

Эффективность левофлоксацина, ломефлоксацина и моксифлоксацина в сравнении с другими фторхинолонами при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной FI⁺ и FI⁻ штаммами возбудителя

И. В. РЫЖКО, Р. И. ЦУРАЕВА, Б. И. АНИСИМОВ, А. В. ТРИШИНА

Научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону

Efficacy of Levofloxacin, Lomefloxacin and Moxifloxacin vs. Other Fluoroquinolones in Experimental Plague Due to FI⁺ and FI⁻ Strains of *Yersinia pestis* in Albino Mice

I. V. RYZHKO, R. I. TSURAEVA, B. I. ANISIMOV, A. V. TRISHINA

Research Plague Institute, Rostov-on-Don

Изучена активность левофлоксацина, ломефлоксацина и моксифлоксацина в отношении 20 FI⁺ и 20 FI⁻ штаммов *Yersinia pestis*. Установлено, что все использованные в опытах штаммы высокочувствительны к фторхинолонам. При подкожном заражении мышей суспензией штаммов *Y.pestis* 231 FI⁺ и 231 FI⁻ в дозе примерно 1000 ЛД₅₀ (10⁴ микр. кл.) значения ЭД₅₀ левофлоксацина и моксифлоксацина составляли 5,5–14,0 мг/кг вне зависимости от фенотипа заражающей культуры, а ломефлоксацина — 18,5 мг/кг. Оценка влияния заражающих доз возбудителя на эффективность терапии экспериментальной чумы при использовании лечебной дозы, эквивалентной человеческой дозе, показала высокую эффективность фторхинолонов (индекс эффективности — 10⁴). Лечение инфекции в течение 7 дней обеспечивало выживание 90–100% животных. Профилактическое применение ломефлоксацина (через 5 ч — 5 сут) оказалось менее эффективным (70–80% выживших мышей) при инфекции, вызванной антигенизменённым (FI⁻) вариантом возбудителя. Левофлоксацин и моксифлоксацин обеспечивали 90–100% выживаемость животных при 5-суточном курсе независимо от фенотипа инфицирующего штамма возбудителя. Исследование показало перспективность применения левофлоксацина, ломефлоксацина и моксифлоксацина для профилактики и лечения экспериментальной чумы.

Ключевые слова: экспериментальная чума, белые мыши, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин.

Activity of levofloxacin, lomefloxacin and moxifloxacin against 20 FI⁺ and 20 FI⁻ strains of *Yersinia pestis* was studied. It was shown that the strains were highly susceptible to the fluoroquinolones. In the experiments on mice subcutaneously infected with suspension of strains 231 FI⁺ and 231 FI⁻ of *Y.pestis* in a dose of about 1000 LD₅₀ (10⁴ microbial cells) the ED₅₀ of levofloxacin and moxifloxacin was 5.5–14.0 mg/kg independent of the infective culture phenotype and that of lomefloxacin was 18.5 mg/kg. Estimation of the impact of the pathogen infective dose value on the results of the experimental plague treatment with the therapeutic dose equivalent to the human one showed high efficacy of the fluoroquinolones (efficacy index of 10⁴). The treatment for 7 days provided 90–100-percent survival of the animals. The prophylactic use of lomefloxacin (in 5 hours — 5 days) was less efficient (70–80% of the survivals) in the animals infected with the antigen-changed (FI⁻) variant of the pathogen. Levofloxacin and moxifloxacin provided 90–100-percent survival of the animals treated for a course of 5 days independent of the pathogen phenotype. The study demonstrated that the use of levofloxacin, lomefloxacin and moxifloxacin was prospective for the prophylaxis and therapy of experimental plague.

Key words: experimental plague, albino mice, levofloxacin, lomefloxacin, moxifloxacin.

Введение

Фторхинолоны в настоящее время широко используются в клинике для лечения инфекций различной этиологии. Эффективность ципрофлоксацина, пефлоксацина и офлоксацина [1, 2] показана при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной вирулентными штаммами

возбудителя, как полноценными в антигенном отношении (FI⁺ фенотип), так и утратившими способность продуцировать капсульный антиген — фракцию I (FI⁻ фенотип). Высокая эффективность ципрофлоксацина в экспериментах с подкожным и аэрогенным заражением животных доказана и зарубежными исследователями [3, 4]. Есть сведения об успешном использовании ципрофлоксацина в комплексном лечении больных чумой [5, 6].

© Коллектив авторов, 2009

Адрес для корреспонденции: 344002 Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. РостНИПЧИ

Таблица 1. Сравнительные данные определения значений ЭД₅₀ фторхинолонов при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной изогенными штаммами чумного микроба с FI⁺ и FI⁻ фенотипом

Антибактериальный препарат	Суточная доза препарата		<i>Y.pestis</i> 231, фенотип	
	мг/мышь	мг/кг	FI ⁺ значение ЭД ₅₀ , доверительный интервал, мг/кг	FI ⁻
Ломефлоксацин	0,06-0,125-0,25-0,5	3,0-6,25-12,5-25,0	4,0 (1,25÷10,0)	18,5 (10÷60)
Левифлоксацин	0,06-0,125-0,25-0,5	3,0-6,25-12,5-25,0	7,5 (не опр.)	7,0 (не опр.)
Моксифлоксацин	0,125-0,25-0,5-1,0	6,25-12,5-25,0-50,0	5,5 (не опр.)	14 (3,5÷28,5)
Ципрофлоксацин	0,04-0,08-0,16-0,32	2,0-4,0-8,0-16,0	2,0 (1,5÷3,0)	7,0 (5,0÷9,0)
Офлоксацин	0,06-0,125-0,25-0,5	3,0-6,25-12,5-25,0	4,0 (1,25÷10,0)	7,0 (5,0÷9,0)
Пефлоксацин	0,125-0,25-0,5-1,0	6,25-12,5-25,0-50,0	19,0 (15,0÷25,0)	29,0 (21,0÷37,0)

Высокая эффективность фторхинолонов и их доступная стоимость делают эту группу препаратов наиболее перспективной для обеспечения медицинских учреждений резервом антибактериальных препаратов на случай возникновения заболеваний чумой естественного (занос инфекции, заражение в природных очагах чумы) и искусственного (биотерроризм) происхождения с угрозой её антропогенного распространения (МУ 3.4.1030-01).

Эффективность более новых представителей фторхинолонов — левифлоксацина, ломефлоксацина и моксифлоксацина при чумной инфекции не изучена. Вышеперечисленные препараты могут расширить арсенал средств, используемых для экстренной профилактики и лечения чумы. Это очень важно, поскольку в последнее время все чаще встречаются сообщения о выделении от людей антибиотикорезистентных штаммов чумного микроба, включая обнаружение культур *Yersinia pestis* с R-плазмидами (incC, incP) множественной лекарственной устойчивости к стрептомицину, тетрациклину, канамицину, ампициллину, сульфаниламидам, спектиномицину [6].

Цель настоящего исследования — изучить антибактериальную активность ломефлоксацина, левифлоксацина и моксифлоксацина *in vitro* в отношении FI⁺ и FI⁻ штаммов чумного микроба и их эффективность в сравнении с другими фторхинолонами при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной возбудителем с разным фенотипом.

Материал и методы

Штаммы. В опытах *in vitro* использовали 20 штаммов *Y.pestis*, продуцирующих капсульный антиген FI⁺, и 20 штаммов с FI⁻ фенотипом. Для заражения белых мышей были взяты вирулентные изогенные штаммы возбудителя чумы — *Y.pestis* 231 и *Y.pestis* 231 FI⁻. Штамм *Y.pestis* 231 FI⁻ сохранил типичный плазмидный профиль, но стабильно утратил способность продуцировать FI антиген.

Антибиотики: ломефлоксацин (Searle, Франция), левифлоксацин (Hoechst, Германия), моксифлоксацин (Bayer, Германия), ципрофлоксацин (Bayer, Германия), офлоксацин (Hoechst, Германия), пефлоксацин (Reddy's Lab.LTD, Индия).

Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) препаратов определяли, используя метод двукратных серийных разведений антибактериальных веществ в агаре Хоттингера, рН 7,2±0,1. Посевная доза составляла $n \cdot 10^6$ КОЕ/мл по

отраслевому стандарту мутности. Оценку чувствительности проводили в соответствии с критериями, разработанными для семейства Enterobacteriaceae (МУК 4.2.1890-04).

Определение значений эффективной дозы для 50% животных (ЭД₅₀) антибактериальных препаратов [7] проводили на белых мышах, заражённых подкожно дозой 10⁴ микр. кл. (~1000 ЛД₅₀). Животных (по 6 мышей в группе) лечили 4 дозыми фторхинолонов (курс 5 дней). Продолжительность опыта — 30 суток с бактериологическим контролем излеченности.

Оценку влияния величины заражающей дозы возбудителя чумы (10¹-10²-10³-10⁴ микр. кл.) на эффективность профилактического применения антибактериальных препаратов изучали на белых мышах, используя одну лечебную дозу, эквивалентную среднесуточной дозе человека [8]. Контрольных животных, заражённых теми же дозами возбудителя, не лечили. Рассчитывали значения летальной дозы для 50% животных ЛД₅₀ культуры в опыте и контроле с последующим определением индекса эффективности (ИЭ), т. е. отношения значений ЛД₅₀ в опыте к значениям ЛД₅₀ в контроле.

Оценку терапевтической эффективности антибактериальных препаратов проводили на белых мышах, подкожно инфицированных взвесью суточной агаровой культуры в дозе 10⁴ микр. кл. (~1000 ЛД₅₀). С профилактической целью фторхинолоны применяли через 5 ч после заражения один раз в сутки (курс 5 дней), с лечебной — через 24 ч после инфицирования (курс 7 дней). Препараты вводили в дозах, соответствующих среднесуточным дозам человека. В каждой группе использовали по 20 животных. Срок наблюдения — 30 дней с бактериологическим контролем излеченности. Статистическую обработку результатов проводили по таблицам А. Я. Боярского [9].

В качестве дополнительного контроля санации макроорганизма от инфекта использовали внутрибрюшинное введение выжившим животным суспензии гидрокортизона (5 мг/мышь). Срок наблюдения — 14 сут.

Результаты и обсуждение

Изучение чувствительности к фторхинолонам 20 штаммов *Y.pestis* FI⁺ и 20 штаммов *Y.pestis* FI⁻ (включая 231 и 231 FI⁻) показало, что независимо от фенотипа все культуры возбудителя были высокочувствительны к ломефлоксацину и левифлоксацину. При этом значения МПК этих препаратов не отличались от МПК ципрофлоксацина (0,01—0,02 мг/л). Значения МПК офлоксацина составляли 0,04—0,08 мг/л, а пефлоксацина и моксифлоксацина оказались несколько выше — 0,16—0,32 мг/л.

В табл. 1 представлены значения ЭД₅₀ ломефлоксацина, левифлоксацина и моксифлоксацина в сравнении с ЭД₅₀ ципрофлоксацина, офлоксацина и пефлоксацина, полученные в опытах на белых мышах, подкожно инфицированных

Таблица 2. Сравнительная оценка индексов эффективности (ИЭ), обеспечиваемых профилактическим применением фторхинолонов при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной возбудителем с FI⁺ и FI⁻ фенотипом

Заражающая доза, микр. кл.	Антибактериальный препарат, длительность применения, курсовая доза	<i>Y.pestis</i> 231, фенотип					
		FI ⁺			FI ⁻		
		отношение числа павших мышей к числу зараженных	значение ЛД ₅₀ , микр. кл.	ИЭ	отношение числа павших мышей к числу зараженных	значение ЛД ₅₀ , микр. кл.	ИЭ
10 ¹	Ломефлоксацин, 5 сут., 125,0 мг	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴
10 ²		0/6			0/6		
10 ³		0/6			0/6		
10 ⁴		0/6			0/6		
10 ¹	Левифлоксацин, 5 сут., 125,0 мг	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴
10 ²		0/6			0/6		
10 ³		0/6			0/6		
10 ⁴		0/6			0/6		
10 ¹	Моксифлоксацин 5 сут., 100 мг	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴
10 ²		0/6			0/6		
10 ³		0/6			0/6		
10 ⁴		0/6			0/6		
10 ¹	Ципрофлоксацин, 5 сут., 100 мг	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴
10 ²		0/6			0/6		
10 ³		0/6			0/6		
10 ⁴		0/6			0/6		
10 ¹	Офлоксацин, 5 сут., 100 мг	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴	0/6	> 10 ⁴	10 ⁴
10 ²		0/6			0/6		
10 ³		0/6			0/6		
10 ⁴		0/6			0/6		
10 ¹	Контроль (без лечения)	4/4	3	—	3/4	5	—
10 ²		4/4			4/4		
10 ³		4/4			4/4		
10 ⁴		4/4			4/4		

~1000 ЛД₅₀ *Y.pestis* 231 и его изогенным вариантом 231 FI⁻. Значения ЭД₅₀ ломефлоксацина, ципрофлоксацина, пefлоксацина и моксифлоксацина для штамма возбудителя с FI⁻ фенотипом были выше, чем для исходного изогенного штамма, полноценного в антигенном отношении. Что касается левифлоксацина, то различий в его эффективности в зависимости от фенотипа заражающего штамма установлено не было. То же самое можно сказать и об офлоксацине (см. табл. 1). Необходимо подчеркнуть, что значения ЭД₅₀ (мг/кг) для всех, взятых для исследования препаратов, были на порядок ниже доз, эквивалентных суточным человекодозам.

Оценка влияния заражающих доз *Y.pestis* 231 FI⁺ и 231 FI⁻ (10¹-10²-10³-10⁴ микр. кл.) на индекс эффективности антибактериальных препаратов (ломефлоксацина, левифлоксацина, моксифлоксацина, ципрофлоксацина, офлоксацина), использованных в профилактике (начало лечения через 5 ч после заражения, курс 5 суток) в дозах, эквивалентных суточным человекодозам, вновь доказала высокую эффективность фторхинолонов (ИЭ был равен 10⁴) (табл. 2).

Заключительным этапом исследования явилось изучение эффективности ломефлоксацина, левифлоксацина и моксифлоксацина в профилактике и лечении экспериментальной чумы, вы-

званной подкожным заражением животных ~1000 ЛД₅₀ *Y.pestis* 231 FI⁺ и 231 FI⁻ (табл. 3). Использовали по две лечебные дозы каждого препарата. Ломефлоксацин в 5-дневной профилактике экспериментальной чумы белых мышей, вызванной исходным штаммом *Y.pestis* 231, защищал от гибели всех животных. При чуме, обусловленной штаммом возбудителя с FI⁻ фенотипом, профилактическая эффективность препарата несколько снижалась (70—80% выживших). Единичные животные гибли на 15—17-е сутки с выделением культуры. Обработка выживших животных гидрокортизоном (5 мг/мышь) показала отсутствие гибели животных в группах мышей, инфицированных штаммом *Y.pestis* 231. В группе белых мышей, заражённых ранее *Y.pestis* 231 FI⁻, отмечали после введения гидрокортизона гибель единичных животных (4%) с выделением культуры чумного микроба. Это свидетельствует о том, что применение ломефлоксацина в течение 5 дней не всегда приводит к полной эрадикации возбудителя чумы из организма животных, инфицированных *Y.pestis* 231 FI⁻, что требует удлинения курса профилактического применения минимум до 7 дней. Этот препарат сохранял высокую активность (100% выживших) при лечении (7 дней) экспериментальной чумы белых мышей независимо от фенотипа заражающего штамма (см. табл. 3).

Таблица 3. Эффективность профилактического и лечебного применения ломефлоксацина, левофлоксацина и моксифлоксацина при экспериментальной чуме белых мышей, вызванной ~1000 ЛД₅₀ изогенных штаммов чумного микроба 231 и 231 FI⁻

Препарат, способ применения	Суточная доза препарата		Штамм чумного микроба, фенотип	
	мг/мышь	мг/кг	231	231 FI ⁻
			число выживших мышей, % ±J ₉₅	
			Профилактика (курс 5 сут)	
Ломефлоксацин, внутрь	1,25	62,5	100	80±18
	2,5	125,0	100	70±21
Левофлоксацин, внутрь	1,25	62,5	100	90±14
	2,5	125,0	100	100
Моксифлоксацин, внутрь	1,0	50,0	100	100
	2,0	100,0	100	100
			Лечение (курс 7 сут)	
Ломефлоксацин, внутрь	1,25	62,5	100	100
	2,5	125,0	100	100
Левофлоксацин, внутрь	1,25	62,5	95±10	90±14
	2,5	125,0	100	100
Моксифлоксацин, внутрь	1,0	50,0	100	100
	2,0	100,0	100	100
Контроль без лечения			0 (3,8)	0 (5,1)

Левофлоксацин и моксифлоксацин в этих же условиях опыта оказались высокоэффективными препаратами в профилактике и лечении экспериментальной чумы белых мышей (90—100% выживших), заражённых как исходным штаммом чумного микроба, так и вариантом, утратившим способность продуцировать FI. Последующее введение гидрокортизона гибели животных не вызывало, культур возбудителя выделено не было.

Таким образом, фторхинолоны с пролонгированным характером действия — левофлоксацин, ломефлоксацин и моксифлоксацин могут служить альтернативой применению ципрофлоксацина, офлоксацина и пефлоксацина при угрозе антропогенного распространения чумы. Левофлоксацин и моксифлоксацин эффективнее ломефлоксацина при экспериментальной чуме белых мышей, обусловленной антигенноизменённым штаммом чумного микроба (FI⁻ фенотип).

Выводы

1. По активности в опытах *in vitro* левофлоксацин и ломефлоксацин не отличаются от

ципрофлоксацина, несколько превосходят офлоксацин и пефлоксацин в отношении штаммов чумного микроба с FI⁺ и FI⁻ фенотипом. Моксифлоксацин уступает по активности левофлоксацину и ломефлоксацину и не отличается от пефлоксацина.

2. Индекс эффективности всех изученных фторхинолонов равен 10⁴. Левофлоксацин, ломефлоксацин и моксифлоксацин высокоэффективны (90—100% выживших животных) в профилактике и лечении экспериментальной чумы белых мышей, вызванной полноценным в антигенном отношении штаммом чумного микроба. Левофлоксацин и моксифлоксацин превосходят по эффективности ломефлоксацин в 5-дневной профилактике экспериментальной чумы, обусловленной штаммом возбудителя с FI⁻ фенотипом (90—100% выживших животных).

3. Левофлоксацин, моксифлоксацин и ломефлоксацин перспективны в качестве альтернативы ципрофлоксацину, офлоксацину и пефлоксацину для экстренной профилактики и лечения чумы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжко И. В., Щербанюк А. И., Цураева Р. И. и др. Сравнительное изучение фторхинолонов и цефалоспоринов III поколения в профилактике и лечении экспериментальной чумы, обусловленной типичными и серологически атипичными по FI штаммами чумного микроба. Антибиотики и химиотер 1997; 1: 12—16.
2. Самоходкина Э. Д., Щербанюк А. И., Рыжко И. В. и др. Эффективность офлоксацина при профилактике и лечении экспериментальной чумы, обусловленной природными и антигенноизменёнными штаммами возбудителя. Там же; 2002; 3: 26—29.
3. Byrne W. R., Welkos S. L., Pitt M. L. et al. Antibiotic treatment of experimental pneumonic plague in mice. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3: 675—681.
4. Russell P., Eley S. M., Green M. et al. Efficacy of doxycycline and ciprofloxacin against experimental *Yersinia pestis* infection. J. Antimicrob Chemother 1998; 41: 2: 301—305.
5. Дмитриевский А. М. Патогенез, клинические проявления, современные принципы лечения и система медицинской помощи больным чумой: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Алматы, 1997; 44.
6. Galimand M., Guiyoule A., Gerbaud G. et al. Multidrug resistance in *Yersinia pestis* mediated by a transferable plasmid. The New Engl J Med 1997; 337; 10: 677—680.
7. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: 1962; 177.
8. Paget Y. E., Barnes Y. M. Toxicity tests // Evaluation of drug activities pharmacometrics. London, 1964; 1: 135—167.
9. Боларский А. Я. Статистические методы в экспериментальных медицинских исследованиях. М.: 1955; 262.