в якості кордонного значення sTREM-1 $44,2$ pg/mL забезпечує високі показники чутливості (80 % і вище) та специфічності (79 % і вище) методу. В наших дослідках показник позитивної імовірності сягав 3.79, негативної імовірності - 0.24.

Проведені власні дослідження підтверджують придатність вказаної комбінації біологічних маркерів (PCT та sTREM-1) та обраних діапазонів значень для експресної оцінки етіології інфекційно-запальних захворювань НДШ та, відповідно, прогнозування ефективності антибіотикотерапії.

Таким чином, наведені суттєві ознаки мають безпосередній причинно-наслідковий зв'язок з технічним результатом (достовірністю прогнозу ефективності емпіричної антибіотикотерапії), є необхідними і достатніми для здійснення способу, що заявляється.

До інших, відомих заявнику позитивних ефектів використання корисної моделі, що заявляється, слід віднести підвищення рівня обґрунтованості прийняття рішення при виборі препарату для емпіричної етіотропної терапії.

Можливість здійснення корисної моделі підтверджують дані, наведені в прикладах.

Приклад 1

Пацієнт А., 1972 року народження поступив в стаціонар на 6 добу після початку захворювання зі стійким субфібрилітетом, скаргами на головний біль, непродуктивний кашель, біль за грудиною, що підсилюється під час кашлю, слабкість. При фізикальному обстеженні виявлено помірно виражені ознаки наявності синдрому консолідації легеневої паренхіми в ділянці середньої долі правого легена (вкорочення перкуторного звуку та аускультативне послаблення дихання). Рентгенографічно виявлено незначне підсилення легеневого малюнку в медіальному сегменті середньої долі правого легена.

Діагноз: правостороння середньо-дольова сегментарна пневмонія, (етіологічний діагноз за МКХ-10: J15.9 Бактеріальна пневмонія неуточнена)

Дані лабораторного обстеження:

Клінічний аналіз крові: еритроцити - $3,8 \cdot 10^{12}/л$, Hb - $120 г/л$, лейкоцити - $4,6 \cdot 10^9/л$ (п/я - 5%; с/я - 67%; еозинофіли - 6%), тромбоцити - $230 \cdot 10^9/л$, ШОЕ - 26 мм/час.

C-РБ ++

PCT - $0,23$ нг/мл

sTREM - $0,29$ нг/мл

За результатами дослідження рівней PCT ($<0,25$ нг/мл) та sTREM ($<0,4$ нг/мл) зроблено висновок про високу імовірність приналежності етіологічного чинника до атипових бактерійних збудників, у зв'язку з чим в якості засобу етіотропної терапії обрано азитроміцин по 500 мг/добу протягом 7 діб. Крім того проводилась дезінтоксикаційна терапія, призначено бронхолітичні та муколітичні засоби.

На третю добу від початку антибіотикотерапії спостерігалась нормалізація температури тіла та позитивна динаміка в клінічній симптоматиці. При контрольній рентгенографії на 12 добу перебування пацієнта в стаціонарі ознак наявності запально-го процесу в легенях не зафіксовано.

Серологічне дослідження сироватки крові дозволило виявити 4-кратне зростання титрів IgM та більш ніж 7-кратне зростання титрів IgA, специфічних по відношенню до *Mycoplasma pneumoniae* вже в перші 2 тижня перебування пацієнта в стаці-

онарі.

Уточнений етіологічний діагноз за МКХ-10: J15.7 Пневмонія, викликана *Mycoplasma pneumoniae*.

Наведений приклад підтверджує придатність запропонованого способу для диференційної діагностики бактерійних пневмоній, викликаних типовими та атиповими збудниками, з відповідним підвищенням ступеню обґрунтованості вибору засобу етіотропної терапії та прогнозованості її ефективності.

Приклад 2

Пацієнтка Б., 1952 року народження поступила в стаціонар з гіпертермією (40,5°C), кашлем зі скудним серозним мокротинням, скаргами на головний біль, задишку, слабкість, запаморочення.

Об'єктивно: частота дихання 29/хв., гіпотонія (100/60), шкірні покриви бліді, акроціаноз, аускультативно в нижніх відділах легень відзначається ослаблене дихання. Перкуторних та аускультативних ознак фокальних вогнищево-інфільтраційних змін в легенях не виявлено.

Рентгенографія: дрібноочагові (ацинозні) затемнення в нижніх долях обох легень.

Діагноз: двостороння нижньодольова інтерстиціальна пневмонія. (Етіологічний діагноз за МКБ-10: J18: Пневмонія без уточнення збудника)

Дані лабораторного обстеження:

Клінічний аналіз крові: еритроцити - $3,8 \cdot 10^{12}/л$, Hb - 120г/л, лейкоцити - $10,6 \cdot 10^9/л$ (п/я - 7%; с/я - 53%; лімфоцити - 36%), тромбоцити - $210 \cdot 10^9/л$, ШОЕ - 33 мм/час.

СРБ ++

PCT - 0,24 нг/мл

sTREM - 0,56 нг/мл

За результатами дослідження рівней PCT (<0,25 нг/мл) та sTREM (>0,4нг/мл) зроблено висновок про високу імовірність вірусної природи процесу, та спрогнозовано низький рівень ефективності антибіотикотерапії. Тим не менш, у відповідності зі стандартним протоколом ведення пацієнтів з негоспітальними пневмоніями та з урахуванням ступеню важкості перебігу захворювання призначено захищені амінопеніциліни (амоксиклав внутрішньовенно по 1,2 г 3 р/д протягом 5 діб) в комбінації з макролідом (азитроміцин перорально один раз на добу 0,5 г в перший день, по 0,25 г з другого по п'ятий). Крім того проводилась дезінтоксикаційна терапія, призначено нестероїдні протизапальні, бронхолітичні та муколітичні засоби. Оцінка ефективності антибіотикотерапії через 48 годин після її початку дала негативні результати: позитивної динаміки не спостерігалось ані в клінічній симптоматиці, ані в лабораторних показниках. Середня добова температура тіла на тлі прийому НПВЗ 38,5°C, ЧД 29/хв., гіпотонія (90/60), шкірні покриви бліді, акроціаноз, аускультативно в нижніх відділах легень ослаблене дихання з незначною кількістю глухих та вологих хрипів та крипітацією. Болісний приступоподібний кашель, мокротиння слизово-гнійне.

Клінічний аналіз крові:

еритроцити - $3,4 \cdot 10^{12}/л$, Hb - 102 г/л, лейкоцити - $14,6 \cdot 10^9/л$ (п/я - 9%; с/я - 54%; лімфоцити - 31; ШОЕ - 36 мм/час.

СРБ +++

PCT - 0,51 нг/мл

За результатами спостереження за станом пацієнта та даними лабораторних досліджень (зокрема зростання рівня PCT вище 0,25 нг/мл) зроблено висновок про високу імовірність приєднання бактерійної інфекції, резистентної до дії застосованої комбінації антибіотиків, у зв'язку з чим для продовження антибіотикотерапії обрано фторхінолон IV покоління моксифлоксацин (внутрішньовенні інфузії 400 мг 1 р/д протягом 10 діб).

На третю добу від моменту внесення корекції в терапевтичну схему почали з'являтися ознаки позитивної клінічної динаміки: середня добова температура тіла на тлі прийому НПВЗ 37,5°C, ЧД 26/хв., артеріальний тиск (110/70), кашель вологий із великою кількістю мокротиння без ознак гнійності. Після закінчення курсу терапії контрольна торакальна рентгенограма ознак наявності запального процесу не виявила.

Перелік посилань

1. Клінічні протоколи надання допомоги за спеціальністю "Пульмонологія", затверджені наказом МОЗ УКРАЇНИ N 128 від 19.03.2007.

2. Simon L., Gauvin F., Amre D.K., Saint-Louis P., Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. //Clin. Infect. Dis. - 2004. - 39. - P.206-217.

3. Long pentraxin 3 in pulmonary infection and acute lung injury. Xiaolin He, Bing Han, Mingyao Liu // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. - 2007. - V 292. - P. L1039-L1049; doi:10.1152/ajplung.00490.2006.

4. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. Lancet 2004; 363:600-607.

5. Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R et al. Procalcitonin for discontinuation of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia-a randomized trial. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174: 84-93.

6. Markers of acute inflammation in assessing and managing lower respiratory tract infections: focus on procalcitonin B. Mullerl, C Prat // Clin Microbiol Infect 2006; 12 (suppl 9): 8-16

7. Prat C, Dominguez J, Andreo F et al. Procalcitonin and neopterin correlation with aetiology and severity of pneumonia. Ill Infect. - 2006. - 52. - P. 169-177.

8. Патент №49200 (UA) МПК (2006) G01N 33/50. Спосіб підтвердження бактерійної інфекції у дітей раннього віку з пневмоніями. Винахідник/Заявник: ІВАНОВА ЛОРИНА АЛІМІВНА. Заявка № 2001074594 від 03.07.2001. Опубліковано: 16.09.2002, бюл.№ 9.

9. Activation of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 on human neutrophils by marburg and ebola viruses. Mohamadzadeh M, Coberley SS, Olinger GG, Kalina WV, Ruthel G, Fuller CL, Swenson DL, Pratt WD, Kuhns DB, Schmaljohn AL.// J Virol. - 2006. - V 80(14). - N7 P.235-244.

10. Usefulness of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in differentiating between typical

and atypical community-acquired pneumonia//
Chorng-Kuang How, Sen-Kuang Hou, Hsin-Chin Shih
MD,, David Hung-Tsang Yen MD, Chun-I Huang,

Chen-Hsen Lee, Gau-Jun Tang // The American
Journal of Emergency Medicine// Article in Press,
Corrected Proof/doi:10.1016/j.ajem.2010.01.010.