

ISSN 0235-2990

# **АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ**

**Том 63**



**11-12'2018**

**Научно-практический журнал**



## Учредители:

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

Государственный научный  
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —  
ежемесячный научно-практический  
журнал  
Основан в 1956 году

«Antibiotics and Chemotherapy»  
Issued 12 times a year  
Since 1956

## АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а.  
ГНЦА  
Тел.: 8-499-611-20-77  
Факс: 8-499-611-42-38  
E-mail: journalgnca@yandex.ru  
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова  
Корректор: А. Н. Лобусева  
Сайт: www.jantchem.ru

## ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77  
Факс: 8-499-611-42-38  
E-mail: gncajournal@yandex.ru  
Л. И. Гусак

## ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка по каталогу Роспечать:

- индекс **71404** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **71405** — для предприятий и организаций

Подписка через объединённый каталог  
«Пресса России»:

- индекс **10659** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **10660** — для предприятий и организаций

Журнал зарегистрирован  
в Комитете РФ по печати  
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2018

Типография:

ООО «Литера»

Дата выхода: 2018

Свободная цена

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 63

11—12'2018

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
MONTHLY JOURNAL

Главный редактор  
профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора — к. м. н. Буданов С. В.

Отв. секретарь — к. м. н. Гучев И. А.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Проф., д. м. н. Белобородов В. А.  
Проф. Говорун В. М.  
Проф. Гомберг М. А.  
Д. б. н. Даниленко В. Н.  
Проф. Климов Н. Н.  
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.  
Проф., д. м. н. Никитин А. В.  
Проф. Руднов В. А.  
Проф. Тишков В. Н.  
Проф., д. б. н. Фирсов А. А.  
Проф., д. м. н. Хрянин А. А.  
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.  
Проф. Яроцкий С. В.

## Научные редакторы

к.м.н. Кузнецова С. М.  
к.б.н. Белявская И. В.

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

|                 |                |
|-----------------|----------------|
| Беседнова Н. Н. | Клясова Г. А.  |
| Бибикова М. В.  | Ленёва И. А.   |
| Васильев А. Н.  | Митрохин С. Д. |
| Волжанин В. М.  | Романцов М. Г. |
| Дмитриева Н. В. | Сычев Д. А.    |
| Долгова Г. В.   | Тең В. В.      |
| Захарова Ю. А.  | Цыбанев А. А.  |
| Зуева Л. П.     | Ших Е. В.      |
| Ильина Е. Н.    |                |

**Журнал\* цитируется в: Medline; Ind Chem;  
Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;  
Current Contents (Life Sciences)**

**Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus;  
Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;  
Current Contents (Life Sciences)**

### Оригинальные статьи

- 3 **Логина С. Я., Шчукина В. Н., Борисевич С. В.**  
Изучение динамики и уровня накопления интерферона  
в сыворотке крови лабораторных животных  
**Филиппова Е. И., Мазурков О. Ю., Горбунова И. А.,  
Костина Н. Е., Мазуркова Н. А.**  
Противовирусные свойства водного и этанольного  
экстрактов навозника лохматого (*Coprinus comatus*)  
*in vitro* и *in vivo* в отношении вируса гриппа  
**Мирчинк Е. П., Исакова Е. Б., Лавренов С. Н.,  
Симонов А. Ю., Голибродо В. А., Панов А. А.,  
Бычкова О. П., Татарский В. В., Тренин А. С.**  
Изучение активности и токсичности новых  
антибактериальных агентов на основе производных  
трииндоллилметана в экспериментах *in vivo*
- В помощь практикующему врачу**  
**Лазарева И. В., Старкова П. С., Агеев В. А.,  
Волкова М. О., Лебедева М. С., Навацкая А. С.,  
Мясникова Е. Б., Митрошина Г. В., Сидоренко С. В.**  
Оценка распространения ректального носительства генов  
вирулентности и карбапенемаз у пациентов,  
поступивших на плановую госпитализацию  
**Куцевалова О. Ю., Кит О. И., Панова Н. И., Розенко Д. А.,  
Якубенко С. В., Геворкян Ю. А., Харагезов Д. А.,  
Мартынов Д. В., Малыгин В. Н., Хиндикайнен А. Ю.,  
Янковская Г. В., Егорова О. А.,  
Каминский М. Ю., Мирошниченко Д. И.**  
Современные тенденции антибиотикорезистентности  
грамотрицательных возбудителей нозокомиальных  
инфекций в Ростовской области  
**Мазина Н. К., Мазин П. В., Редькина Д. В.**  
Влияние циклоферона на эффективность фармакотерапии  
инфекционных заболеваний широкого спектра у детей и  
взрослых. систематический обзор и метаанализ  
**Жукова О. В., Руина О. В., Кононова С. В.,  
Хазов М. В., Романов С. В.**  
DDD- и DU90%-анализ антимикробной терапии  
внебольничной пневмонии в условиях стационара  
федерального центра

### Обзоры

- Маркелова Н. Н., Семенова Е. Ф.**  
Возможные пути преодоления  
антибиотикорезистентности нозокомиальных патогенов  
*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*,  
*Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*

### История науки

- Дворецкий Л. И.**  
Исторические «видения» Антони Левенгука

### Некролог

- Памяти профессора Романцова Михаила Григорьевича

**Указатель авторов и статей,  
опубликованных в журнале в 2018 году**

### Original Papers

- 3 **Loginova S. Ja., Shchukina V. N., Borisevich S. V.**  
The Study of the Dynamics and the Level of Accumulation  
of Interferon in the Serum of Laboratory Animals  
8 **Filippova E. I., Mazurkov O. Yu.,  
Gorbunova I. A., Kostina N. E., Mazurkova N. A.**  
Antiviral Properties of Aqueous and Ethanol Extracts  
of Shaggy Mane (*Coprinus comatus*) Against Influenza Virus  
*in vitro* and *in vivo* Experiments  
12 **Mirchink E. P., Isakova E. B., Lavrenov S. N.,  
Simonov A. Yu., Golibrodov V. A., Panov A. A.,  
Bychkova O. P., Tatarskiy V. V., Trenin A. S.**  
Study of the Activity and Toxicity  
of New Antibacterial Agents Based  
on Triindolylmethane Derivatives *in vivo*

### Guidelines for Practitioners

- 18 **Lazareva I. V., Starkova P. S., Ageevets V. A., Volkova M. O.,  
Lebedeva M. S., Navatskaya A. S., Myasnikova E. B.,  
Mitroshina G. V., Sidorenko S. V.**  
Assessment of the Distribution of Rectal Carriage  
of Virulence and Carbapenemases Genes  
in Patients Enrolled for Planned Hospitalization  
24 **Kutsevalova O. Yu., Kit O. I., Panova N. I., Rozenko D. A.,  
Yakubenko S. V., Gevorkyan Yu. A., Kharagezov D. A.,  
Martynov D. V., Malygin V. N., Khindikaynen A. Yu.,  
Yankovskaya G. V., Yegorova O. A.,  
Kaminskiy M. Yu., Miroshnichenko D. I.**  
Current Trends in Antibiotic Resistance  
of Gram-Negative Pathogens of Nosocomial Infections  
in the Rostov Region  
31 **Mazina N. K., Mazin P. V., Redkina D. V.**  
The Influence of Cycloferone on the Effectiveness  
of Pharmacotherapy of Wide Spectrum of Infectious Diseases  
in Children and Adults: Systematic Review and Meta-Analysis  
41 **Zhukova O. V., Ruina O. V., Kononova S. V.,  
Khazov M. V., Romanov S. V.**  
DDD and DU90% Analysis of Antimicrobial Therapy  
of Community-Acquired Pneumonia in the In-Patient  
Department of the Federal Center

### Reviews

- 45 **Markelova N. N., Semenova E. F.**  
Possible Ways to Overcome Antibiotic Resistance  
of Nosocomial Pathogens *Klebsiella pneumoniae*,  
*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*,  
*Stenotrophomonas maltophilia*

### History of Science

- 55 **Dvoretzkiy L. I.**  
Historical «Visions» of Antonie van Leeuwenhoek

### Obituary

- 63 In Memory of Professor Romantsov Mikhail Grigorievich

65 **Index of Authors  
and Papers Published in 2018**

\* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

# Изучение динамики и уровня накопления интерферона в сыворотке крови лабораторных животных

С. Я. ЛОГИНОВА, В. Н. ЩУКИНА, С. В. БОРИСЕВИЧ

48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации, *Сергиев Посад*

## The Study of the Dynamics and the Level of Accumulation of Interferon in the Serum of Laboratory Animals

S. YA. LOGINOVA, V. N. SHCHUKINA, S. V. BORISEVICH

48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, *Sergiev Posad*

Проведённые исследования показали, что высокомолекулярные индукторы интерферона Ларифан®, Ридостин® и Рифастин вызывают «раннюю» продукцию интерферона с максимумом через 3 ч после введения. Повторное введение индукторов интерферона с интервалом 3 сут. не вызывает торможение синтеза интерферона, т. е. рефрактерность не наблюдается. Низкомолекулярный индуктор интерферона Арбидол® при пероральном применении также стимулирует синтез эндогенного интерферона в сыворотке крови кроликов, но значительно в более низких концентрациях. Реаферон® при внутримышечном введении приматам в терапевтически эффективных концентрациях обнаруживается в сыворотке крови обезьян через 6 ч после применения. При пероральном применении Реаферон® в сыворотке крови обезьян не выявлен. Также не удалось выявить препарат при внутримышечном применении его у кроликов даже при высоких дозах.

**Ключевые слова:** вирус везикулярного стоматита, культура клеток, Ларифан®, Рифастин, Ридостин®, Реаферон®, Арбидол®, зелёные мартышки, хлопковые крысы, кролики.

Studies have shown that high-molecular inducers of interferon Larigan®, Ridostin®, and Rifastin cause «early» interferon production which amounts to maximum 3 hours after injection. Re-introduction of interferon inducers with an interval of 3 days does not cause the inhibition of interferon synthesis, i.e. refractoriness is not observed. Oral administration of a low molecular weight interferon inducer Arbidol® also stimulates the synthesis of endogenous interferon in the blood serum of rabbits, but in much lower concentrations. Reaferon® when administered intramuscularly to primates in therapeutically effective concentrations is detected in the serum of monkeys 6 hours after application. Reaferon® is not detected in the serum of monkeys after oral administration. It was also impossible to identify the drug after intramuscular administration in rabbits, even at high doses.

**Keywords:** vesicular stomatitis virus, cell culture, Larifan®, Rifastin, Ridostin®, Reaferon®, Arbidol®, green monkeys, cotton rats, rabbits.

## Введение

В силу определённых причин возрастает эпидемиологическая опасность заноса возбудителей опасных и особо опасных инфекций и распространение их на территории нашей страны. Вирусы животных могут становиться опасными для человека в случае их мутаций и рекомбинации. Так, птичий грипп приводит к быстрой гибели домашней птицы, а у диких птиц он может и не вызывать заболевания, несмотря на его носительство [1–4]. Вызвавший несколько лет назад сенсацию вирус атипичной пневмонии оказался мутировавшим вариантом вируса китайских вивер [5–7], возбудитель заболевания ближневосточного респираторного синдрома (MERS) [8, 9]. Огромное разнообразие вирусов и их уникальная

изменчивость ставит серьёзную задачу перед разработчиками противовирусных средств.

За последние 10 лет сложилась стратегия молекулярного дизайна противовирусных препаратов. Современные методы исследования позволяют проследить весь цикл взаимодействия клетки с отдельной вирусной частицей в реальном времени, однако эти новые данные мало использованы для построения одной общей теории процесса вирус — клеточного взаимодействия, способной прогнозировать влияние различных штаммов вируса гриппа на культуру клеток или живой организм, а также для возможных путей блокирования данного процесса. В связи с этим особый интерес вызывают два класса препаратов: интерфероны (ИФ) и индукторы интерферонов (ИИФ) [10–12].

Для оценки возможности использования ИФ и ИИФ в качестве противовирусных лекарственных препаратов необходима адекватная лабораторная модель, позволяющая определить дина-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 141306, г. Сергиев Посад-6. 48 ЦНИИ

**Таблица 1. Оценка динамики и уровня интерферониндуцирующей активности препаратов Ридостина® и Ларифана® в сыворотке крови хлопковых крыс**

| Препарат  | Уровень индуцированного интерферона, ИЕ /мл |     |     |      |                                   |      |     |      |
|-----------|---------------------------------------------|-----|-----|------|-----------------------------------|------|-----|------|
|           | время после 1-го введения                   |     |     |      | время после 2-го введения (+72 ч) |      |     |      |
|           | 3 ч                                         | 6 ч | 9 ч | 24 ч | 3 ч                               | 6 ч  | 9 ч | 24 ч |
| Ридостин® | 675                                         | 560 | 194 | 160  | 1480                              | 810  | 680 | 320  |
| Ларифан®  | 1040                                        | 810 | 264 | 180  | 2440                              | 1350 | 810 | 540  |

**Таблица 2. Оценка динамики и уровня интерферониндуцирующей активности препаратов Ридостина®, Ларифана® и Рифастина в сыворотке крови кроликов породы шиншилла**

| Препарат  | Уровень индуцированного интерферона, ИЕ /мл |       |      |      |                                   |       |       |      |                                    |       |      |      |
|-----------|---------------------------------------------|-------|------|------|-----------------------------------|-------|-------|------|------------------------------------|-------|------|------|
|           | время после 1-го введения                   |       |      |      | время после 2-го введения (+72 ч) |       |       |      | время после 3-го введения (+144 ч) |       |      |      |
|           | 3 ч                                         | 6 ч   | 12 ч | 24 ч | 3 ч                               | 6 ч   | 12 ч  | 24 ч | 3 ч                                | 6 ч   | 12 ч | 24 ч |
| Ридостин® | 1480                                        | 1750  | 3500 | 312  | 4950                              | 7000  | 2100  | 740  | 11800                              | 8300  | 2980 | 1250 |
| Ларифан®  | 16384                                       | 27200 | 3420 | 1450 | 6800                              | 8100  | 2430  | 610  | 5750                               | 6800  | 2040 | 1040 |
| Рифастин  | 7000                                        | 16384 | 2030 | 865  | 13650                             | 13650 | 13650 | 1040 | 19400                              | 23000 | 8100 | 865  |

мику и уровень накопления интерферона в крови экспериментальных животных.

Цель работы — изучение динамики и уровня накопления эндогенных и экзогенных интерферонов в сыворотке крови лабораторных животных, для последующего использования их в качестве лабораторной модели при оценке эффективности в отношении различных вирусных инфекций.

## Материал и методы

**Вirus.** В работе использовали вирус везикулярного стоматита, штамм Индиана, полученный из Института вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «ФНИИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, хранящийся в Специализированной коллекции Филиала ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России».

**Культура клеток.** Использована перевиваемая культура клеток почек зелёных мартышек — GMK-АН-1 (Д); почек кроликов — РК-13; почек крыс — Rat ТК- и диплоидная культура клеток лёгкого эмбриона человека, клон КЛ-17. В качестве среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 2% сыворотки крупного рогатого скота. Перед применением препараты растворяли в физиологическом растворе.

**Исследуемые препараты.** Арбидол® — производства ЗАО «Мастерлек», Россия. Ридостин® (инъекционный) — дрожжевая дс РНК, производства ЗАО «ВЕКТОР-МЕДИКА», Кольцово, Россия. Ларифан® (инъекционный) — дсРНК фага f<sub>2</sub> *E.coli* производства Института микробиологии им. Кирхенштейна, Латвия. Рифастин — дрожжевая дсРНК. Реаферон-ЕС® — человеческий рекомбинантный α<sub>2</sub>-интерферон, производства ЗАО «Вектор-Медика», Кольцово, Россия.

**Лабораторные животные.** В работе использовали хлопковых крыс массой 40—50 г, кроликов породы «шиншилла», зелёных мартышек.

**Оценка уровня интерферона в сыворотке крови лабораторных животных.** Активность интерферона определяли по задержке цитопатического эффекта вируса везикулярного стоматита, штамм Индиана, в культуре клеток Rat ТК-, РК-13, GMK-АН-1 (Д) и КЛ-17. За титр интерферона (ИЕ<sub>50</sub>/мл) принимали величину, обратную его наибольшему разведению, вызывающему задержку цитопатического эффекта в 50% культур.

## Результаты и обсуждение

Для изучения динамики и уровня синтеза интерферона в сыворотке крови хлопковым крысам животным внутримышечно вводили индукторы интерферона Ридостин® и Ларифан в дозе 5 мг/кг

массы животного. Уровень индуцированного интерферона в сыворотке крови крыс рассчитывали по задержке цитопатического действия вируса везикулярного стоматита (тест-вирус) в монослойной культуре клеток Rat ТК<sup>+</sup> (табл. 1).

Исследования интерферониндуцирующей активности показало, что оба препарата вызывают синтез интерферона в сыворотке крови хлопковых крыс уже в первые часы после введения, то есть вызывают «раннюю» продукцию интерферона: пик синтеза приходится через 3 ч после введения и составляет для Ридостина® 675 ИЕ /мл, Ларифана® — 1040 ИЕ /мл.

Через 6 ч концентрация интерферона в сыворотке снижалась и составляла 560 ИЕ/мл и 810 ИЕ/мл; через 9 ч — 194 ИЕ/мл и 264 ИЕ/мл; через 24 ч — 160 ИЕ/мл и 180 ИЕ/мл, соответственно. Повторное введение индукторов интерферона через 72 ч не вызывает торможения индукции интерферона.

Оценивали интерферониндуцирующую способность Ридостина®, Рифастина и Ларифана® у кроликов при внутримышечном введении препаратов. Уровень индуцированного интерферона в сыворотке крови кроликов рассчитывали по задержке цитопатического действия вируса везикулярного стоматита (тест-вирус) в монослойной культуре клеток РК-13 (табл. 2). Кровь из краевой вены уха кроликов отбирали с интервалом 24 ч для оценки позднего интерферона, стимулированного низкомолекулярным индуктором интерферона, и с интервалом 3 ч — при оценке интерферониндуцирующей активности высокомолекулярных индукторов интерферона.

Было показано, что изученные препараты индуцируют синтез интерферона в сыворотке крови кроликов уже в первые часы после введения. Препараты Ларифан®, Рифастин и Ридостин® вызывают «раннюю» продукцию интерферона с максимумом (16384, 7000 и 1480 ИЕ/мл, соответственно) через 3 ч после введения. За быстрым нарастанием концентрации индуцированного интерферона в сыворотке крови следует такое же быстрое её снижение. Хотя через 24 ч количество

**Таблица 3. Оценка динамики и уровня интерферониндуцирующей активности препарата Арбидол® в сыворотке крови кроликов породы шиншилла при пероральном применении**

| Препарат | Схема введения препарата    | Уровень индуцированного интерферона, ИЕ /мл в различные сроки после первого введения препарата |     |     |     |     |     |
|----------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|          |                             | 1 ч                                                                                            | 2 ч | 3 ч | 4 ч | 5 ч | 6 ч |
| Арбидол® | 0, +24                      | 167                                                                                            | 180 | 65  | 34  | 24  | 24  |
|          | 0, +24, +48, +72, +96, +120 | 140                                                                                            | 120 | 134 | 47  | 186 | 160 |
|          | 0, +48, +96, +144           | 130                                                                                            | 180 | 266 | 375 | 160 | 147 |

**Таблица 4. Результаты оценки интерферониндуцирующей активности высокомолекулярных индукторов интерферона в сыворотке крови приматов**

| Вид животного    | Препарат  | Схема введения препарата | Уровень интерферона в сыворотке крови, ИЕ/мл в различные срок после введения, ч |      |       |       |
|------------------|-----------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------|-------|-------|
|                  |           |                          | 3                                                                               | 6    | 12    | 24    |
| Зелёные мартышки | Ларифан®  | 0                        | 819                                                                             | 2130 | 665   | 120   |
|                  |           | Через 72                 | 1971                                                                            | 1260 | 597   | 104   |
|                  |           | Через 144                | 518                                                                             | 721  | н. д. | н. д. |
|                  | Рифастин  | 0                        | 1563                                                                            | 1137 | 579   | 98    |
|                  |           | Через 72                 | 1516                                                                            | 784  | 206   | 75    |
|                  |           | Через 144                | 876                                                                             | 1683 | н. д. | н. д. |
|                  | Ридостин® | 0                        | 1003                                                                            | 1137 | 475   | 98    |
|                  |           | Через 72                 | 985                                                                             | 564  | 211   | 72    |
|                  |           | Через 144                | 786                                                                             | 963  | 197   | 69    |

**Таблица 5. Динамика и уровень накопления Реаферона® в сыворотке крови лабораторных животных**

| Вид животного    | Способ применения препарата | Разовая доза препарата, МЕ/кг | Уровень индуцированного интерферона, ИЕ /мл в различные сроки после введения |     |      |      |              |     |      |      |
|------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----|------|------|--------------|-----|------|------|
|                  |                             |                               | 1-е введение                                                                 |     |      |      | 2-е введение |     |      |      |
|                  |                             |                               | 3 ч                                                                          | 6 ч | 12 ч | 24 ч | 3 ч          | 6 ч | 12 ч | 24 ч |
| Зеленые мартышки | внутримышечно               | 1×10 <sup>6</sup>             | 20                                                                           | 136 | 184  | 68   | 172          | 720 | 356  | 140  |
|                  |                             | перорально                    | ≥8                                                                           | ≥8  | ≥8   | ≥8   | ≥8           | ≥8  | ≥8   | ≥8   |
|                  |                             | 3×10 <sup>7</sup>             | ≥8                                                                           | ≥8  | ≥8   | ≥8   | ≥8           | ≥8  | ≥8   | ≥8   |
| Кролики          | внутримышечно               | 1×10 <sup>6</sup>             | ≥8                                                                           | ≥8  | ≥8   | ≥8   | ≥8           | ≥8  | ≥8   | ≥8   |

интерферона в крови ещё является значительным (около 500 ИЕ/мл) и, соответственно, терапевтически значимым. Проведено изучение интерферониндуцирующей активности препарата Арбидол® в сыворотке крови кроликов породы шиншилла при пероральном применении по различным схемам в дозе 18,7 мг/кг (табл. 3).

Низкомолекулярный индуктор интерферона Арбидол® при пероральном применении в дозе 18,7 мг/кг массы животного стимулирует синтез эндогенного интерферона в сыворотке крови кроликов. Наиболее высокие и стабильно поддерживающиеся титры ИФ в сыворотке крови были отмечены при введении препарата с интервалом 48 ч. На протяжении всего срока наблюдения в крови сохранялся терапевтически эффективная концентрация ИФ. При 2-кратном введении Арбидола® с интервалом 24 ч в течение последующих 2 сут. концентрация ИФ также поддерживалась на терапевтически эффективном уровне, далее уровень интерферона в сыворотке крови резко снижался.

Изучение динамики и уровня накопления интерферона в сыворотке крови животных, индуцированного высокомолекулярными индукторами интерферона, проводили на зелёных мартышках.

Было показано, что при внутримышечном введении Ларифана®, Ридостина® и Рифастина в дозе 5 мг/кг массы животного индуцированный интерферон обнаруживается в сыворотке крови в высоких концентрациях в первые часы после

инъекции (табл. 4). Кинетика продукции интерферона свидетельствует, что препараты вызывают «раннюю» продукцию интерферона, пик его синтеза приходится на 3—6 ч. Повторное введение интерферогенов не сопровождается торможением индукции интерферона.

Для изучения динамики и уровня появления Реаферона® в сыворотке крови обезьян и кроликов препарат вводили внутримышечно и перорально в дозе (1—3)×10<sup>6</sup> МЕ/кг двукратно с интервалом 24 ч (табл. 5). Через 3, 6, 12 и 24 ч после применения Реаферона® у животных отбирали кровь (у обезьян из подкожной вены голени, у кроликов — краевой вены уха).

Уровень Реаферона® в сыворотке крови животных оценивали по задержке цитопатического эффекта в монослойной диплоидной культуре клеток лёгкого эмбриона человека, клон КЛ-17, используя в качестве тест-вируса возбудитель везикулярного стоматита, штамм Индиана.

Результаты исследований показывают, что интерферон при внутримышечном введении в терапевтически эффективных концентрациях обнаруживается в сыворотке крови обезьян через 6 ч после применения. Максимальное количество интерферона наблюдается через 12 ч, а через 24 ч после введения препарата его концентрация снижается до 68 ИЕ/мл.

Повторное введение Реаферона® сопровождается резким увеличением препарата в сыворотке



крови. При пероральном применении Реаферон® в сыворотке крови обезьян не выявлен. Также не удалось выявить препарат при внутримышечном применении его у кроликов даже при высоких дозах.

Генетические манипуляции с вирусом позволили идентифицировать некоторые вирусные маркеры, которые связаны с вирулентностью и патогенезом. В последние годы в связи с разработкой фундаментальных подходов в области молекулярного дизайна появились принципиально новые возможности в конструировании лекарственных препаратов, максимально направленных на конкретную молекулярную мишень, характерную для вируса и отсутствующую в клетке хозяина. Для профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний предпочтение отдаётся препаратам, обладающим возможно более широким спектром фармакологической активности.

Хотя прошло несколько десятилетий с начала использования препаратов интерферона, концепцию их клинического применения всё ещё можно сформулировать в самом общем виде. Это связано с тем, что ИФ влияет на многие реакции инфекционного, в частности противовирусного, и противоопухолевого иммунитета, но направленность этого влияния зависит от состояния иммунной и интерфероновой систем организма, а также дозы, кратности, способа введения препарата ИФ.

Препараты интерферона занимают особое место в ряду активно разрабатываемых и применяемых в настоящее время лекарственных средств неспецифической терапии и профилактики вирусных инфекций. Никакие иные противовирусные препараты не обладают в полном объёме функциональными свойствами, присущими или даже подобными ИФ. Индукторы интерферона обладают рядом существенных преимуществ.

В работе изучали динамику и уровень накопления эндогенного и экзогенного интерферона в сыворотке крови лабораторных животных, традиционно используемых в экспериментальных исследованиях по изучению эффективности противовирусных препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Tumpey T.M., Suarez D.L., Perkins L.E.L. et al. Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian Influenza virus isolated from duck. *Meat J Virol* 2002; 76 (12): 6344–6355.
2. Kandeel A., Kareem E., Monhaved A. Ahmed et al. Zoonotic transmission of avian influenza virus (H5N1), Egypt, 2006–2009. *Emerg Inf Diseases* 2010; 16 (7): 1101–1107.
3. Teifke J.P., Klopffleisch R., Globig A. et al. Pathology of natural infections by H5N1 highly pathogenic avian influenza virus in mute (Cygnus olor) and whooper (Cygnus cygnus) swans. *Vet Pathol* 2007; 44: 137–143.
4. David L. Evolution of avian influenza viruses. *Vet Microbiol* 2000; 74: 15–27.
5. Bellini W.J., Campagnoli R.P., Icenogle J.P. et al. SARS coronavirus (SARS-CoV), Urbani strain // <http://www.cdc.gov/ncidod/sars/pdf/nucleoseq.pdf>; SARS coronavirus, complete genome. Entrez NC\_004718.
6. Holmes K.V. Adaptation of SARS coronavirus to human. *Science* 2005; 309 (5742): 1822–1823.
7. Lun Z.R., Qu L.H. Animal-to-human SARS-associated coronavirus transmission? *Emerg Infect Dis* 2004; 10 (5): 959.

Все использованные в работе лабораторные животные являются хорошей моделью для оценки индукторов интерферона. Введение препаратов высокомолекулярных индукторов интерферона в дозе 5 мг/кг массы тела с интервалом 72 ч позволяет поддерживать концентрацию эндогенного интерферона на высоком уровне.

Таким образом, повторное введение высокомолекулярных индукторов интерферона с интервалом 72 ч не вызывает торможение синтеза интерферона, т. е. рефрактерность не наблюдается.

Для низкомолекулярного индуктора интерферона Арбидола® оптимальным является интервал применения 48 ч. Высокомолекулярные индукторы интерферона стимулируют продукцию ИФ в более высоких концентрациях, чем Арбидол®.

Изучение динамики накопления экзогенного интерферона в сыворотке крови приматов и кроликов при внутримышечном введении препарата выявило, что у зелёных мартышек через 6 ч после применения отмечен терапевтически значимый уровень препарата. Введение интерферона один раз в сутки позволяет поддерживать терапевтически эффективную концентрацию препарата в крови обезьян. При пероральном введении Реаферон® расщепляется энзимами и в крови зелёных мартышек не выявляется.

При парентеральном применении препарата Реаферон® в высоких дозах ( $1 \times 10^6$  МЕ/кг) препарат в крови кроликов на протяжении всего эксперимента не выявлен.

Таким образом, результаты исследований показывают, что при оценке эффективности видоспецифических препаратов, таких как человеческий интерферон, для получения объективных результатов должны быть использованы приматы. Для оценки индукторов интерферона — любые лабораторные животные.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

8. Cauchemez S., Faser C., Van Kerkhove M.D., Donnelly C.A., Riley S., Rambaut A. Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: quantification of the epidemic, surveillance biases, and transmissibility. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 50–56.
9. Assiri A., Abedi G.R., Saeed A.A. et al. Multifacility Outbreak of Middle East Respiratory Syndrome in Taif, Saudi Arabia. *Emerg Infect Dis* 2016; 22 (1): 32–40.
10. Епишев Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарства). Москва, изд. «Гэотар-Медиа»; 2005. / Ershov F.I., Kiselev O.I. Interferony i ih induktory (ot molekul do lekarstva) . Moskva, izd. «Gjeotar-Media»; 2005. [in Russian]
11. Епишев Ф.И. Этиотропная терапия наиболее распространенных вирусных инфекций. *Вестник РАМН*. — 2001. — № 11. — С. 34–39. / Ershov F.I. Jetiotropnaja terapija naibolee rasprostranennyh virusnyh infekcij. *Vestnik RAMN* 2001; 11: 34–39. [in Russian]
12. Епишев Ф.И. Медицинская значимость интерферонов и их индукторов. *Вестник РАМН*. — 2004. — № 2. — С. 9–13. / Ershov F.I. Medicinskaja znachimost' interferonov i ih induktorov. *Vestnik RAMN* 2004; 2: 9–13. [in Russian]



## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Логинова Светлана Яковлевна* — д. б. н., ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

*Шукина Вероника Николаевна* — к. б. н., научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учрежде-

ние «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

*Борисевич Сергей Владимирович* — д. б. н., профессор, член-корр. РАН РФ, начальник института, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад

# Противовирусные свойства водного и этанольного экстрактов навозника лохматого (*Coprinus comatus*) *in vitro* и *in vivo* в отношении вируса гриппа

Е. И. ФИЛИПОВА<sup>1</sup>, О. Ю. МАЗУРКОВ<sup>1</sup>, И. А. ГОРБУНОВА<sup>2</sup>, Н. Е. КОСТИНА<sup>3</sup>, Н. А. МАЗУРКОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирская область, р.п. Кольцово

<sup>2</sup> Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

## Antiviral Properties of Aqueous and Ethanol Extracts of Shaggy Mane (*Coprinus comatus*) Against Influenza Virus in *in vitro* and *in vivo* Experiments

E. I. FILIPPOVA<sup>1</sup>, O. YU. MAZURKOV<sup>1</sup>, I. A. GORBUNOVA<sup>2</sup>, N. E. KOSTINA<sup>3</sup>, N. A. MAZURKOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, Novosibirsk region, Koltsovo

<sup>2</sup> Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk

<sup>3</sup> Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

Исследованы химический состав и противогриппозная активность экстрактов, полученных методами водного и этанольного извлечений из плодовых тел *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (навозника лохматого). Выявлена противовирусная активность обоих грибных экстрактов на перевиваемой культуре клеток MDCK в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) и A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) (индекс подавления размножения обоих штаммов в клетках составил от 2,0 до 4,7 lg). Показана дозозависимость противовирусной активности экстрактов гриба *in vitro*. В опытах *in vivo* установлен достоверный протективный эффект обоих экстрактов *Coprinus comatus* по влиянию на процент выживаемости мышей, инфицированных вирусом гриппа A/H3N2 в лечебно-профилактической схеме.

**Ключевые слова:** *Coprinus comatus*, водный и этанольный грибной экстракт, противовирусная активность *in vitro* и *in vivo*, вирус гриппа.

The chemical composition and anti-influenza activity of aqueous and ethanol extracts obtained from fruit bodies of *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (Shaggy mane) were studied. The antiviral activity of both mushroom extracts against influenza virus A/Aichi/2/68(H3N2) and A/chicken/Kurgan/05/2005(H5N1) was revealed for continuous culture of MDCK cells (index suppression of reproduction in the cells of both strains was from 2,0 to 4,7 lg). Dose dependency of antiviral activity of mushroom extracts was shown in *in vitro* experiments. The significant protective effect of both *Coprinus comatus* extracts on the influence on the survival rate of mice infected with influenza virus A/H3N2 in the treatment and prevention scheme was revealed in *in vivo* experiments.

**Keywords:** *Coprinus comatus*, aqueous and ethanol mushroom extract, antiviral activity *in vitro* and *in vivo*, influenza virus.

## Введение

Вирусы гриппа А, обладающие высокой степенью изменчивости генома, являются этиологическими агентами опасных инфекционных заболеваний человека и животных, способных протекать в форме обширных эпизоотий, эпидемий и пандемий с высокой смертностью. На протяжении последнего десятилетия Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) была озабочена очередным появлением новых высокопатогенных штаммов вируса гриппа птиц H5N1 и вируса гриппа свиней H1N1, способных передаваться человеку. При этом часть вновь возникающих штаммов проявляет устойчивость не только к применявшимся ранее лекарствам адамантанового ряда — аманта-

дину и ремантадину (ингибиторам мембранного белка М2), но и к современным противогриппозным препаратам — озельтамивиру и занамивиру (ингибиторам вирусных нейраминидаз) [1–3].

В целом, опыт применения противовирусных препаратов указывает на необходимость использования комбинации нескольких лекарственных средств для повышения эффективности лечения вирусных инфекций и устранения возможности появления резистентных вариантов вирусов.

Поэтому проблема разработки и поиска новых лекарственных средств защиты от гриппозной инфекции, включающих как профилактические, так и лечебные препараты, представляется крайне важной и особо актуальной.

В настоящее время в мире активно проводятся исследования по поиску и разработке противовирусных препаратов на основе соединений природного происхождения, обладающих более мяг-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 630559 р. п. Кольцово Новосибирского р-на Новосибирской обл. ГНЦВиБ «Вектор»

Таблица 1. Органолептические и физико-химические показатели экстрактов навозника лохматого

| Наименование показателя                    | Значение показателя                                                          |                                                                             |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|                                            | экстракт из водного извлечения                                               | экстракт из этанольного извлечения                                          |
| Внешний вид                                | Аморфный и гигроскопичный порошок от светло-коричневого до коричневого цвета | Аморфный и гигроскопичный порошок от коричневого до темно-коричневого цвета |
| Вкус                                       | Горьковатый                                                                  | Горьковатый                                                                 |
| Запах                                      | Ароматный, специфический                                                     | Ароматный, специфический                                                    |
| Потеря в массе при высушивании, % не более | 10                                                                           | 10                                                                          |
| Содержание тяжелых металлов, % не более    | 0,01                                                                         | 0,01                                                                        |
| Выход экстрактивных веществ, %             | 61,9                                                                         | 25,1                                                                        |
| Суммарное содержание сахаров, мг/г         | 257,4                                                                        | 97,0                                                                        |
| Суммарное содержание белков, мг/г          | 34,8                                                                         | 9,3                                                                         |
| Тритерпены                                 | —                                                                            | —                                                                           |
| Каротиноиды                                | —                                                                            | —                                                                           |
| Содержание фенольных соединений, мг/г      | <5                                                                           | <5                                                                          |

ким терапевтическим действием и низкой токсичностью по сравнению с синтетическими лекарственными средствами. В этом отношении базидиальные грибы представляют значительный интерес как источники лечебных и профилактических средств с противоопухолевой, иммуномодулирующей и противовирусной активностью. Исследования последнего десятилетия показывают, что многие представители базидиальных грибов-макромицетов являются природными источниками различных биологически активных веществ (БАВ) (гликанов (полисахаридов), белков, каротиноидов, тритерпенов) с антибактериальной, антифунгиальной, противоопухолевой, антивирусной активностью и иммуномодулирующим действием.

Цель работы — исследование химического состава и противогриппозных свойств водного и этанольного экстрактов навозника лохматого (*Coprinus comatus*).

## Материал и методы

Объектом исследования служили экстракты, полученные методами водного и этанольного извлечений биологически активных веществ (БАВ) из плодовых тел навозника лохматого (*Coprinus comatus*) [7], собранных осенью 2013 г. на территории Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, Новосибирск.

В работе использовали высокопатогенный штамм вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) и адаптированный к лабораторным мышам штамм вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2), полученные из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (п. Кольцово, Новосибирская обл.). Нарботку вируса гриппа производили на 10-суточных куриных эмбрионах (КЭ), титрование вируса гриппа проводили на культуре клеток MDCK. Концентрации вируса гриппа субтипов A/H5N1 и A/H3N2 в вирусаллантоисной жидкости (ВАЖ) составляли от 7,8 до 8,2 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл (50% тканевых цитопатических доз в мл).

Определение токсичности (максимально переносимых концентраций — МПК и 50% токсических концентраций — ТС<sub>50</sub>) исследуемых образцов проводили на перевиваемой линии клеток MDCK, полученной из Коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», как описано нами ранее [4].

Изучение противогриппозной активности грибных экстрактов проводили в культуре клеток MDCK и на аутибред-

ных мышах популяции ICR массой 14–16 г, полученных из Питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». В экспериментах *in vivo* использовали лечебно-профилактическую схему, представленную в работе [5]. Мышей подвергали эвтаназии в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях [6]. В качестве референс-препарата использовали Тамифлю (Ф. Хоффманн — Ля Рош Лтд., Швейцария).

Для изучения противогриппозной активности грибных экстрактов в культуре клеток MDCK в профилактической схеме определяли титры вируса в lg ТЦД<sub>50</sub>/мл в контроле и в опыте. Затем высчитывали индекс нейтрализации (ИН) вирусов под влиянием экстракта:  $ИН = \frac{\text{Титр}_{\text{контроль}}}{\text{Титр}_{\text{опыт}}} (lg)$  [5].

Химический состав (количество экстрактивных веществ, белков, полисахаридов, фенольных соединений и др.) водного и этанольного экстрактов плодовых тел *Coprinus comatus* определяли по методам, описанным нами ранее [7].

Статистическую обработку проводили стандартными методами с помощью пакета прикладных компьютерных программ «Statistica 6,0». Сравнение титров вируса в контроле и опыте проводили по *t*-критерию Стьюдента, сравнение доли выживших мышей в инфицированных группах при введении экстрактов и контроле проводили по Chi-square критерию, а СПЖ животных — по *U*-критерию Манна–Уитни [8, 9].

## Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты определения органолептических и физико-химических показателей водного и этанольного экстрактов навозника лохматого. Как видно из таблицы, сухой экстракт, приготовленный из водного извлечения гриба, содержит больше экстрактивных веществ, белков и сахаров в 3,7; 2,6 и 2,3 раза, соответственно, по сравнению с экстрактом из этанольного извлечения.

В дальнейших экспериментах была изучена противогриппозная активность водного и этанольного экстрактов *in vitro*. В табл. 2 представлены результаты определения в культуре клеток MDCK противовирусной активности грибных экстрактов в зависимости от их концентрации в среде в отношении вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) и вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) в профилактической схеме.

Как видно из табл. 2, оба экстракта проявили выраженный противовирусный эффект в отно-

**Таблица 2. Антивирусная активность экстрактов, полученных из водного и этанольного извлечений плодовых тел базидиомицета *Coprinus comatus*, в отношении вируса гриппа на клеточной линии MDCK (по профилактической схеме)**

| Штамм вируса гриппа             | Тип извлечений | Концентрация сухих веществ экстракта в культуральной жидкости, мг/мл | Индекс нейтрализации (Титр <sub>контроль</sub> — Титр <sub>опыт</sub> ), lg |
|---------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) | W              | 0,1                                                                  | 2,0                                                                         |
|                                 |                | 0,2                                                                  | 3,0                                                                         |
|                                 |                | 0,5                                                                  | 4,0                                                                         |
|                                 | E              | 1,0                                                                  | 2,2                                                                         |
|                                 |                | 2,0                                                                  | 2,7                                                                         |
|                                 |                | 2,5                                                                  | 3,0                                                                         |
|                                 |                | 3,5                                                                  | 3,5                                                                         |
| A/Aichi/2/68 (H3N2)             | W              | 0,1                                                                  | 0,0                                                                         |
|                                 |                | 0,2                                                                  | 2,0                                                                         |
|                                 |                | 0,5                                                                  | 2,5                                                                         |
|                                 |                | 1,0                                                                  | 3,5                                                                         |
|                                 | E              | 1,5                                                                  | 4,2                                                                         |
|                                 |                | 1,0                                                                  | 2,0                                                                         |
|                                 |                | 1,5                                                                  | 3,8                                                                         |
|                                 |                | 2,5                                                                  | 4,7                                                                         |

**Примечание.** W — экстракт из водного извлечения гриба; E — экстракт из этанольного извлечения гриба.

**Таблица 3. Противовирусная активность экстрактов базидиомицета *Coprinus comatus* в экспериментах на мышах, инфицированных 20 ЛД<sub>50</sub> вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) в лечебно-профилактической схеме**

| Группы мышей, получавших экстракты грибов, Тамифлю и дистиллированную воду (n=10) | Суточная доза сухого вещества образцов (мкг/г массы мыши) | Показатели выживаемости мышей, зараженных 20 ЛД <sub>50</sub> вируса гриппа |                         |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------|
|                                                                                   |                                                           | число выживших, асб. (%)                                                    | коэффициент защиты (КЗ) | СПЖ, сут. M±S <sub>m</sub> |
| Экстракт из водного извлечения гриба (W)                                          | 25                                                        | 4 (40%)*                                                                    | 40%                     | 9,3±4,2                    |
| Экстракт из этанольного извлечения гриба (E)                                      | 25                                                        | 4 (40%)*                                                                    | 40%                     | 9,2±4,3                    |
| Контроль — Тамифлю                                                                | 20                                                        | 6 (60%)*                                                                    | 60%                     | 11,4±3,4 <sup>#</sup>      |
| Контроль — дистиллированная вода                                                  | —                                                         | 0 (0)                                                                       | —                       | 6,2±2,0                    |

**Примечание.** M — среднее арифметическое; S<sub>m</sub> — стандартное отклонение; n — число животных в группе; КЗ — коэффициент защиты; СПЖ — средняя продолжительность жизни; \* — отличие от контроля по критерию  $\chi^2$ ; # — отличие от контроля по U-критерию Манна-Уитни при  $p \leq 0,05$ .

шении используемых в эксперименте штаммов вируса гриппа субтипов H3N2 и H5N1.

Индекс нейтрализации (ИН) вируса гриппа A/Aichi/2/68 под действием водного экстракта навозника лохматого в концентрации 0,2 мг/мл составил 2,0 lg, в то время как его этанольный экстракт аналогичную противовирусную активность проявил только при концентрации в пять раз большей по сравнению с таковой для водного экстракта (см. табл. 2).

Следует отметить, что противовирусный эффект в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 значительно увеличивался с возрастанием концентраций обоих экстрактов (см. табл. 2).

Исследование антивирусной активности грибных экстрактов против другого штамма вируса гриппа A/chicken/Kurgan/05/2005 показало, что ингибирование репродукции данного вируса в культуре клеток MDCK под действием этанольного и водного экстрактов навозника лохматого составило 3,5 и 4,0 lg, соответственно (см. табл. 2). При этом следует отметить, что аналогичный антивирусный эффект для водного экстракта был получен при концентрации в 7 раз меньшей (0,5 мг/мл) по сравнению с концентрацией этанольного экстракта (3,5 мг/мл) (см. табл. 2). В отно-

шении вируса гриппа птиц также наблюдалась дозозависимость антивирусной активности обоих грибных экстрактов (см. табл. 2).

Вероятно, более выраженный антивирусный эффект водного экстракта навозника лохматого по сравнению с этанольным связан с большим содержанием в первом препарате суммарных экстрактивных веществ (в 2,5 раза), а также таких биологически активных соединений, как суммарные сахара (в 2,7 раза) и суммарные белки (в 3,7 раза).

В следующей серии экспериментов исследовали противовирусную активность грибных экстрактов на лабораторных мышах в отношении вируса гриппа A/Aichi/2/68 (H3N2) по лечебно-профилактической схеме. Нами были определены процент выживаемости, коэффициент защиты и средняя продолжительность жизни (СПЖ) опытных и контрольных мышей, инфицированных вирусом гриппа. В табл. 3 представлены результаты проведения таких экспериментов.

В группах инфицированных животных, которым вводили водные и этанольные экстракты *Coprinus comatus*, отмечалось достоверное отличие доли выживаемости мышей в опыте относительно контроля, которое составило 40%. В инфицированной группе сравнения (введение Та-

мифлю) выжило 60% животных, тогда как в контрольной инфицированной группе (введение дистиллированной воды) погибло 100% животных (см. табл. 3).

Средняя продолжительность жизни (СПЖ) мышей, получавших экстракт из водного и этанольного извлечений навозника лохматого, достоверно не отличалась от аналогичного показателя в контрольной группе, тогда как СПЖ мышей, получавших коммерческий противогриппозный препарат Тамифлю, была достоверно выше, чем в контроле (см. табл. 3).

## Выводы

1. Показано, что водный и этанольный экстракты, полученные из плодовых тел гриба

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бурцева Е. И., Шевченко Е. С., Белякова Н. В., Оскерко Т. А., Колобухина Л. В., Меркулова Л. Н., Вартамян Р. В., Прилипов А. Г., Ротанов М., Заплатников А. Л. Мониторинг чувствительности выделенных в России эпидемических штаммов вирусов гриппа к этиотропным химиопрепаратам. Вопросы вирусологии. — 2009. — № 5. — С. 25—28. / Burtseva E. I., Shevchenko E. S., Belyakova N. V., Oskerko T. A., Kolobukhina L. V., Merkulova L. N., Vartanyan R. V., Prilipov A. G., Rotanov M., Zaplatnikov A. L. Monitoring chuvstvitelnosti vydelenykh v Rossii epidemicheskikh shtamov virusov grippa k etiotropnym khimioteraputatsiyam. Voprosy virusologii 2009; 5: 25—28. [in Russian]
2. Hurt A. C., Selleck P., Komadina N., Shaw R., Brown L., Barr I. G. Susceptibility of highly pathogenic A(H5N1) avian influenza viruses to the neuraminidase inhibitors and adamantanes. Antivir. Res. 2007, 73: 228—231.
3. Lackenby A., Hungnes O., Dudman S. G., Meijer A., Paget W. J., Hay A. J., Zambon M. C. Emergence of resistance to oseltamivir among influenza A (H1N1) viruses in Europe. Eurosurveillance 2008, 13 (5): 8026.
4. Мазуркова Н.А., Филиппова Е.И., Макаревич Е.В., Лобанова И.Е., Высочина Г.И. Высшие растения как основа для разработки противогриппозных препаратов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2014. — № 4. — С. 55—56. / Mazurkova N.A., Filippova E.I., Makarevich E.V., Lobanova I.E., Vysochina G.I. Vysshie rasteniya kak osnova dlya razrabotki protivogrippozykh preparatov. Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii 2014; 4: 55—56. [in Russian]
5. Филиппова Е.И., Кукушкина Т.А., Лобанова И.Е., Высочина Г.И., Мазуркова Н.А. Противовирусные свойства препарата на основе сум-

*Coprinus comatus* (О. Ф. Müll.) Pers., проявляют антигриппозную активность в культуре клеток МДСК. При этом водный экстракт по сравнению с этанольным проявляет более выраженную активность, что может быть обусловлено большим содержанием суммарных экстрактивных веществ, а также таких БАВ, как суммарные сахара и суммарные белки.

2. Оба экстракта проявляют сравнимую противовирусную активность в модели экспериментальной гриппозной инфекции у мышей при заражении вирусами гриппа А (H3N2) и А (H5N1), в связи с чем они могут быть использованы для дальнейших исследований с целью создания новых эффективных противовирусных препаратов против данной инфекции.

- мы флавоноидов манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L.) в отношении вируса гриппа. Фундаментальные исследования. — 2015. — С. 2—23: 5139—5144. / Filippova E.I., Kukushkina T.A., Lobanova I.E., Vysochina G.I., Mazurkova N.A. Protivovirusnye svoystva preparata na osnove summy flavonoidov manzhetki obyknovvennoi (*Alchemilla vulgaris* L.) v otnoshenii virusa grippa. Fundamentalnye issledovaniya 2015; 2—23: 5139—5144. [in Russian]
6. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Перевод с английского. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996. / Rukovodstvo po sodержaniyu i ispolzovaniyu laboratornykh zhivotnykh. Perevod s angliiskogo. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996. [in Russian]
  7. Костина Н.Е., Ибрагимова Ж.Б., Проценко М.А., Макаревич Е.В., Скарнович М.А., Филиппова Е.И., Горбунова И.А., Власенко В.А., Трошкова Г.П., Мазуркова Н.А., Шишкина Л.Н. Выделение, характеристика и противовирусные свойства биологически активных веществ из высших грибов Западной Сибири. Современные проблемы науки и образования. — 2013. — № 3. / Kostina N.E., Ibragimova Zh.B., Protsenko M.A., Makarevich E.V., Skarnovich M.A., Filippova E.I., Gorbunova I.A., Vlasenko V.A., Troshkova G.P., Mazurkova N.A., Shishkina L.N. Vydelenie, kharakteristika i protivovirusnye svoystva biologicheskii aktivnykh veshchestv iz vysshikh gribov Zapadnoi Sibiri. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya 2013; 3. [in Russian]
  8. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: 1976; 598. / Zaks L. Statisticheskoe otsenivanie. M.: 1976. — 598 c. [in Russian]
  9. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. М.: 2010. — 528 с. / Khalafyan A.A. Statistica 6. Statisticheskii analiz dannykh. M.: 2010; 528. [in Russian]

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Филиппова Екатерина Игоревна — н. с. лаборатории препаратов природного происхождения отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская обл. р.п. Кольцово

Мазурков Олег Юрьевич — м. н. с. лаборатории иммунологических препаратов отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская обл. р.п. Кольцово

Горбунова Ирина Александровна — к. б. н., с. н. с. лаборатории низших растений ФГБУН ЦСБС СО РАН, Новосибирск

Костина Нина Егоровна — к. б. н., н. с. лаборатории физиологической генетики ИЦИГ СО РАН, Новосибирск

Мазуркова Наталья Алексеевна — д. б. н., заведующая лабораторией препаратов природного происхождения отдела профилактики и лечения особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская обл. р.п. Кольцово

# Изучение активности и токсичности новых антибактериальных агентов на основе производных трииндолилметана в экспериментах *in vivo*

Е. П. МИРЧИНК<sup>1</sup>, Е. Б. ИСАКОВА<sup>1</sup>, С. Н. ЛАВРЕНОВ<sup>1</sup>, А. Ю. СИМОНОВ<sup>1</sup>, В. А. ГОЛИБРОДО<sup>1</sup>,  
А. А. ПАНОВ<sup>1</sup>, О. П. БЫЧКОВА<sup>1</sup>, В. В. ТАТАРСКИЙ<sup>2</sup>, \*А. С. ТРЕНИН<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России, Москва

## Study of the Activity and Toxicity of New Antibacterial Agents Based on Triindolymethane Derivatives *in vivo*

E. P. MIRCHINK<sup>1</sup>, E. B. ISAKOVA<sup>1</sup>, S. N. LAVRENOV<sup>1</sup>, A. YU. SIMONOV<sup>1</sup>, V. A. GOLIBRODO<sup>1</sup>,  
A. A. PANOV<sup>1</sup>, O. P. BYCHKOVA<sup>1</sup>, V. V. TATARSKIY<sup>2</sup>, A. S. TRENNIN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

<sup>2</sup> N. N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Moscow

Изучены биологические свойства новых синтетических антибиотиков группы трииндолилметана, в том числе соединений, содержащих в своей структуре малеимидный фрагмент. Показана их высокая антибактериальная активность *in vitro*, главным образом в отношении грамположительных бактерий, включая штаммы, обладающие множественной лекарственной устойчивостью. Соединения, проявившие наименьшую токсичность *in vitro* в отношении донорских фибробластов человека ПФ-hTERT, были подвергнуты дальнейшим испытаниям на животных (мыши). Выявленные при этом значения LD<sub>50</sub> и LD<sub>10</sub> составили, соответственно, 24,2 и 16,9 мг/кг для соединения LCTA-2701 и 41,8 и 34,1 мг/кг для соединения LCTA-2841. Испытание химерных соединений *in vivo* показало их высокую эффективность в модели стафилококкового сепсиса мышей и достаточно хорошую переносимость. Значения ED<sub>50</sub> составили 1,09 мг/кг для LCTA-2701 и 18,27 мг/кг для LCTA-2841, а их химиотерапевтический индекс, соответственно, 22,2 и 2,23.

**Ключевые слова:** трииндолилметаны, малеимины, химерные (гибридные) антибиотики, антибактериальная и антифунгальная активность *in vitro* и *in vivo*, цитотоксичность, токсичность *in vivo*, эффективность в модели стафилококкового сепсиса мышей.

Biological properties of new synthetic triindolymethylum antibiotics of the triindolymethane group, including compounds containing a maleimide fragment in the structure, are studied. Their high antibacterial activity *in vitro*, mainly against gram-positive bacteria, but also against strains with multiple drug resistance, was shown. The compounds, that showed the least *in vitro* toxicity on human donor fibroblasts PF-hTERT, were subjected to further testing in animals (mice). The LD<sub>50</sub> and LD<sub>10</sub> values identified were 24.2 and 16.9 mg/kg, respectively, for LCTA-2701 compound and 41.8 and 34.1 mg/kg for LCTA-2841 compound. *In vivo* testing of chimeric compounds showed their high efficiency in the model of staphylococcal sepsis in mice and a fairly good tolerability. ED<sub>50</sub> values were 1.09 mg/kg for LCTA-2701 compound and 18.27 mg/kg for LCTA-2841 compound, and their chemotherapeutic index was, respectively, 22.2 and 2.3.

**Keywords:** triindolymethane, maleimide, chimeric (hybrid) antibiotics, antibacterial and antifungal activity *in vitro* and *in vivo*, cytotoxicity, *in vivo* toxicity, efficacy in a model of staphylococcal sepsis in mice.

## Введение

Разработанные в НИИНА им. Г. Ф. Гаузе методы синтеза позволили получить серию симметричных N-алкилзамещенных солей трииндолилметилия, обладающих значительной антибактериальной и антифунгальной активностью [1, 2]. Одним из основных достоинств соединений этого типа была их высокая активность в отношении грамположительных бактерий, включая штаммы,

обладающие множественной лекарственной устойчивостью [3]. Основным недостатком оказалась довольно высокая цитотоксичность, выявляемая в экспериментах *in vitro* с использованием культур клеток млекопитающих [1,3]. Изучение закономерностей «структура–активность» в этом классе соединений позволило выявить как основные направления повышения активности вновь синтезируемых соединений, так и способы снижения их цитотоксических свойств [3–5]. Одним из наиболее перспективных подходов к снижению токсичности явилось создание «химерных» антибиотиков, содержащих фрагмент трииндо-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 119021 г. Москва, Большая Пироговская, 11. НИИНА им. Г.Ф.Гаузе



лилметиля, а в качестве одного из заместителей при атоме азота индольного цикла — замещённый малеинимидный фрагмент [6]. Создание подобных соединений с малеимидами — соединениями, способными к подавлению активности целого ряда микробных ферментов [7, 8], позволило значительно уменьшить цитотоксичность трииндоллилметилов без существенного снижения их биологической активности *in vitro* [6]. В настоящей работе приведены результаты детального изучения активности в экспериментах *in vitro* и *in vivo* двух перспективных соединений класса трииндоллилметанов, а также результаты изучения их токсических свойств и эффективности в лечении стафилококкового сепсиса у мышей.

## Материал и методы

**Получение и очистка новых соединений, их физико-химические характеристики, приготовление растворов.** Синтез соединений, схема их получения, очистки, а также физико-химические характеристики описаны ранее [6].

Для оценки биологической активности в экспериментах *in vitro* препараты растворяли в 100% ДМСО в концентрации 2–5 мг/мл с последующим приготовлением в том же растворителе двукратных разведений вплоть до концентрации препаратов 1,3 мкг/мл. При постановке экспериментов происходило дальнейшее разведение препаратов уже в водной среде — конечное содержание ДМСО не превышало 1%, а концентрация препаратов составляла от 32,0 до 0,13 мкг/мл.

Для изучения препаратов *in vivo* готовили растворы препаратов для внутривенного введения в 5% растворе глюкозы. Стерилизацию растворов проводили фильтрацией через фильтры 0,22 мкм Millipore, США.

**Препараты сравнения, материалы и реактивы.** Препаратами сравнения служили левофлоксацин, «Белмедпрепараты РУП», Беларусь (в отношении бактерий) и амфотерицин В, Sigma, США (в отношении грибов).

В работе использовали одноразовые стерильные 96-луночные планшеты, Пан-Эко, Россия, пластиковые чашки Петри, пластиковые стерильные пипетки, пробирки, Пан-Эко, Россия, одноканальные и многоканальные дозаторы ВНИИ БП, Россия, фильтры Sterivex-GV 0,22 мкм Millipore, США.

Для оценки микробных культур, имевших разную чувствительность к антибиотикам, использовали препараты антибиотиков отечественных и зарубежных компаний, а также антибиотики, полученные в НИИНА им. Г. Ф. Гаузе.

**Микробные штаммы, питательные среды, условия культивирования.** В работе использовали клинические изоляты бактерий, полученные из клиник и из музея штаммов Лаборатории проблем клинической микробиологии и контроля за госпитальными инфекциями ПМГМУ им. И. М. Сеченова, а также коллекционные штаммы грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов. Использовали клинические изоляты грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* 5 MRSA, *Staphylococcus aureus* 10, *Staphylococcus aureus* 100KC MRSA, *Staphylococcus aureus* 3798 MRSA, *Staphylococcus epidermidis* 533, *Staphylococcus haemolyticus* 585, *Enterococcus faecium* 569; коллекционные культуры грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC 700699, *Staphylococcus aureus* ATCC 21027 (=209 P), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Bacillus subtilis* ATCC 6633; коллекционные культуры грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; коллекционные культуры дрожжей *Candida albicans* ATCC 14053 и грибов *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Для выращивания микроорганизмов и постановки экспериментов по выявлению биологической активности соединений использовали следующие жидкие и плотные питательные среды: триптиказо-соевый агар, среда Мюллера–Хинтона (Acumedia, Baltimore, США). Для культивирования *Staphylococcus* spp. и *E. coli* использовали готовую сухую среду — триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). Для культивирования *Enterococcus* spp. и *P. aeruginosa* использовали готовую сухую среду — колумбийский агар (Columbia Agar Base, BBL). Среды стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин. Дрожжи *C. albicans* выращивали на агаре Сабу-ро (пептон — 10 г, глюкоза — 40 г, агар — 20 г, дист. вода — 1 л, pH 6,0), культуру мицелиальных грибов *A. niger* — на картофельно-глюкозном агаре (картофель — 200 г, глюкоза — 20 г, агар — 15 г, дистиллированная вода — 1 л, pH 5,5–6,0).

Для определения антибактериального действия использовали жидкую среду Мюллера–Хинтона, для выяснения действия соединений на грибы использовали среду RPMI 1640 с L-глутамином, без бикарбоната натрия, которую готовили из сухой среды (ICN Biomedicals Inc., Ohio, USA) путём разведения в дистиллированной воде, последующего забуферивания с использованием 0,165 М морфолинпропансульфоновой кислоты (MOPS; ACROS ORGANICS, New Jersey, США) и доведения pH среды до 7,0 добавлением 1 н раствора NaOH. Питательную среду RPMI 1640 стерилизовали фильтрацией под давлением через фильтры Sterivex-GV 0,22 мкм (Millipore, США).

**Определение антимикробной активности тестируемых соединений *in vitro*.** Определение антимикробной активности, проводили путём выявления их минимальной подавляющей концентрации (МПК) методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде с использованием 96-луночных стерильных планшетов. Работу с бактериями проводили в питательной среде Мюллера–Хинтона, с грибами — в среде RPMI 1640 с L-глутамином, без бикарбоната натрия. Определение, подробно описанное ранее [3, 7], проводили в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI/NCCLS) и методическими указаниями по изучению активности фармакологических веществ [9–12].

**Определение цитотоксического действия тестируемых соединений в отношении клеточных линий человека.** Цитотоксическое действие тестируемых соединений определяли с помощью МТТ-теста, с использованием ПФ-hTERT (донорские (постнатальные) фибробласты человека, иммортализованные с помощью трансфекции hTERT-гена каталитического компонента теломеразы) по методу, подробно описанному ранее [6]. Клетки ПФЧ культивировали в модифицированной среде Дульбекко (DMEM), содержащей 2 мМ L-глутамин, 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Инкубацию проводили в увлажнённой атмосфере 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. В эксперименте использовали клетки, находящиеся в логарифмической фазе роста. Для исследования цитотоксичности соединений в ячейки 96-луночных планшетов вносили по 190 мкл суспензии клеток (~2 тыс. клеток на лунку) и инкубировали 16 ч. В день эксперимента готовили серийные разведения тестируемых соединений в ДМСО (исходный раствор — 10 мМ в 100% ДМСО). В дальнейшем разведения проводили в питательной среде. Конечные концентрации соединений в опыте составляли 50, 17, 5,6, 1,85, 0,61, 0,21, 0,07, 0,02, 0,008, 0,0025 мМ. Конечная концентрация растворителя (ДМСО) составляла 1%. Каждая концентрация была представлена в 3 повторах. Контролем служили лунки, не содержащие тестируемых препаратов. Инкубацию клеток с тестируемыми соединениями проводили в течение 72 ч. После окончания инкубации в лунки вносили по 20 мкл раствора МТТ в ростовой среде (5 мг/мл). Клетки инкубировали 2 ч до развития фиолетовой окраски, после чего культуральную среду удаляли. В лунки вносили по 100 мкл ДМСО и суспендировали осадок. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Thermo Scientific Multiscan FC при длине волны 570 нм. За 100% выживаемости клеток при-

нимали значения оптической плотности в лунках без добавления тестируемых соединений (контроль). Процент выживаемости клеток, инкубированных с тестируемыми соединениями, вычисляли делением оптической плотности в соответствующей лунке (среднее 3 независимых измерений) на значение оптической плотности в контроле. Оценивали концентрацию препаратов, вызывающую гибель 50% клеток ( $IC_{50}$ ) и выражали её в мкг/мл.

#### **Определение острой токсичности и антимикробной активности тестируемых соединений *in vivo***

**Лабораторные животные.** Изучение острой токсичности препаратов и определение их эффективности в лечении стафилококкового сепсиса у мышей проводилось на мышах SHK, самках. Для изучения острой токсичности каждого препарата использовали 72 мыши, по 6 животных в группе. Изучение эффективности препаратов в лечении стафилококкового сепсиса требовало на каждый препарат использования 175 мышей по 10 животных в группе.

Животных получали из филиала «Андреевка» Центрального питомника РАН «Светлые Горы». В начале работы мыши в возрасте 8 нед. имели массу тела 18–20 г и акклиматизировались к новым условиям содержания в течение 14 дней до начала эксперимента. Во время этого периода осуществляли ежедневный осмотр внешнего состояния животных. В экспериментальные группы отбирались животные без признаков отклонений внешнего вида, случайным образом, так, чтобы индивидуальное значение массы отклонялось от среднего значения не более чем на 10%. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер, помечаемый проколом ушной раковины, и фиксируемый на карточке клетки. Группы мышей сформированы из расчёта по 6 или 10 животных в каждой группе.

Исследование выполнялось в соответствии с требованиями действующего Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) [13] и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Национальный стандарт Российской Федерации, ГОСТ Р 53434 — 2009) [14] и Европейской Конвенции по гуманному обращению с лабораторными животными [15]. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с правилами Этического Комитета Минздрава России.

Животных содержали в поликарбонатных клетках (по 6 или 10 особей в каждой) на подстиле. В качестве подстила использовали сертифицированные стерилизованные обеспыленные опилки, поставляемые ООО «Лабораторкорм». Стандартный гранулированный корм «Корм для содержания лабораторных грызунов», поставляемый ООО «Лабораторкорм», давали в кормовое углубление стальной решетчатой крышки клетки. Водопроводная вода ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая» давалась *ad libitum* в стандартных автоклавируемых питьевых бутылочках со стальными крышками-носиками. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: 18–22°C и относительной влажности 50–65%. Мониторинг температуры и влажности осуществлялся с помощью климатической установки. В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объёма воздуха в час.

**Препараты для внутривенного введения.** Для приготовления растворов препаратов, пригодных для внутривенного введения, высушенные препараты тестируемых соединений, чистотой не менее 99%, растворяли в 5% растворе глюкозы для внутривенного введения в концентрации 6,4 мг/мл. Стерилизацию растворов проводили фильтрацией через фильтры Sterivex 0,22 мкм (Millipore, США). В дальнейшем готовили стерильные растворы препаратов уменьшенной концентрации, позволяющие при введении 0,1 мл растворов добиться различных доз препаратов. Испытуемые препараты хранились при комнатной температуре не выше 25°C.

**Изучение острой токсичности.** Изучение острой токсичности каждого препарата проводили на 72 мышах (по 6 мышей в группе), используя раствор испытуемого препарата,

приготовленный в 5% растворе глюкозы. Препарат вводили животным в хвостовую вену с помощью шприца с металлической иглой в диапазоне доз препарата от 1,0 мг/кг до 40 мг/кг.

С первого дня после введения животные находились под непрерывным наблюдением. Ежедневно регистрировали число павших животных и срок их гибели, один раз в неделю регистрировали массу тела животных, потребление ими корма, а также ежедневно оценивали клинические признаки здоровья животных. Продолжительность наблюдения за животными составляла не менее 30 дней после последнего случая гибели животного.

Дозы, характеризующие токсичность препаратов, были рассчитаны по методу Литчфилда и Уилкоксона при помощи компьютерной программы StatPlus 2006 AnalystSoft StatPlus — программа статистического анализа, версия 2006. Для всех данных рассчитано среднее значение и стандартное отклонение. Различия определялись как достоверные при  $p \leq 0,05$ .

**Изучение эффективности препаратов в лечении стафилококкового сепсиса у мышей.** В эксперименте использовали штамм *S.aureus* 10, адаптированный к применению на животных и не имеющий резистентности к лекарственным препаратам. Первоначально определяли 100% летальную дозу ( $LD_{100}$ ) для этого штамма возбудителя для мышей SHK, т. е. дозу возбудителя, при которой регистрировалась гибель 100% животных. Доза стафилококка  $LD_{100}$ , выявленная в эксперименте, составляла  $8,0 \times 10^8$  КОЕ/мышь, что позволило использовать её в дальнейшем для заражения животных.

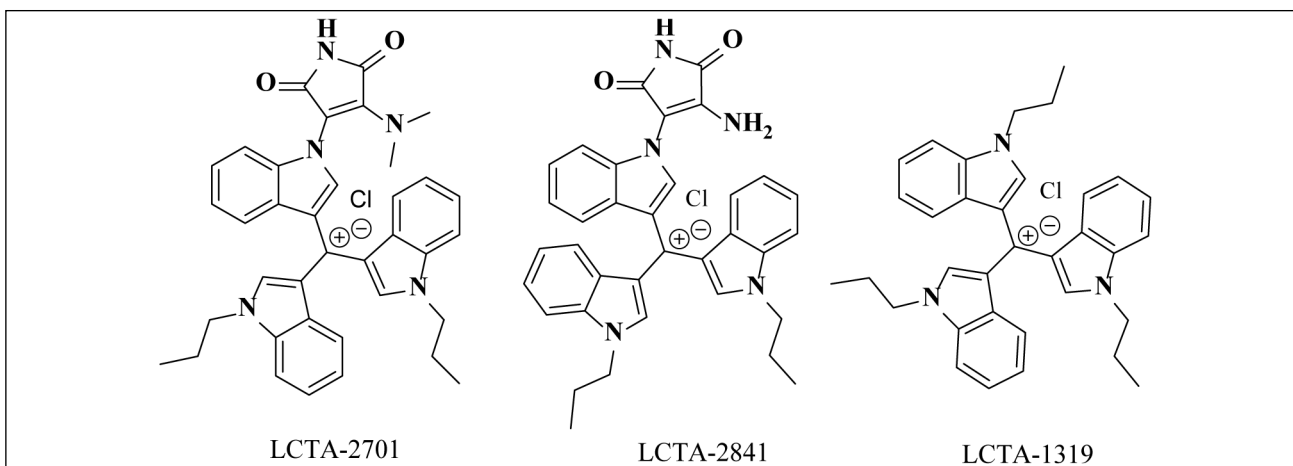
**Протокол эксперимента.** Химиотерапевтическую эффективность производных трииндолилметана определяли на модели стафилококкового сепсиса мышей. Мышей колонии SHK, массой 18–20 г заражали внутривенно летальной дозой стафилококка (по 0,1 мл раствора). Через 1 ч после заражения мышам внутривенно (по 0,1 мл раствора) вводили испытуемые производные трииндолилметана в ранжире доз препарата от 0,1 до 40 мг/кг. Использовали растворы испытуемого препарата, приготовленные в 5% растворе глюкозы. Изучение эффективности каждого препарата проводили на 175 мышах (по 10 мышей в группе).

Продолжительность наблюдения за животными в эксперименте составляла 14 дней. Ежедневно регистрировали число павших животных и срок их гибели, три раза в неделю регистрировали массу тела животных. Следили за потреблением ими корма, а также ежедневно оценивали клинические признаки здоровья животных.

Для определения эффективности испытуемых препаратов использовали показатель 50% эффективной дозы —  $ED_{50}$ , который определяли по методу Беренса (метод накопления частот), а также по методу Литчфилда и Уилкоксона при помощи компьютерной программы StatPlus 2006 AnalystSoft StatPlus — программа статистического анализа, версия 2006. Для всех данных рассчитано среднее значение и стандартное отклонение. Различия определялись как достоверные при  $p \leq 0,05$ .

## **Результаты и обсуждение**

Была протестирована антимикробная активность *in vitro* свыше 100 производных трииндолилметана в отношении 17 штаммов грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов. Большинство полученных производных (74,2%) проявили высокую активность в отношении грамположительных бактерий, в том числе коллекционных культур и клинических изолятов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. МПК активных производных в отношении грамположительных организмов варьировала в пределах от 0,13 до 2,0 мкг/мл. Отдельные производные проявили также высокую ак-



### Формулы изученных соединений.

тивность в отношении грибов. Вместе с тем, их активность в отношении грамотрицательных бактерий была, как правило, не очень высока.

По показателям цитотоксического действия *in vitro* в отношении immortalized postnatal fibroblasts человека ПФЧ-hTERT изученные соединения существенно различались, что позволило отобрать для более подробного изучения два соединения, обладавшие относительно невысокой цитотоксичностью.

Наилучшее соотношение антимикробной активности с приемлемой цитотоксичностью показали соединения, основу которых составляет молекула трииндолилметана, содержащая малеимидный фрагмент. На рисунке приведены химические структуры соединений LCTA-2701 и LCTA-2841, проявивших в экспериментах *in vitro* удовлетворительные показатели цитотоксичности. Для сравнения приведена также структура их прототипа — соединения LCTA-1319.

Ниже приведены результаты изучения этих соединений в экспериментах *in vitro*. В качестве препаратов сравнения использованы антибактериальный антибиотик левофлоксацин и противогрибковый антибиотик амфотерицин В (табл. 1).

Производные LCTA-2701 и LCTA-2841 проявили высокую активность не только в отношении штаммов *S.aureus* ATCC 25923 и *S.aureus* 10, чувствительных к антибиотикам, но также в отношении резистентных штаммов, например, активно подавляли рост *S.aureus* 5, резистентного к пенициллинам и эритромицину, были активны в отношении полирезистентных штаммов *S.aureus* 3798 и *S.aureus* 100КС, устойчивых к антибиотикам пенициллинового и цефалоспоринового ряда, клиндамицину, эритромицину и фторхинолонам. Высокую активность проявили производные LCTA-2701 и LCTA-2841 в отношении штамма *S.epidermidis* 533, устойчивого к аминогликозидным антибиотикам, однако в действии на полирезистентные штаммы

**Таблица 1. Антимикробная активность *in vitro* соединений в сравнении с левофлоксацином (Лф) и амфотерицином В (Ам В)**

| Микробные штаммы                           | МПК, мкг/мл          |           |           |           |
|--------------------------------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|
|                                            | Контроль             | LCTA-2701 | LCTA-2841 | LCTA-1319 |
| Молекулярная масса                         |                      | 618,0     | 590,0     | 522,0     |
| IC <sub>50</sub> , мкг/мл (ПФЧ-hTERT)      | >50 (Лф); 0,7 (Ам В) | 0,6       | 2,8       | 0,07      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923    | 0,25 (Лф)            | 0,13      | 0,5       | 1         |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 3798          | 32,0 (Лф)            | 0,13      | 0,25      | 0,13      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 100КС         | 32,0 (Лф)            | 0,13      | 0,5       | 0,25      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 700699   | 16,0 (Лф)            | 0,13      | 0,5       | 0,5       |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 10            | 0,13 (Лф)            | 0,25      | 1         | 0,25      |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 5             | 0,25 (Лф)            | 0,5       | 0,25      | 0,5       |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 533      | 0,5 (Лф)             | 0,5       | 0,5       | 0,25      |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> 585     | 0,5 (Лф)             | >64       | 2         | 0,5       |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 | 8,0 (Лф)             | 0,5       | >64       | —         |
| <i>Enterococcus faecium</i> 569            | 1,0 (Лф)             | >64       | 8         | 1         |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922         | 0,06 (Лф)            | 16        | >64       | >64       |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883    | 0,25 (Лф)            | >64       | >64       | >64       |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315         | 4,0 (Лф)             | >64       | 16        | >64       |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 14028  | 0,13 (Лф)            | >64       | >64       | >64       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853   | 1,0 (Лф)             | 16        | 32        | >64       |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 14053         | 1,0 (Ам В)           | 2         | 16        | 1         |
| <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404        | 1,0 (Ам В)           | 2         | 8         | 2         |



**Таблица 2. Определение эффективности препаратов LCTA-2701 и LCTA-2841 *in vivo* в модели стафилококкового сепсиса мышей**

| № группы | Испытуемый препарат                               | Доза препарата, мг/кг | Гибель, % | Выживаемость, % |
|----------|---------------------------------------------------|-----------------------|-----------|-----------------|
| 1        | LCTA-2701                                         | 0,5                   | 70        | 30              |
|          |                                                   | 1,0                   | 50        | 50              |
|          |                                                   | 1,5                   | 40        | 60              |
|          |                                                   | 1,75                  | 10        | 90              |
|          |                                                   | 2,0                   | 0         | 100             |
|          |                                                   | 5,0                   | 80        | 20              |
| 2        | LCTA-2841                                         | 10,0                  | 70        | 30              |
|          |                                                   | 15,0                  | 60        | 40              |
|          |                                                   | 20,0                  | 40        | 60              |
|          |                                                   | 25,0                  | 40        | 60              |
|          |                                                   | 30,0                  | 20        | 80              |
|          |                                                   | —                     | 100       | 0               |
| 3        | Контроль (заражённые мыши, не получившие лечения) | —                     | 100       | 0               |
| 4        | Интakтные животные (получали раствор 5% глюкозы)  | —                     | 0         | 100             |

*S. haemolyticus* 585 и *E. faecium* 569, последний из которых обладал дополнительной резистентностью к доксициклину, а также гликопептидному антибиотику ванкомицину, производное LCTA-2701 оказалось менее активным.

В целом, в сравнении со своим прототипом — соединением ЛХТА 1319, производные LCTA-2701 и LCTA-2841, по-прежнему, обладали высокой антимикробной активностью, в особенности в отношении грамположительных бактерий и грибов. Введение малеимидного фрагмента в их структуру позволило даже несколько повысить антимикробную активность в сравнении с прототипом. Одновременно резко снизилась их цитотоксичность.

Испытание производных в экспериментах *in vivo* при внутривенном введении мышам позволило выявить следующие показатели токсичности: LD<sub>50</sub> = 24,2 (20,2÷28,2) мг/кг, LD<sub>10</sub> = 16,9 (15,4÷17,6) мг/кг для препарата LCTA-2701 и LD<sub>50</sub> = 41,8 (37,6÷45,9) мг/кг, LD<sub>10</sub> = 34,1 (31,0÷35,8) мг/кг для препарата LCTA-2841. Испытание производных LCTA-2701 и LCTA-2841 *in vivo* показало их хорошую переносимость и высокую эффективность в модели стафилококкового сепсиса мышей (табл. 2).

В контрольной группе мышей, заражённых летальной дозой золотистого стафилококка (8×10<sup>8</sup> КОЕ/мышь) (группа 3), гибель животных отмечалась, начиная с 4 суток эксперимента. К 10-м суткам эксперимента все животные контрольной группы, не получавшие лечения, погибли. В контрольной группе животных, не заражённых стафилококком (группа 4), гибели не наблюдалось.

В опытных группах у мышей, получивших препарат LCTA-2701, первая гибель наблю-

далась на 6—7-е сутки эксперимента, а последняя мышь погибала на 12-е сутки. При введении препарата LCTA-2701 в дозе 2 мг/кг была отмечена 100% выживаемость. При введении препарата LCTA-2841 100% выживаемости не наблюдалось ни в одной из подопытных групп. Максимальная выживаемость при введении этого препарата составила 80% и была отмечена в группе животных, получивших препарат в дозе 30 мг/кг (табл. 2).

Динамика изменения массы тела животных в течение срока наблюдения характеризовалась первоначальным резким её снижением и последующим медленным восстановлением по сравнению с контролем — нелечеными животными.

С использованием программы StatPlus 2006 Professional 3.8.0. определены показатели ED<sub>50</sub> для обоих препаратов. Значение ED<sub>50</sub> для соединения LCTA-2701 составило 1,09 (0,77÷1,42) мг/кг, а для соединения LCTA-2841 — 18,27 (11,9÷24,95) мг/кг.

Количественной характеристикой широты терапевтического действия является терапевтический индекс, представляющий собой отношение LD<sub>50</sub> к ED<sub>50</sub> [13]. Терапевтический индекс испытуемого препарата LCTA-2701 составил 22,2 (24,2 мг/кг / 1,09 мг/кг), а для LCTA-2841 — 2,3 (41,8 мг/кг / 18,27 мг/кг). Таким образом, терапевтические показатели новых соединений LCTA-2701 и LCTA-2841 свидетельствуют об их весьма неплохой терапевтической эффективности, в особенности у препарата LCTA-2701, и соответственно, о перспективности дальнейшего изучения этих соединений в целях создания новых высокоэффективных лекарственных средств.

#### Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №16-15-10300)

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Степанова Е.В., Штиль А.А., Лавренов С.Н. и др. Соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилиа — новый класс противоопухолевых соединений. Известия Академии наук. Серия химическая. — 2010. — Т. 59. — № 12. — С. 2203—2211. / Stepanova E.V., Shitil A.A., Lavrenov S.N. i dr. Soli tris(1-alkilindol-3-il)metiliya — novyi klass protivopukhlevykh soedinenii. Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya 2010; 59: 12: 2203—2211. [in Russian]

2. Lavrenov S.N., Luzikov Y.N., Bykov E.E. et al. Synthesis and cytotoxic potency of novel tris(1-alkylindol-3-yl)methylum salts: Role of N-alkyl substituents. Bioorgan Med Chem 2010; 18: 6905—6913.
3. Тренин А.С., Лавренов С.Н., Мирчик Е.П. и др. Разработка препаратов на основе трис(1-алкилиндол-3-ил)метана с целью преодоления лекарственной устойчивости возбудителей. Антибиотики и химиотер. — 2017. — Т. 62. — № 1—2. — С. 3—9. / Trenin A.S., Lavrenov S.N., Mirchink E.P. i dr. Razrabotka preparatov na osnove tris(1-alkilindol-3-il)metana s tselyu preodoleniya lekarstvennoi ustoy-

- ichivosti vzbuditelei. Antibiotiki i khimioter 2017; 62: 1—2: 3—9. [in Russian]
4. Ol'khovich M.V., Sharapova A.V., Lavrenov S.N., Blokhina S.V., Perlovich G.L. Inclusion complexes of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin with novel cytotoxic compounds: Solubility and thermodynamic properties. *Fluid Phase Equilibria* 2014; 384: 68—72.
  5. Durandin N.A., Tsvetkov V.B., Bykov E.E. et al. Quantitative parameters of complexes of tris(1-alkylindol-3-yl)methyl salts with serum albumin: relevance for the design of drug candidates. *J Photochem Photobiol B: Biology* 2016; 162: 570—576
  6. Лавренов С.Н., Симонов А.Ю., Панов А.А. и др. Новые антимикробные вещества — гибридные производные малеимидов и трииндоллилметанов: синтез и биологическая активность. *Антибиотики и химиотер.* — 2018. — Т. 63. — № 7—8. — С. 3—9. / *Lavrenov S.N., Simonov A.YU., Panov A.A. i dr. Novye antimikrobnye veshchestva — gibridnye proizvodnye maleimidov i triindolilmetanov: sintez i biologicheskaya aktivnost. Antibiotiki i khimioter* 2018; 63: 7—8: 3—9. [in Russian]
  7. Лакатощ С.А., Тренин А.С., Симонов А. Ю. и др. Новые биологически активные соединения в ряду производных 3-(индол-1-ил)-, 3-(N-аминоарил)- и 3-(S-тиоарил)малеимида. *Антибиотики и химиотер.* — 2017. — Т. 62. — № 5—6. — С. 3—11. / *Lakatosh S.A., Trenin A.S., Simonov A. Yu. i dr. Novye biologicheski aktivnye soedineniya v ryadu proizvodnykh 3-(indol-1-il)-, 3-(N-aminoaril)- i 3-(S-tioaril)maleimida. Antibiotiki i khimioter* 2017; 62: 5—6: 3—11. [in Russian]
  8. Panov A.A., Simonov A. Yu., Lavrenov S.N., Lakatosh S.A., Trenin A.S. 3,4-Disubstituted maleimides: synthesis and biological activity. *Chem Heterocycl Comp* 2018; 54: 2: 103—113.
  9. Рекомендации Национального Комитета Клинических Лабораторных Стандартов США (NCCLS), 2000 [NCCLS Reference Method for Broth Dilution Antibacterial Susceptibility Testing, USA, 2000].
  10. CLSI M38-A2. Ed. 2. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standart. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, 2008.
  11. CLSI M27-S3. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, 2013.
  12. Кубанова А.А., Степанова Ж.В., Гуськова Т.А. и др. Методические указания по изучению противогрибковой активности фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К., 2012. — С. 578—586. / *Kubanova A.A., Stepanova Zh.V., Guskova T.A. i dr. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu protivogribkovoï aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniï lekarstvennykh sredstv. Chast 1. Pod red. A.N. Mironova. M.: Grif i K., 2012; 578—586. [in Russian]*
  13. Арзамасцев Е.В., Березовская И.В., Верстакова О.Л. и др. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К., 2012. — С.13—24. / *Arzamastsev E.V., Berезovskaya I.V., Verstakova O.L. i dr. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya lekarstvennykh sredstv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniï lekarstvennykh sredstv. CHast 1. Pod red. A.N. Mironova. M.: Grif i K., 2012; 13—24. [in Russian]*
  14. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 года № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». / *Prikaz Ministerstva zdravookhraneniya i sotsialnogo razvitiya Rossiiskoi Federatsii ot 23 avgusta 2010 goda № 708n «Ob utverzhdenii Pravil laboratornoi praktiki».* [in Russian]
  15. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Council of Europe, 1986, ETS No. 123).

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Мирчинк Елена Павловна — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Исакова Елена Борисовна — научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Лавренов Сергей Николаевич — к. х. н., старший научный сотрудник лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Симонов Александр Юрьевич — к. х. н., научный сотрудник лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф.Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Голибродо Василиса Антоновна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Панов Алексей Александрович — инженер лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Бычкова Ольга Петровна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории Разработки методов поиска биологически активных соединений ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

Татарский Виктор Вячеславович — к. б. н., научный сотрудник лаборатории Механизмы гибели опухолевых клеток ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Тренин Алексей Сергеевич — д. б. н., заведующий лабораторией Разработки методов поиска биологически активных соединений ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф.Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»), Москва

# Оценка распространения ректального носительства генов вирулентности и карбапенемаз у пациентов, поступивших на плановую госпитализацию

И. В. ЛАЗАРЕВА<sup>1</sup>, П. С. СТАРКОВА<sup>2</sup>, В. А. АГЕЕВЦ<sup>1</sup>, М. О. ВОЛКОВА<sup>1</sup>, М. С. ЛЕБЕДЕВА<sup>3</sup>,  
А. С. НАВАЦКАЯ<sup>3</sup>, Е. Б. МЯСНИКОВА<sup>3</sup>, Г. В. МИТРОШИНА<sup>3</sup>, С. В. СИДОРЕНКО<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский национальный исследовательский институт информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

<sup>4</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

## Assessment of the Distribution of Rectal Carriage of Virulence and Carbapenemases Genes in Patients Enrolled for Planned Hospitalization

I. V. LAZAREVA<sup>1</sup>, P. S. STARKOVA<sup>2</sup>, V. A. AGEVETS<sup>1</sup>, M. O. VOLKOVA<sup>1</sup>, M. S. LEBEDEVA<sup>3</sup>,  
A. S. NAVATSKAYA<sup>3</sup>, E. B. MYASNIKOVA<sup>3</sup>, G. V. MITROSHINA<sup>3</sup>, S. V. SIDORENKO<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg

<sup>2</sup> Saint Petersburg National Research Institute of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg

<sup>3</sup> Saint Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic), Saint Petersburg

<sup>4</sup> North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg

*Klebsiella pneumoniae* являются наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций. Выделяют два основных типа *K. pneumoniae* (Кр) — классические *K. pneumoniae* (сКр) и гипerviрулентные *K. pneumoniae* (hvКр). В 2015 г. в Китае впервые была зарегистрирована вспышка госпитальных инфекций, вызванных Кр, проявляющей одновременно признаки гипerviрулентности и множественной устойчивости (продукцию blaKPC-2). Целью настоящей работы была оценка частоты ректальной колонизации у пациентов, поступающих на плановое лечение в онкологический стационар вирулентными и множественно устойчивыми штаммами Кр и *Pseudomonas aeruginosa*. В исследование было включено 168 пациентов, из ректальных проб которых было выделено 156 изолятов грамотрицательных бактерий. Только один изолят *P. aeruginosa* оказался продуцентом bla<sub>VTM</sub>. Было выделено 30 изолятов *Klebsiella* spp.: Кр n=25; *K. oxytoca* n=3; *K. planticola* n=1; *K. variicola* n=1. Среди них продуцентов карбапенемаз выявлено не было. В двух из трёх изолятов *K. oxytoca* были обнаружены маркеры гипerviрулентности: в одном (string-test «-») — все 5 генов (*iucA*, *prmpA*, *prmpA2*, *iroB*, *peg-344*), а также два дополнительных гена вирулентности — *terB* и *irp2*; во втором (string-test «+») — *rmpA* и *irp2*. Гипермукоидный фенотип наблюдался у шести изолятов Кр и одного *K. oxytoca*. В изолятах Кр были обнаружены маркеры гипerviрулентности, предположительно плазмидной локализации: *iucA* (аэробактин), n=3; *prmpA*, n=3 (регулятор гипермукоидного фенотипа); *iroB*, n=2 (сальмохелин); а также *peg-344* (внутренний мембранный транспортер), n=4; а также детерминанты вирулентности предположительно хромосомной локализации: *terB*, n=1 и *irp2*, n=8. В изоляте *K. variicola* также были обнаружены — *terB* и *irp2*. Очевидно, что постоянным резервуаром и источником генов вирулентности, наряду с генами резистентности, может быть ректальное носительство.

**Ключевые слова:** ректальное носительство, *Klebsiella pneumoniae*, гены карбапенемаз, маркеры гипerviрулентности.

*Klebsiella pneumoniae* is the most common cause of nosocomial infections. There are two main types of *K. pneumoniae* (Kp) — classical *K. pneumoniae* (сKp) and hypervirulent *K. pneumoniae* (hvKp). In 2015, an outbreak of nosocomial infections caused by Kp was recorded in China for the first time, showing signs of hypervirulence and multidrug resistance (production of blaKPC-2). The purpose of this work is to assess the frequency of rectal colonization of patients admitted to a planned treatment in a cancer hospital with virulent and multidrug resistant strains of Kp and *Pseudomonas aeruginosa*. The study included 168 patients, 156 isolates of gram-negative bacteria were isolated from their rectal samples. Only one *P. aeruginosa* isolate turned out to be a bla<sub>VTM</sub> producer. 30 isolates of *Klebsiella* spp.: Kp n=25; *K. oxytoca* n=3; *K. planticola* n=1; *K. variicola* n=1. Producers of carbapenemases have not been identified among them. Hypervirulence markers were detected in two of the three *K. oxytoca* isolates: in one (string-test «-») — all 5 genes (*iucA*, *prmpA*, *prmpA2*, *iroB*, *peg-344*), as well as two additional virulence genes, *terB* and *irp2*; in the second (string-test «+») — *rmpA* and *irp2*. A hypermucoid phenotype was observed in six Kp isolates and one *K. oxytoca*. Markers of hypervirulence, presumably with plasmid localization, were found in the Kp isolates: *iucA* (aerobactin), n=3; *prmpA* (hypermucoid phenotype regulator), n=3; *iroB* (salmohelin), n=2; and also, *peg-344* (inner membrane conveyor), n=4; virulence determinants of presumably chromosomal localization: *terB*, n=1 and *irp2*, n=8. *TerB* and *irp2* were also found in the *K. variicola* isolate. It is obvious that rectal carriage of bacteria is a real problem as it may be a constant reservoir and source of virulence genes, along with resistance genes.

**Keywords:** rectal carriage, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemases genes, hypervirulence markers.

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. Детский научно-клинический центр инфекционных болезней



## Введение

Грамотрицательные бактерии, в частности, *Klebsiella pneumoniae*, на сегодняшний день являются наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций в стационарах Санкт-Петербурга [1]. В настоящее время принято выделять два основных типа *K. pneumoniae* — это классические *K. pneumoniae* (сКр) и гипервирулентные *K. pneumoniae* (hvКр). Распространение детерминант резистентности, посредством мобильных генетических элементов, во внутрибольничной среде, как правило, связано именно с сКр. Они способны вызывать инвазивные, плохо поддающиеся лечению обычными антибиотиками, инфекции различной локализации у ослабленных реанимационных пациентов. С другой стороны, hvКр, которые характеризуются гипермукоидным фенотипом, поражают ранее здоровых пациентов и вызывают тяжёлые инфекции, такие как абсцессы печени, менингит, эндофтальмит, некротизирующий фасциит и т.д. Вспышки подобных инфекций с инвазивным синдромом, вызванные hvКр, связаны, в основном, с азиатскими странами [2–4]. В европейской части России подобные инфекции с характерным для данного возбудителя синдромом, пока описаны не были. Особое беспокойство вызывает тот факт, что штаммы hvКр способны эволюционировать в карбапенемаз-продуцирующие hvКр, за счёт приобретения плазмиды, несущей гены карбапенемаз [5]. Существует также альтернативный вариант приобретения гигантской плазмиды гипервирулентности штаммами сКр [6].

Как известно, ректальное носительство является постоянным резервуаром генов карбапенемаз для грамотрицательных бактерий, которые могут стать реальной угрозой эпидемиологическому благополучию стационара в случае их распространения и закрепления в нём [7]. Опасность ректального носительства зачастую связана также с последующим развитием инфекций у пациентов [8].

Поэтому, для предотвращения распространения резистентности во многих европейских стационарах существует практика детекции генов карбапенемаз в мазках из прямой кишки у пациентов, поступающих на госпитализацию, и последующая индивидуальная либо когортная изоляция пациентов с положительными результатами.

И если опасность ректального носительства *K. pneumoniae*, обладающих генами карбапенемаз не вызывает сомнения, то роль изолятов, обладающих генами вирулентности в распространении тяжёлых инфекций мало изучена. Описано множество генов, связанных с вирулентностью, однако их значение в формировании гипервирулентного фенотипа окончательно не установлено. В недавно опубликованной работе Т. А. Russo и соавт., 2018 [9], были выявлены пять генов (*iucA*,

*prmpA*, *prmpA2*, *peg344*, *iroB*), наличие которых с высокой чувствительностью и специфичностью позволяет определить принадлежность *K. pneumoniae* к hvКр-типу.

Принимая во внимание потенциальную угрозу распространения карбапенемаз-продуцирующих hvКр штаммов и необходимость поиска источника и постоянного резервуара генов гипервирулентности и карбапенемаз, целью нашего исследования явилась оценка распространения ректального носительства как резистентных к карбапенемам грамотрицательных бактерий, так и основных маркеров гипервирулентности у *K. pneumoniae* на момент плановой госпитализации пациентов в стационар.

## Материал и методы

У пациентов, поступающих на плановую госпитализацию в стационар, в течение двух недель (с 22 по 26.10.18, с 21 по 25.01.19) были получены мазки из прямой кишки. Собранные образцы инкубировались при 37°C в течение 18–24 ч в бульоне Мюллера–Хинтона с меропенемом (концентрация — 8 мкг/мл). Для дальнейшей селекции устойчивых к меропенему штаммов грамотрицательных бактерий образцы высевали на селективную среду с меропенемом в той же концентрации и инкубировали в течение 18–24 ч при 37°C. Выросшие после инкубации на средах с меропенемом изоляты, считались потенциально резистентными к меропенему. Идентификация выросших изолятов проводилась с помощью масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS, Bruker, Германия). Определение чувствительности к антибиотикам проводили методом серийных микроотведений в бульоне Мюллера–Хинтона, согласно рекомендациям ISO 20776-1:2006 и критериям EUCAST (EUCAST. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 9.0 January 2019. [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)), в 96-луночных планшетах. МПК определяли для следующих антибиотиков: амикацин (AN), гентамицин (GEN), цефтазидим (CAZ), цефтазидим–авибактам (CZA), азтреонам–авибактам (AZA), цефотаксим (CTX), ципрофлоксацин (CIP), имипенем (IP), меропенем (MEM), доприпенем (DP), триметоприм–сульфаметоксазол (SXT), тигециклин (TIG), полимиксин В (PB), цефоперазон–сульбактам (CFS), фосфомицин (FOS). Приготовление каждой новой партии планшетов для определения чувствительности к антибиотикам сопровождалась рядом контролей: контроль пригодности используемых субстанций антибиотиков и их навесок с использованием *E. coli* ATCC 25922, и контроль стерильности бульона. Постановка эксперимента для каждой новой партии изолятов также сопровождалась рядом контролей: контролем роста тестируемых изолятов и контролем стерильности используемого бульона.

Наличие генов наиболее распространённых карбапенемаз детектировали с помощью готовых наборов для реал-тайм ПЦР, («АмплиСенс», InterLabService, Россия). Отсутствие карбапенемазной активности изолятов подтверждали методом инактивации карбапенемов (carbapenem inactivation method — CIM) [9]. Маркеры гипервирулентности — *iucA*, *iroB*, *terB*, *peg344*, *prmpA*, *prmpA2*, *irp2* — детектировали с помощью ПЦР с использованием последовательности праймеров и условий амплификации, в соответствии с Russo et al., 2018.

## Результаты и обсуждение

Всего за время проведения эксперимента было обследовано 168 пациентов ( $n=85$ , с 22.10.2018 по 26.10.2018;  $n=83$ , с 21.01.2019 по 25.01.2019). По-

**Таблица 1. Видовой состав и количество выделенных грамотрицательных бактерий**

| Период исследования        | Вид м/о                         | Количество выделенных м/о |
|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| с 22.10.2018 по 26.10.2018 | <i>Acinetobacter baumannii</i>  | 1                         |
|                            | <i>Aeromonas veronii</i>        | 2                         |
|                            | <i>Citrobacter freundii</i>     | 3                         |
|                            | <i>Citrobacter braaki</i>       | 3                         |
|                            | <i>Citrobacter diversus</i>     | 1                         |
|                            | <i>Citrobacter amalonaticus</i> | 1                         |
|                            | <i>Enterobacter cloacae</i>     | 2                         |
|                            | <i>Escherichia coli</i>         | 46                        |
|                            | <i>Enterobacter sp.</i>         | 3                         |
|                            | <i>Klebsiella variicola</i>     | 1                         |
|                            | <i>Klebsiella oxytoca</i>       | 2                         |
|                            | <i>Klebsiella planticola</i>    | 1                         |
|                            | <i>Klebsiella pneumoniae</i>    | 18                        |
|                            | <i>Morganella morganii</i>      | 5                         |
|                            | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 11                        |
|                            | <i>Proteus mirabilis</i>        | 3                         |
|                            | <i>Paenibacillus sp.</i>        | 1                         |
|                            | <i>Shewanella putrefaciens</i>  | 1                         |
|                            | <i>Acinetobacter baumannii</i>  | 2                         |
| с 21.01.2019 по 25.01.2019 | <i>Aeromonas hydrophila</i>     | 1                         |
|                            | <i>Escherichia coli</i>         | 34                        |
|                            | <i>Klebsiella oxytoca</i>       | 1                         |
|                            | <i>Klebsiella pneumoniae</i>    | 7                         |
|                            | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 3                         |
|                            | <i>Proteus mirabilis</i>        | 2                         |
|                            | <i>Pseudomonas putida</i>       | 1                         |

сле культивирования на селективных средах с меропенемом было выделено 156 изолятов грамотрицательных бактерий. Из них, в октябре 2018 — 105 изолятов, относящихся к 19 видам; в январе 2019 — 51 изолят, относящийся к 8 видам (табл. 1).

**Таблица 2. МПК антибиотиков для *K.pneumoniae***

| Наименование антибиотика     | Контрольная точка |        | R, % | I, % | S, % | МПК <sub>50</sub> | МПК <sub>90</sub> | Диапазон МПК |
|------------------------------|-------------------|--------|------|------|------|-------------------|-------------------|--------------|
| Амикацин                     | S<=8              | R>=32  | 25,9 | 0    | 74,1 | 2                 | 128               | 0,25—512     |
| Гентамицин                   | S<=2              | R>=8   | 25,9 | 0    | 74,1 | 1                 | 256               | 0,5—512      |
| Цефтазидим                   | S<=1              | R>=8   | 40,7 | 0    | 59,3 | 1                 | 256               | 0,5—256      |
| Цефотаксим                   | S<=1              | R>=4   | 37   | 3,7  | 59,3 | 0,25              | 64                | 0,125—256    |
| Ципрофлоксацин               | S<=0,5            | R>=2   | 37   | 14,8 | 48,1 | 1                 | 128               | 0,125—128    |
| Имипенем                     | S<=2              | R>=8   | 3,7  | 0    | 96,3 | 0,064             | 2                 | 0,06—32      |
| Меропенем                    | S<=2              | R>=16  | 3,7  | 18,5 | 77,8 | 0,064             | 4                 | 0,06—32      |
| Триметоприм/сульфаметоксазол | S<=2              | R>=8   | 22,2 | 0    | 77,8 | 0,25              | 128               | 0,06—128     |
| Тигециклин                   | S<=1              | R>=4   | 0    | 0    | 100  | 0,032             | 0,25              | 0,03—0,5     |
| Полимиксин В                 | S<=2              | R>=4   | 18,5 | 0    | 81,5 | 0,25              | 32                | 0,06—32      |
| Цефоперазон/сульбактам       | S<=1              | R>=4   | 29,3 | 0    | 70,7 | 1                 | 32                | 0,06—128     |
| Фосфомицин                   | S<=64             | R>=256 | 18,5 | 7,4  | 74,1 | 16                | 256               | 2—1024       |
| Цефтазидим/Авибактам         | S<=8              | R>=16  | 0    | 0    | 100  | 0,25              | 8                 | 0,12—8       |
| Азтреонам/Авибактам          | S<=8              | R>=16  | 0    | 0    | 100  | 0,125             | 8                 | 0,015—8      |

**Таблица 3. МПК антибиотиков для *P.aeruginosa***

| Наименование антибиотика | Контрольная точка |       | R, % | I, % | S, % | МПК <sub>50</sub> | МПК <sub>90</sub> | Диапазон МПК |
|--------------------------|-------------------|-------|------|------|------|-------------------|-------------------|--------------|
| Амикацин                 | S<=8              | R>=32 | 15,4 | 0    | 84,6 | 2                 | 32                | 1—128        |
| Гентамицин               | S<=4              | R>=8  | 53,8 | 0    | 46,2 | 8                 | >256              | 0,5—512      |
| Цефтазидим               | S<=8              | R>=16 | 53,8 | 0    | 46,2 | 16                | 256               | 1—256        |
| Ципрофлоксацин           | S<=0,5            | R>=2  | 76,9 | 0    | 23,1 | 16                | 64                | 0,25—28      |
| Имипенем                 | S<=4              | R>=8  | 38,5 | 7,7  | 53,8 | 4                 | 32                | 0,06—64      |
| Меропенем                | S<=2              | R>=16 | 30,8 | 15,4 | 53,8 | 1                 | 32                | 0,06—64      |
| Полимиксин В             | S<=2              | R>=4  | 0    | 0    | 100  | 1                 | 2                 | 0,06—2       |
| Цефтазидим/Авибактам     | S<=8              | R>=16 | 7,7  | 0    | 92,3 | 2                 | 16                | 0,5—32       |
| Азтреонам/Авибактам      | S<=8              | R>=16 | 0    | 0    | 100  | 0,5               | 4                 | 0,06—4       |

Из всех 156 изолятов, только один — *P.aeruginosa*, оказался продуцентом *bla*<sub>VIM</sub>. Дополнительно был проведён СИМ, поскольку все изоляты были получены после культивирования на средах с меропенемом и считались потенциальными продуцентами карбапенемаз. Однако только у одного изолята *P.aeruginosa*, продуцента *bla*<sub>VIM</sub>, была обнаружена карбапенемазная активность.

Для всех изолятов *Klebsiella sp.* и *P.aeruginosa* была определена чувствительность к антибиотикам (табл. 2, 3, соответственно). Надо отметить, что несмотря на культивирование посевов на средах с меропенемом в концентрации 8 мкг/мл, изоляты характеризовались высоким уровнем чувствительности к карбапенемам. Суммарная доля изолятов *K.pneumoniae*, проявляющих чувствительность и промежуточную устойчивость к карбапенемам, составила 96,3% как для имипенема, так и для меропенема. Больше половины от общего количества изолятов *P.aeruginosa* проявляли чувствительность и промежуточную устойчивость к карбапенемам (61,5 и 69,2%, соответственно). Кроме того, наблюдались относительно низкие уровни резистентности к остальным группам антибиотиков как у *K.pneumoniae*, так и у *P.aeruginosa*.

Всего было выделено 30 изолятов *Klebsiella sp.*: *K.pneumoniae*, *n*=25; *K.oxytoca*, *n*=3; *K.planticola*, *n*=1; *K.variicola*, *n*=1. Детекция маркеров гипервирулентности осуществлялась во всех четырёх видах клебсиелл. У пяти изолятов *K.pneumoniae* было обнаружено по одному гену вирулентности, из этих изолятов только один демонстрировал

Таблица 4. Признаки и маркеры гипервирулентности изолятов *Klebsiella* sp.

| Период выделения           | №  | Вид* | Гиперму-<br>коидность | Карбапе-<br>немазы | Маркеры гипервирулентности<br>для hvKp T. Russo et al., 2018 |              |             |             |                | Дополнительные<br>гены вирулентности |             |
|----------------------------|----|------|-----------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-------------|----------------|--------------------------------------|-------------|
|                            |    |      |                       |                    | <i>iucA</i>                                                  | <i>rmpA2</i> | <i>rmpA</i> | <i>iroB</i> | <i>peg 344</i> | <i>terB</i>                          | <i>irp2</i> |
| с 22.10.2018 по 26.10.2018 | 1  | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | +                                    | —           |
|                            | 2  | kpn  | +                     | —                  | +                                                            | —            | +           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 4  | kpn  | —                     | —                  | +                                                            | —            | +           | +           | —              | —                                    | +           |
|                            | 13 | kpn  | —                     | —                  | +                                                            | —            | —           | +           | +              | —                                    | +           |
|                            | 9  | kpn  | +                     | —                  | —                                                            | —            | +           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 15 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | +              | —                                    | —           |
|                            | 55 | kpn  | +                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 35 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | +              | —                                    | —           |
|                            | 39 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 37 | kox  | —                     | —                  | +                                                            | +            | +           | +           | +              | +                                    | +           |
|                            | 36 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 31 | kpn  | +                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 22 | kox  | +                     | —                  | —                                                            | —            | +           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 26 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | +              | —                                    | —           |
|                            | 24 | kpn  | +                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 25 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 23 | kpn  | +                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 44 | kpl  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 61 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | +           |
|                            | 68 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 72 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 71 | klv  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | +                                    | +           |
| с 21.01.2019 по 25.01.2019 | 14 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 9  | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 10 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 17 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 30 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 27 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 57 | kpn  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |
|                            | 54 | kox  | —                     | —                  | —                                                            | —            | —           | —           | —              | —                                    | —           |

мукоидный фенотип. У одного изолята были обнаружены два гена вирулентности, изолят демонстрировал мукоидный фенотип. У одного изолята были три гена вирулентности и мукоидный фенотип. У двух изолятов по четыре гена вирулентности, но мукоидный фенотип не проявлялся. Мукоидный фенотип проявлялся у двух из 13 изолятов, лишённых генов вирулентности.

В одном из трёх изолятов *K. oxytoca* были обнаружены все пять основных маркеров гипервирулентности и два дополнительных гена вирулентности — *terB*, обуславливающий устойчивость к теллуриду, и *irp2*, относящийся к сидерофорам (иерсиниабактин). Данный изолят не проявлял гипермукоидного фенотипа. Во втором изоляте *K. oxytoca* обнаружены две детерминанты вирулентности — *rmpA* и *irp2*, однако у данного изолята, наблюдался гипермукоидный фенотип. В третьем изоляте, выделенном из биологических образцов в январе, детерминанты вирулентности обнаружены не были.

В изоляте *K. variicola* также были обнаружены две детерминанты вирулентности — *terB* и *irp2*, но мукоидный фенотип не проявлялся.

Долгое время штаммы сКр с множественной лекарственной устойчивостью, циркулирующие во внутрибольничной среде, и распространённые во всем мире клональные комплексы hvKp, связанные с развитием инвазивного синдрома мультилокусного поражения у здоровых людей (менингит,

абсцесс печени, эндофтальмит и т.д.), считались независимыми, предполагалось, что одновременное проявление у одного изолята признаков гипервирулентности и множественной устойчивости невозможно [10]. Однако в 2015 г. в Китае впервые была описана вспышка, связанная с hvKp ST1797-K1, продуцирующей *blaKPC-2*. Актуальность данного исследования связана с глобальным распространением CP-hvKp, которое наблюдается в настоящее время [11, 12] и вполне реально может затронуть также и стационары в России. Зачастую гипервирулентность связывают с продукцией гиперкапсулы, что в свою очередь проявляется гипермукоидным фенотипом, который можно детектировать с помощью string-теста [13]. По неопубликованному пока данным, в стационарах Санкт-Петербурга, начиная с 2017 г., всё чаще встречаются гипермукоидные полирезистентные штаммы *K. pneumoniae*. Однако источник их появления и постоянный резервуар не известны. Мы предположили, что источником генов вирулентности, также как и генов резистентности, может быть ректальное носительство. Поэтому, было организовано проспективное обследование пациентов, поступающих на госпитализацию в один из стационаров, где наблюдается циркуляция подобных гипермукоидных полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*.

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание более широкое разнообразие

видов грамотрицательных бактерий, выделенных из ректальных образцов пациентов в октябре, в сравнении с перечнем бактерий, выделенных из образцов в холодное время года. Подобное явление находит косвенное подтверждение во многих работах [14]. В частности, описана положительная корреляция между частотой возникновения хирургических раневых инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, в онкологических/гематологических стационарах Финляндии и летне-осенней сезонностью, а также, носительством БЛРС — продуцентов Enterobacteriaceae и значением температуры окружающей среды [15]. Принимая во внимание возможность межвидового обмена детерминантами резистентности и вирулентности, входящими в состав различных типов мобильных элементов [16], большее разнообразие видов грамотрицательных бактерий, приносимых пациентами в стационар в тёплое время года, потенциально может стимулировать и поддерживать эволюцию множественной резистентности под воздействием лекарственного прессинга, а также способствует увеличению разнообразия детерминант вирулентности. Однако необходимо отметить, что как *Klebsiella* sp., так и *Pseudomonas aeruginosa*, в настоящем исследовании показали относительно низкие (карбапенемы, полимиксин В, фосфомицин) или умеренные (аминогликозиды, цефалоспорины, фторхинолоны) уровни резистентности к различным группам антибиотиков. К отдельным антибиотикам (тигеклицин, цефтазидим/авибактам, азтреонам/авибактам) наблюдалась 100% чувствительность изолятов. Отсутствие генов карбапенемаз в изолятах *K. pneumoniae*, выделенных из ректальных образцов «плановых» пациентов, свидетельствует, в целом, о благоприятной эпидемиологической обстановке во внебольничной среде по данной проблеме. Однако надо отметить, что единственный обнаруженный в настоящем исследовании изолят *P. aeruginosa* продуцент карбапенемазы VIM-типа, выделенный у пациента из ректального образца при поступлении, был в дальнейшем выделен у того же пациента из перитонеальной жидкости, что ещё раз указывает на опасность ректального носительства продуцентов карбапенемаз для пациентов, поступающих для длительной плановой госпитализации в хирургические стационары.

Резистентность или умеренная чувствительность к карбапенемам у выделенных изолятов, по-видимому, могла быть связана с сочетанием различных механизмов устойчивости, таких как, например, экспрессия различных AmpC  $\beta$ -лактамаз, снижение проницаемости внешней мембраны в связи с недостаточностью пориновых каналов (Mammeri H. et al., 2010). Также выделение изолятов с низкими уровнями резистентности к карбапенемам после культивирования на средах с

меропенемом, по-видимому, могло быть связано с нестабильностью карбапенемов во внешней среде. Кроме того, обращает на себя внимание отсутствие искомым маркеров гипервирулентности в изолятах *Klebsiella* sp., выделенных в январе, что пока сложно интерпретировать и требует более масштабного и длительного наблюдения.

Известно, что *K. oxytoca*, также как и *K. pneumoniae*, способны вызывать различные внебольничные и нозокомиальные инфекции, включая септицемии, пневмонии, инфекции мочевых путей, а также являются этиологической причиной антибиотико-ассоциированного колита [17, 18]. У *K. oxytoca* также описана продукция БЛРС, AmpC бета-лактамаз [19] и карбапенемаз [20, 21] плазмидной локализации. Кроме того, как у *K. oxytoca*, так и у *K. variikola* в наличии имеется широкий перечень факторов вирулентности, таких как: фимбрии 1- и 3-го типов, эффлюксные помпы, различного вида сидерофоры, а также гены, отвечающие за синтез капсулы и ЛПС. Поэтому возможное выделение во внутрибольничную среду при ректальном носительстве таких изолятов также может представлять опасность. Кроме того, наличие у изолятов *K. oxytoca* и *K. variikola* общих с *K. pneumoniae* генов вирулентности, обнаруженных в данном исследовании в ректальных образцах пациентов, показывает возможность межвидового обмена данными генами. Особое внимание заслуживают обнаруженные в изолятах *Klebsiella* sp. маркеры гипервирулентности, свидетельствующие о том, что ректальное носительство генов вирулентности распространено во внебольничной среде и может стать источником таких генов для внутрибольничных штаммов.

## Заключение

Наличие среди изолятов *Klebsiella* sp., выделенных из ректальных образцов «плановых» пациентов, генов, относящихся к маркерам гипервирулентности, может представлять потенциальную угрозу для данного и других стационаров, поскольку многие из них имеют предположительно плазмидную локализацию и могут с лёгкостью передаваться от гипервирулентных к множественно резистентным штаммам и наоборот, формируя гипервирулентные полирезистентные внутрибольничные генетические линии.

**Уведомление.** Данное исследование поддержано Российским научным фондом в рамках Конкурса 2018 года «Проведение исследований научными группами под руководством молодых учёных» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учёными, в том числе молодыми учёными по проекту «Механизмы формирования успешных генетических линий множественно резистентных гипервирулентных *Klebsiella pneumoniae*», проект № 18-75-10117».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лазарева И.В., Агеев В.А., Ершова Т.А., Зуева Л.П., Гончаров А.Е., Дарьина М.Г., Светличная Ю.С., Сидоренко С.В. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации. Антибиотики и химиотер. — 2016. — Т. 61. — № 11—12. — С. 28—38. / Lazareva I.V., Ageevets V.A., Ershova T.A., Zueva L.P., Goncharov A.E., Dar'ina M.G., Svetlichnaya Yu.S., Sidorenko S.V. Rasprostraneniye i antibakterial'naya rezistentnost' gramotritsatel'nykh bakterij, produtsentov karbapenemaz, v Sankt-Peterburge i nekotorykh drugikh regionakh Rossijskoj Federatsii. Antibiotiki i khimioter 2016; 61: 11—12: 28—38. [in Russian]
2. Siu L.K., Yeh K.M., Lin J.C., Fung C.P., Chang F.Y. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. Lancet Infect Dis 2012; 12: 881—887.
3. Fang C.T., Chuang Y.P., Shun C.T., Chang S.C., Wang J.T. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. J Exp Med. 2004; 697—705.
4. Liu C., Shi J., Guo J. High prevalence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection in the genetic background of elderly patients in two teaching hospitals in China. Infection and drug resistance 2018; 11: 1031—1041.
5. Siu L.K., Huang D.B., Chiang T. Plasmid transferability of KPC into a virulent K2 serotype *Klebsiella pneumoniae*. BMC Infect Dis 2014; 14: 176.
6. Gu D., Dong N., Zheng Z., Lin D., Huang M., Wang L., Chan E.W., Shu L., Yu J., Zhang R., Chen S. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. Lancet Infect Dis 2018; 18: 37—46.
7. Arhoune B., Oumokhtar B., Hmami F., Barguigua A., Timinouni M., El Fakir S., Chami F., Bouharrou A. Rectal carriage of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among hospitalised neonates in a neonatal intensive care unit in Fez, Morocco. J Glob Antimicrob Resist 2017; 8: 90—96.
8. Swaminathan M., Sharma S., Poliansky Blash S., Patel G., Banach D.B., Phillips M., LaBombardi V., Anderson K.F., Kitchel B., Srinivasan A., Calfee D.P. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the setting of endemicity. Infect Control Hosp Epidemiol 2013; 34: 809—817.
9. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., Hutson A., Barker J.H., La Hoz R.M., Johnson J.R. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K.pneumoniae*. J Clin Microbiol 2018; 56.
10. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., Bootsma H.J., de Neeling A.J., Schouls L.M. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. PLoS One 2015; 10: e0123690.
11. Turton J.F., Payne Z., Coward A., Hopkins K.L., Turton J.A., Doumith M., Woodford N. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-ST23 and 'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383. J Med Microbiol 2018; 67: 118—128.
12. Surgers L., Boyd A., Girard P.M., Arlet G., Decre D. ESBL-Producing Strain of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* K2, France. Emerg Infect Dis 2016; 22: 1687—1688.
13. Hadano Y. String test. BMJ case reports. 2013; 2013.
14. Richet H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 934—940.
15. Pitout J.D., Laupland K.B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis 2008; 8: 159—166.
16. Ramirez M.S., Traglia G.M., Lin D.L., Tran T., Tolmashy M.E. Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance and Virulence in Gram-negatives: the *Klebsiella pneumoniae* Paradigm. Microbiol Spectr 2014; 2: 1—15.
17. Zollner-Schwetz I., Hogenauer C., Joainig M., Weberhofer P., Gorkiewicz G., Valentin T., Hinterleitner T.A., Krause R. Role of *Klebsiella oxytoca* in antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 2008; 47: e74—8.
18. Hogenauer C., Langner C., Beubler E., Lippe I.T., Schicho R., Gorkiewicz G., Krause R., Gerstgrasser N., Krejs G.J., Hinterleitner T.A. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. N Engl J Med 2006; 355: 2418—2426.
19. Philippon A., Arlet G., Jacoby G.A. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1—11.
20. Hoenigl M., Valentin T., Zarfel G., Wuerstl B., Leitner E., Salzer H.J., Posch J., Krause R., Grisold A.J. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* in Austria. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56: 2158—2161.
21. Lai C.C., Lin T.L., Tseng S.P., Huang Y.T., Wang J.T., Chang S.C., Teng L.J., Wang J.T., Hsueh P.R. Pelvic abscess caused by New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing *Klebsiella oxytoca* in Taiwan in a patient who underwent renal transplantation in China. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 71: 474—475.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лазарева Ирина Владимировна — к. м. н., врач-бактериолог, научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Старкова Полина Сергеевна — магистр, Биохимический кластер, Санкт-Петербургский национальный исследовательский институт информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Агеев Владимир Андреевич — к. б. н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Волкова Марина Олеговна — к. м. н., врач-бактериолог лаборатории медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Лебедева Марина Сергеевна — врач клинический фармаколог, Санкт-Петербургский клинический научно-прак-

тический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Навацкая Арина Сергеевна — врач эпидемиолог, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Мясникова Елена Борисовна — руководитель эпидемиологической службы, врач эпидемиолог, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) Санкт-Петербург

Митрошина Галина Васильевна — врач бактериолог клинико-диагностической лаборатории, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург



# Современные тенденции антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области

\*О. Ю. КУЦЕВАЛОВА, О. И. КИТ, Н. И. ПАНОВА, Д. А. РОЗЕНКО, С. В. ЯКУБЕНКО, Ю. А. ГЕВОРКЯН, Д. А. ХАРАГЕЗОВ, Д. В. МАРТЫНОВ, В. Н. МАЛЫГИН, А. Ю. ХИНДИКАЙНЕН, Г. В. ЯНКОВСКАЯ, О. А. ЕГОРОВА, М. Ю. КАМИНСКИЙ, Д. И. МИРОШНИЧЕНКО

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону

## Current Trends in Antibiotic Resistance of Gram-Negative Pathogens of Nosocomial Infections in the Rostov Region

\*O. YU. KUTSEVALOVA, O. I. KIT, N. I. PANOVA, D. A. ROZENKO, S. V. YAKUBENKO, YU. A. GEVORKYAN, D. A. KHARAGEZOV, D. V. MARTYNOV, V. N. MALYGIN, A. YU. KHINDIKAYNEN, G. V. YANKOVSKAYA, O. A. YEGOROVA, M. YU. KAMINSKIY, D. I. MIROSHNICHENKO

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don

С каждым годом проблема резистентности бактериальных возбудителей инфекций различной локализации становится всё более значимой для врачей разных специальностей. Особенно это касается клиницистов, работающих в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Ежедневно приходится сталкиваться с проблемой лечения инфекций, прежде всего связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), у пациентов с тяжёлой сопутствующей патологией, когда своевременная диагностика и адекватная эмпирическая антибактериальная терапия играют ключевую роль для спасения жизни больного. Перечень «проблемных» возбудителей постоянно расширяется. Наряду с хорошо известными врачам, «традиционными» возбудителями нозокомиальных инфекций, таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, возросло значение других резистентных микроорганизмов из семейства Enterobacteriaceae (продуцентов  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия — БЛРС), неферментирующих бактерий (в частности, *Acinetobacter* spp.), а также микроскопических грибов.

**Ключевые слова:** антибиотики, нозокомиальные инфекции, резистентность, устойчивость, внутрибольничные,  $\beta$ -лактамазы, энтеробактерии, карбапенемы, мониторинг, возбудители инфекций.

Every year the problem of resistance of bacterial pathogens of infections in various localizations is becoming increasingly important for doctors of different specialties. This is especially true for clinicians working in the intensive care unit (ICU). Every day we have to deal with the problem of treating infections, primarily related to the provision of medical care (HAI), in patients with severe comorbidities, when timely diagnosis and adequate empirical antibiotic therapy play a key role in saving the patient's life. The list of «problematic» pathogens is constantly expanding. In addition to «traditional» pathogens of nosocomial infections well known to physicians such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus*, the importance of other resistant microorganisms of the Enterobacteriaceae family (producers of  $\beta$ -lactamase extended spectrum — ESBL), non-fermenting bacteria (*Acinetobacter* spp., in particular), as well as microscopic fungi has increased.

**Keywords:** antibiotics, nosocomial infections, resistance, nosocomial,  $\beta$ -lactamase, enterobacteria, carbapenems, monitoring, infectious agents.

## Введение

На сегодняшний день инфекции, вызванные аэробными грамотрицательными возбудителями, составляют наибольшую проблему для российских стационаров, в частности, ОРИТ. Большое внимание исследователей уделяется проблеме гнойной хирургической инфекции мягких тканей в связи с ростом гнойно-воспалительных заболе-

ваний и послеоперационных гнойных осложнений. Именно при этих инфекциях наблюдаются наибольшие сложности в выборе адекватного режима антибиотикотерапии, так как для этих возбудителей характерны как множественные и сложные механизмы резистентности, так и формирование полирезистентности в процессе проведения антибиотикотерапии [1–7].

Важное значение в лечении и профилактике инфекционных заболеваний принадлежит химиотерапии и химиопрофилактике, эффективность которых в значительной степени зависит от чувст-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63. Ростовский НИ онкологический институт

вительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. На протяжении последних лет во всем мире отмечается значительный рост устойчивости инфекционных заболеваний к антимикробным препаратам, что препятствует эффективной антибиотикотерапии. Знание основных тенденций резистентности наиболее важных возбудителей госпитальных инфекций необходимо при выборе антибиотика для конкретного больного, а также при разработке программ эмпирической антибактериальной терапии в стационаре.

На сегодня актуальной проблемой является устойчивость бактерий к бета-лактамам антибиотикам, в частности к карбапенемам. Крайне широкое распространение бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) привело к резкому снижению клинического значения цефалоспоринов III–IV поколений. В сложившейся ситуации единственными надёжными средствами антибактериальной терапии долгое время были карбапенемы, но ситуация с резистентностью к ним принципиально изменилась после появления ферментов карбапенемаз. Примечательно, что бактерии семейства Enterobacteriaceae, вырабатывающие БЛРС, часто имеют гены резистентности к антимикробным препаратам (АМП) других классов (аминогликозидам, фторхинолонам, котримоксазолу), это подтверждается данными о высокой частоте ассоциированной резистентности у БЛРС-продуцирующих энтеробактерий.

Штаммы синегнойной палочки и ацинетобактеров, в дополнение к природной резистентности к большинству пенициллинов и цефалоспоринов, способны быстро приобретать резистентность к АМП различных классов, за счёт модификации мишени, снижения проницаемости внешних структур, эффлюкса, инактивации, хромосомных мутаций [8–16].

Глобальный рост устойчивости к карбапенемам и распространение БЛРС в настоящее время является одной из наиболее значимых проблем в клинической практике и химиотерапии инфекций. Проблема усугубляется тем, что некоторые полирезистентные бактерии (прежде всего энтеробактерии, продуцирующие БЛРС и карбапенемазы) стали распространяться во внебольничную среду и становиться причиной внебольничных инфекций, что затрудняет проведение ранней адекватной антибактериальной терапии. В последние годы отмечена устойчивая тенденция к снижению числа появляющихся на рынке новых АМП, преодолевающих антибиотикорезистентность. Перспективы разработки принципиально новых антибиотиков для лечения нозокомиальных инфекций выглядят удручающе. Но все же, на сегодняшний день единичные препараты находятся в разработке и ожидаемые в ближайшем будущем.

Цель исследования — анализ распространенности и антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей инфекционных осложнений у госпитализированных пациентов из стационаров города Ростова-на-Дону.

## Материал и методы

В исследование включены 1044 изолята, собранные в рамках централизованного обследования пациентов из 8 лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) г. Ростова-на-Дону. Выделение бактериальных изолятов проводили традиционным микробиологическим методом. Идентификацию штаммов и определение чувствительности к антимикробным препаратам определяли на автоматическом анализаторе Vitek 2 (BioMerieux, Франция).

Категории чувствительности изолятов ко всем препаратам определяли в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», Версия 2015-02 [17]. Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы: *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603.

Для выявления продукции БЛРС использовали метод двойных дисков [18].

## Результаты исследования

По нашим данным, в этиологии заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи ведущее место занимают грамотрицательные бактерии — 63,4%. По частоте встречаемости 36,6% приходится на долю микроскопических грибов, в частности, грибов рода *Candida* и грамположительные микроорганизмы (рис. 1).

Частота встречаемости неферментирующих бактерий составила 33,0% (346 штаммов), из которых наибольший удельный вес имели штаммы *P.aeruginosa* (16,1%) и *Acinetobacter* spp. (17,0%). Микроорганизмы из семейства Enterobacteriaceae составили 30,3% (316 штаммов). Из их числа ведущими патогенами при различных формах внутрибольничных осложнений являлись *K.pneumoniae* и *Escherichia coli*. Относительно ниже значение других микроорганизмов из семейства

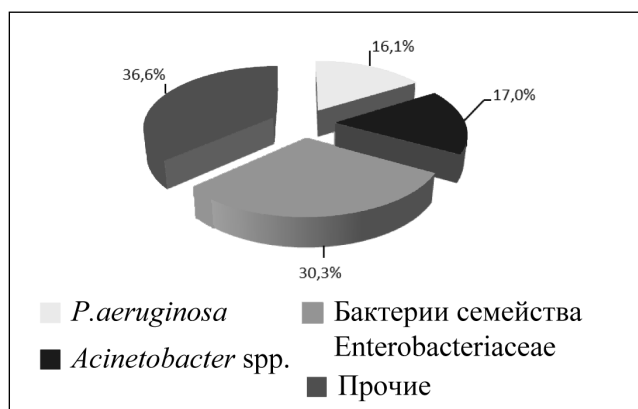
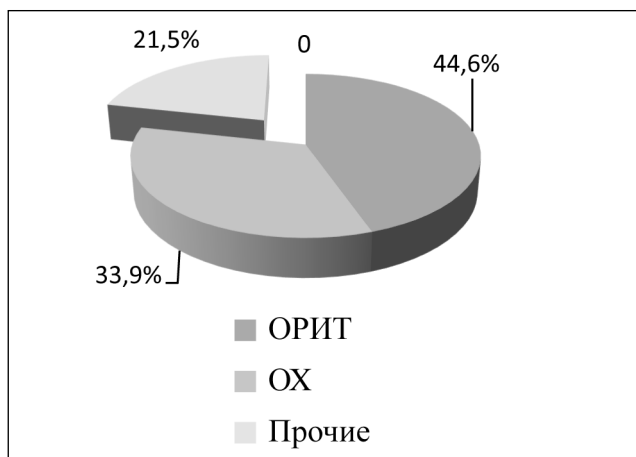


Рис. 1. Частота встречаемости основных возбудителей инфекционных осложнений у госпитализированных пациентов из стационаров г. Ростова-на-Дону.



**Рис. 2. Распределение инфекционных осложнений в зависимости от отделений.**

Enterobacteriaceae, в частности *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. и прочих.

Инфекционные осложнения наиболее часто встречаются в отделениях хирургического профиля (ОХ) и реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) (рис. 2). Частота встречаемости в этих отделениях составила 78,5% от общего числа исследуемых изолятов.

*Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) — один из основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов, особенно в условиях стационара. Первое описание раневой инфекции, вызванной синегнойной палочкой, принадлежит Люке (1862), отметившему характерное сине-зелёное окрашивание перевязочного материала. Первая вспышка госпитальной инфекции, вызванной *P.aeruginosa*, зарегистрирована в 1897 г. [19].

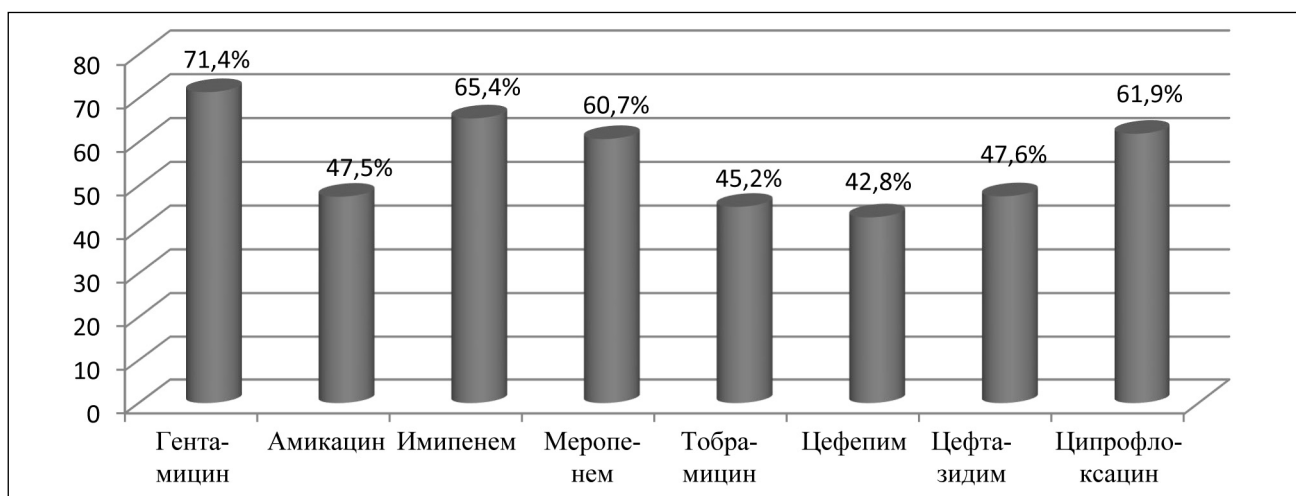
В нашем исследовании доля изолятов *P.aeruginosa* ( $n=168$ ) составила 16,1% среди всех возбудителей инфекционных осложнений. Результаты оценки резистентности изолятов *P.aeruginosa* представлены на рис. 3.

Установлено, что значительный процент культур *P.aeruginosa* составляли карбапенемоустойчивые штаммы. Нечувствительными к имипенему и меропенему было 65,4 и 60,7% изолятов, соответственно. Высокий уровень резистентности изоляты *P.aeruginosa* проявили к гентамицину (71,4%), амикацину (47,5%), тобрамицину (45,2%), ципрофлоксацину (61,9%). Резистентность к антисинегнойным цефалоспорином составила 42,8% для цефепима и 47,6% для цефтазидима. Следует отметить, что частота встречаемости резистентных штаммов значительно варьировала в разных ЛПУ. В тоже время результаты данного исследования свидетельствуют о том, что *P.aeruginosa* остаётся «проблемным» возбудителем нозокомиальных инфекций.

Остается так же актуальной проблема высокой встречаемости штаммов *P.aeruginosa*, устойчивых к нескольким группам антибиотиков, в том числе и к карбапенемам.

Бактерии рода *Acinetobacter*, а именно, *A.baumannii* и реже родственные виды, относящиеся к *A.baumannii* complex, являются одними из проблемных возбудителей нозокомиальных инфекций, по частоте встречаемости не уступая, а в ряде ЛПУ и опережая *P.aeruginosa*. В нашем исследовании бактерии рода *Acinetobacter* составили 17,0% (178 штаммов) от общего количества возбудителей инфекционных процессов.

Бактерии рода *Acinetobacter* обладают низкой природной чувствительностью к большинству бета-лактамовых антибиотиков, включая цефалоспорины. В связи с этим, перечень препаратов для лечения инфекций, вызванных *A.baumannii* и родственными видами, очень ограничен. Долгое время препаратами выбора как правило являлись карбапенемы, а именно, имипенем и меропенем. Результаты оценки чувствительности изолятов *Acinetobacter* spp. представлены на рис. 4.



**Рис. 3. Результаты оценки резистентности изолятов *P.aeruginosa*.**

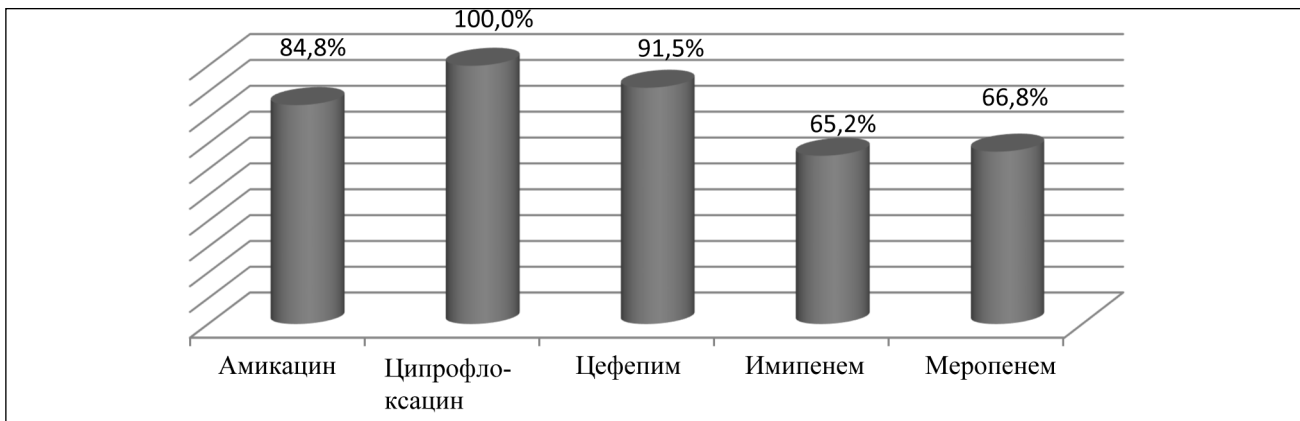


Рис. 4. Результаты оценки резистентности изолятов *Acinetobacter* spp.

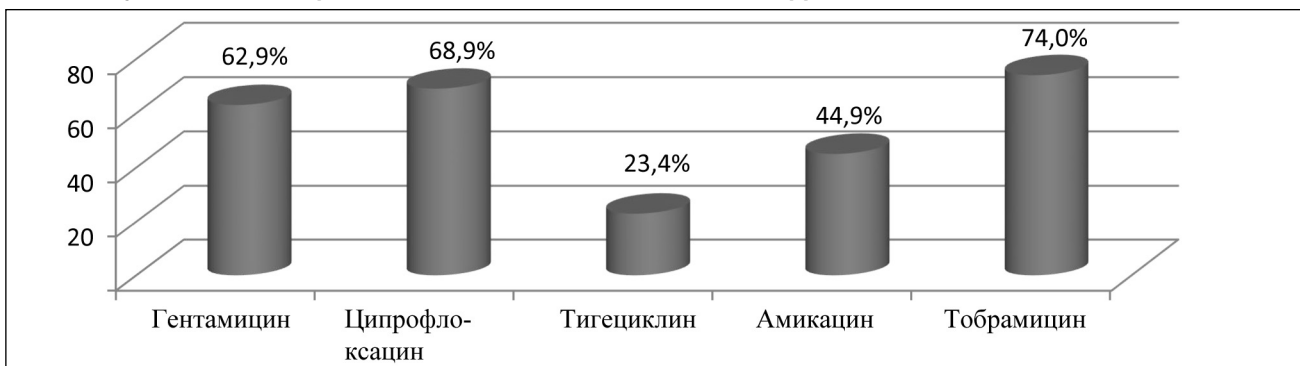


Рис. 5. Результаты оценки резистентности изолятов семейства Enterobacteriaceae в отношении не-β-лактамов.

В результате проведённого анализа отмечен высокий уровень резистентности к ципрофлоксацину, цефепиму и амикацину (100,0, 91,5 и 84,8%, соответственно). Сдерживать барьер резистентности ещё позволяют карбапенемы: имипенем и меропенем с уровнем резистентности 65,2 и 66,8%, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют об увеличении роли *Acinetobacter* в этиологии тяжёлых инфекций у госпитализированных пациентов. Настораживает высокий уровень распространённости устойчивости к карбапенемам, которые традиционно рассматривались как препараты выбора для лечения тяжёлых инфекций у госпитализированных пациентов.

Бактерии семейства Enterobacteriaceae в совокупности являются не менее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций. Энтеробактерии составили в общей сложности 30,3% (316 штаммов) всех выделенных бактериальных возбудителей. Из числа энтеробактерий, наиболее частыми видами были *K.pneumoniae* — 16,3% (170 изолятов) и *E.coli* — 8,1% (85 штаммов).

Таким образом, по частоте встречаемости *K.pneumoniae* (16,3%) занимает второе, уступая бактериям рода *Acinetobacter* (17,0%) и в тоже время опережая *P.aeruginosa* (16,1%).

Результаты оценки резистентности у представителей семейства Enterobacteriaceae в отношении не-β-лактамовых антибиотиков представлены на рис. 5.

Среди не-β-лактамовых антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявляли тигециклин и амикацин, нечувствительными к которым были, соответственно, 23,4 и 44,9% всех изолятов. Высокий уровень резистентности выявлен к тобрамицину (74,0%), гентамицину (62,9%), ципрофлоксацину (68,9%).

Результаты оценки резистентности у представителей семейства Enterobacteriaceae представлены на рис. 6.

Резистентность среди представителей семейства Enterobacteriaceae за счёт продукции β-лактамаз расширенного спектра обнаружена у 76,0% всех изолятов. Продукция БЛРС среди *K.pneumoniae* составила 93,0%, *E.coli* — 76,0%, *Enterobacter cloacae* — 58,0%. Подавляющее большинство исследованных изолятов были нечувствительны к цефотаксиму (82,3%), цефтазидиму (81,6%), цефепиму (69,0%).

Нечувствительность к карбапенемам — эртапенему — проявляли 22,5% изолятов и в большинстве случаев штаммы *K.pneumoniae*. В ряде стационаров среди представителей семейства Enterobacteriaceae обнаружены продуценты карбапенемаз (до 15,5%). Этот показатель значительно варьировал в разных ЛПУ и не может свидетельствовать об истинной распространённости устойчивости к карбапенемам. Рост устойчивости к карбапенемам требует рационального использования и микробиологического мониторинга.

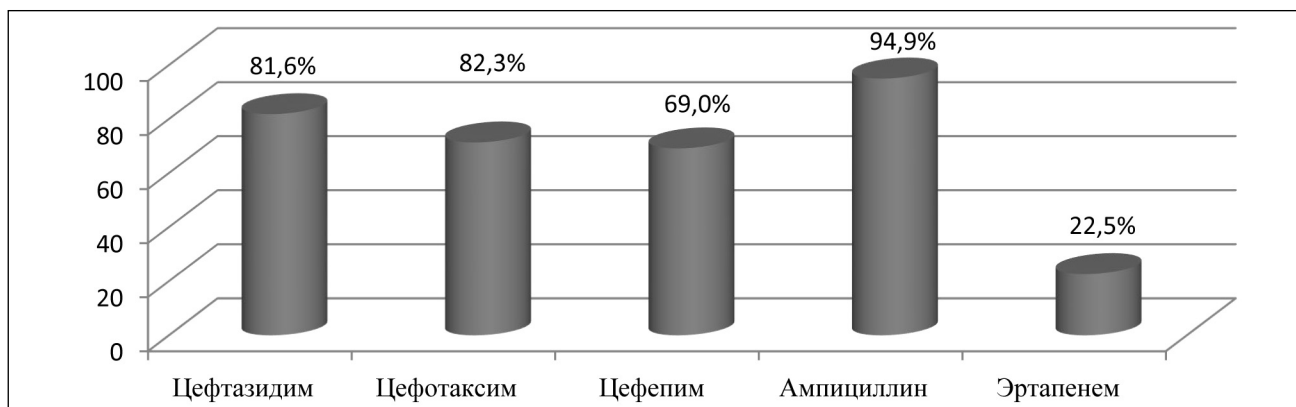


Рис. 6. Результаты оценки резистентности изолятов семейства Enterobacteriaceae.

Итак, энтеробактерии остаются одними из ведущих возбудителей инфекционных осложнений в стационарах Ростова-на-Дону, практически не уступая по частоте встречаемости бактериям рода *Acinetobacter* и *P.aeruginosa*.

Среди возбудителей нозокомиальных инфекций семейства Enterobacteriaceae наблюдается крайне высокая (93,0%) распространённость продуцентов БЛРС, что исключает эффективность эмпирического применения цефалоспоринов III—IV поколений и резко ограничивает возможность использования аминогликозидов и фторхинолонов. Результаты данного исследования свидетельствуют о широком распространении резистентности к большинству антибактериальных препаратов среди нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в России.

## Заключение

В связи с вышесказанным, внедрение системы микробиологического мониторинга, направленного на выявление резистентности к карбапенемам среди клинических изолятов и расшифровку её механизмов, остаётся актуальной. Ценность микробиологического мониторинга для разработки и внедрения протоколов рациональной антимикробной терапии становится очевидной и понятной только при тесном взаимодействии бактериологической лаборатории, службы клинической фармакологии, эпидемиологии, клиницистов в отделениях и администрации стационара. Микробиологический мониторинг в постоянном режиме позволит принимать соответствующие меры по недопущению распространения инфекций, связанных с медицинским вме-

шательством, что в конечном итоге приведёт к значительной экономии финансовых ресурсов.

В настоящее время очевидно, что внедрение комплексных программ предупреждения ИСМП, является совершенно необходимым как с точки зрения снижения показателей заболеваемости и летальности от инфекций, так и с позиций экономической эффективности.

Решение проблемы лечения в стационаре инфекций, вызванных полирезистентными бактериями, связано в основном не с ожиданием появления новых АМП, а с разработкой и внедрением решительных и адекватных мер по сдерживанию антибиотикорезистентности. Комплекс необходимых для стационаров мероприятий по рационализации использования АМП, сдерживанию антибиотикорезистентности, контролю нозокомиальных инфекций за рубежом обозначается как «Управление антибиотикотерапией» (Antibiotic Stewardship), а в России как «Стратегия Контроля Антимикробной Терапии (СКАТ)» [20—25].

Ряд актуальных на сегодняшний день требований по данному вопросу изложен в санитарно-эпидемиологических правилах и нормативах СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. Современные положения профилактики ИСМП и рекомендации по их реализации в ЛПУ представлены в национальной концепции 2012 [26]. Обязательный мониторинг устойчивости к карбапенемам и ограничение их неоправданного использования являются в этой ситуации абсолютно необходимыми для сдерживания дальнейшего роста резистентности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? Журнал Интенсивная терапия. — 2007. — №4. / Kozlov R.S., Stetsyuk O.U., Andreeva I.V. Sovremennye tendentsii antibiotikorezistentnosti vozбудitelei nozokomialnykh infektsii v ORIT Rossii: chto nas zhdet dalshe? Zhurnal Intensivnaya terapiya 2007; 4. [in Russian]
2. Вильямс Д. Резистентность к бета-лактамам антибиотикам. Антибиотики и химиотер. — 1997. — Т. 42. — № 10. — С. 5—9. / Vilyams D. Rezistentnost k beta-laktamnym antibiotikam. Antibiotiki i khimioter 1997; 42: 10: 5—9. [in Russian]
3. Яковлев С.В. Оптимизация эмпирической антибактериальной терапии госпитальных инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами. РМЖ 2005; 5: 278. / Yakovlev S.V. Optimizatsiya empiricheskoi antibakterialnoi terapii gospitalnykh infektsii, vyzvannykh gramotritsatelnymi mikroorganizmami. RMZH. — 2005. — № 5. — 278. [in Russian]



4. Куцевалова О.Ю., Аствацатурян Е.И., Землянкина Л.П., Боханова Е.Г., Янковская Г.В., Перепечай В.А. Этиологическая характеристика возбудителей внутрибольничных инфекций в г. Ростове-на-Дону Журнал фундаментальной медицины и биологии. — 2014. — № 1. — С. 29—32. / *Kutsevalova O.Yu., Astvatsaturyan E.I., Zemlyankina L.P., Bokhanova E.G., Yankovskaya G.V., Perepechai V.A.* Etiologicheskaya kharakteristika vzbuditelei vnutribolnichnykh infektsii v g. Rostove-na-Donu Zhurnal fundamentalnoi meditsiny i biologii 2014; 1: 29—32. [in Russian]
5. Куцевалова О.Ю., Кит О.И., Панова Н.И., Розенко Д.А., Геворкян Ю.А., Милакин А.Г. Оценка эффективности использования хромогенной среды CHROMAGAR KPC для обнаружения и изоляции карбапенемаза-продуцирующих Enterobacteriaceae из гемокультуры. Клинический микробиологический журнал. — 2017. — Т. 19. № S1. — С. 26. / *Kutsevalova O.Yu., Kit O.I., Panova N.I., Rozenko D.A., Gevorkyan Yu.A., Milakin A.G.* Otsenka effektivnosti ispolzovaniya khromogennoi sredy CHROMAGAR KPC dlya obnaruzheniya i izolatsii karbapenemaza-produtsiruyushchikh Enterobacteriaceae iz gemokultury. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2017; 19: 1: 26. [in Russian]
6. Куцевалова О.Ю., Землянкина Л.П., Буриков М.А., Махно Ю.Э., Перепечай В.А., Янковская Г.В. Этиологическая структура сепсиса. Журнал фундаментальной медицины и биологии. — 2014. — № 1. — С. 33—36. / *Kutsevalova O.Yu., Zemlyankina L.P., Burikov M.A., Makhno Yu.E., Perepechai V.A., Yankovskaya G.V.* Etiologicheskaya struktura sepsisa. Zhurnal fundamentalnoi meditsiny i biologii 2014; 1: 33—36. [in Russian]
7. Куцевалова О.Ю. Микробные биоценозы при гнойной хирургической инфекции мягких тканей. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ростовский государственный медицинский университет. Ростов-на-Дону, 2005. — С. 121. / *Kutsevalova O.Yu.* Mikrobnye biotsenozy pri gnoinoi khirurgicheskoi infektsii myagkikh tkanei. Avtoreferat dissertatsii na soiskanie uchenoi stepeni kandidata biologicheskikh nauk. Rostovskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet. Rostov-na-Donu, 2005; 121. [in Russian]
8. Кузнецова М.В., Карпунина Т.И., Егорова Д.О. Карбапенемоустойчивые штаммы *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах города Пермь. Клинический микробиологический журнал. — 2010. — Т. 12. — № 3. — С. 246—252. / *Kuznetsova M.V., Karpunina T.I., Egorova D.O.* Karbapenemoustoichivye shtammy *Pseudomonas aeruginosa* v stacionarakh goroda Perm. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2010; 12: 3: 246—252. [in Russian]
9. Shah P.M. Parenteral carbapenems. Clin Microbiol Infect 2008; 14: Suppl 1: 175—180.
10. Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. Металло-β-лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий. Клинический микробиологический журнал. — 2007. — Т. 9. — № 3. — С. 211—218. / *Shevchenko O.V., Eidelstein M.V., Stepanova M.N.* Metallo-β-laktamazy: znachenie i metody vyavleniya u gramotritsatelnykh nefermentiruyushchikh bakterii. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2007; 9: 3: 211—218. [in Russian]
11. Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. КМАХ. — 2017. — Т. 19. № 1. — С. 37—41. / *Eidelstein M.V., Sukhorukova M.V., Sklenova E.YU., Ivanchik N.V., Mikotina A.V.* Antibiotikorezistentnost nozokomialnykh shtammov *Pseudomonas aeruginosa* v stacionarakh Rossii: rezulyaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON» 2013—2014. KMAKH 2017; 19: 1: 37—41. [in Russian]
12. Куцевалова О.Ю., Аствацатурян Е.И., Землянкина Л.П. Этиологическая характеристика возбудителей внутрибольничных инфекций в г. Ростове-на-Дону. Журнал фундаментальной медицины и биологии. — 2014. — № 1. — С. 29—32. / *Kutsevalova O.Yu., Astvatsaturyan E.I., Zemlyankina L.P.* Etiologicheskaya kharakteristika vzbuditelei vnutribolnichnykh infektsii v g. Rostove-na-Donu. Zhurnal fundamentalnoi meditsiny i biologii 2014; 1: 29—32. [in Russian]
13. Karaikos I., Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. Expert Opin Pharmacother 2014; 15 (10): 1351—1370.
14. Кит О.И., Кононенко В.И., Максиков С.Ю., Комарова Е.Ф., Демидова А.А., Позднякова В.В., Дашкова И.Р., Максимов А.Ю. Алгоритм прогнозирования развития рецидивов у больных раком слизистой оболочки полости рта с риском развития гнойных послеоперационных осложнений. В книге: Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума «Белые ночи 2017» ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России. 2017. — С. 98—99. / *Kit O.I., Kononenko V.I., Maksimov S.YU., Komarova E.F., Demidova A.A., Pozdnyakova V.V., Dashkova I.R., Maksimov A.Yu.* Algoritm prognozirovaniya razvitiya retsidivov u bolnykh rakom slizistoï obolochki polosti rta s riskom razvitiya gnoinykh posleoperatsionnykh oslozhnenii. V knige: Sbornik nauchnykh rabot III Peterburgskogo Mezhdunarodnogo onkologicheskogo foruma «Belye nochi 2017» FGBU «NII onkologii im. N.N. Petrova» Minzdrava Rossii. 2017; 98—99. [in Russian]
15. Кононенко В.И., Кит О.И., Комарова Е.Ф., Максимов А.Ю., Демидова А.А. Прогнозирование гнойно-септических осложнений у больных раком слизистой оболочки полости рта. Научное обозрение. — 2015. — № 16. — С. 214—219. / *Kononenko V.I., Kit O.I., Komarova E.F., Maksimov A.Yu., Demidova A.A.* Prognozirovaniye gnoino-septicheskikh oslozhnenii u bolnykh rakom slizistoï obolochki polosti rta. Nauchnoe obozrenie 2015; 16: 214—219. [in Russian]
16. Кит О.И., Златник Е.Ю., Загора Г.И., Терещенко И.В., Максимов А.Ю. Влияние иммунопрофилактики гнойно-септических осложнений хирургического лечения с помощью препарата лактоглобулина на цитокиновый состав опухоли и немалигнизированных тканей у больных раком толстой кишки. Цитокины и воспаление. — 2014. — Т. 13. — № 3. — С. 105—106. / *Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Zagora G.I., Tereshchenko I.V., Maksimov A.Yu.* Vliyaniye immunoprofilaktiki gnoino-septicheskikh oslozhnenii khirurgicheskogo lecheniya s pomoshchyu preparata laktoglobulina na tsitokinovyi sostav opukholi i nemalignizirovannykh tkanei u bolnykh rakom stolstoi kishki. Tsitokiny i vospalenie 2014; 13: 3: 105—106. [in Russian]
17. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Версия 2015-02. / Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Versiya 2015-02. [in Russian]
18. Эйдельштейн М. В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов. Клинический микробиологический журнал. — 2001. — Т. 3. — № 2. — С. 183—189. / *Eidelstein M. V.* Vyavlenie beta-laktamaz rasshirenno go spektra u gramotritsatelnykh bakterii s pomoshchyu fenotipicheskikh metodov. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2001; 3: 2: 183—189. [in Russian]
19. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «МАРАФОН» Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. Клинический микробиологический журнал. — 2014. — Т. 16. — № 4. — С. 254—265. / *Sukhorukova M.V., Eidelstein M.V., Sklenova E.YU., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. i issledovatel'skaya grupa «MARAFON»* Antibiotikorezistentnost nozokomialnykh shtammov Enterobacteriaceae v stacionarakh Rossii: rezulyaty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya MARAFON v 2011—2012 gg. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2014; 16: 4: 254—265. [in Russian]
20. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России. Клинический микробиологический журнал. — 2014. — № 16. — С. 273—279. / *Sukhorukova M.V., Eidelstein M.V., Sklenova E.Yu. i soavt.* Antibiotikorezistentnost nozokomialnykh shtammov *Pseudomonas aeruginosa* v stacionarakh Rossii. Klin mikrobiol antimikrob khimioter 2014; 16: 273—279. [in Russian]
21. Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России: Российские национальные рекомендации. Под ред. В.С.Савельева, Б.Р.Гельфанда, С.В. Яковлева. М.: БОРПРЕС, 2012. / Strategiya i taktika primeneniya antimikrobnnykh sredstv v lechebnykh uchrezhdeniyakh Rossii: Rossiiskie natsionalnye rekomendatsii. Pod red. V.S.Saveleva, B.R.Gelfanda, S.V. Yakovleva. M.: Borges, 2012. [in Russian]
22. Яковлев С.В., Суворова М.П., Елисеева Е.В. Стратегические и тактические вопросы рационального применения антибактериальных препаратов в стационаре. В кн.: Рациональная антимикробная фармакотерапия: руководство для практикующих врачей. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Литтерра, 2015. — С. 421—436. / *Yakovlev S.V., Suvorova M.P., Eliseeva E.V.* Strategicheskie i takticheskie voprosy rationalnogo primeneniya antibakterialnykh preparatov v statsionare. V kn.: Ratsionalnaya antimikrobnaya farmakoterapiya: rukovodstvo dlya praktikuyushchikh vrachei. Izd. 2-e, pererab. i dop. M.: Litterra, 2015; 421—436. [in Russian]
23. Яковлев С.Я., Журавлева М.В., Проценко Д.Н. и др. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы. Consilium Medicum. — 2017. — № 19 (7.1. Хирургия). — С. 15—51. / *Yakovlev S.YA., Zhuravleva M.V., Protsenko D.N. i dr.* Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnnoi Terapii) pri okazanii statsionarnoi meditsinskoi pomoshchi. Metodicheskie rekomendatsii dlya lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenii Moskvu. Consilium Medicum 2017; 19 (7.1. Khirurgiya): 15—51. [in Russian]
24. Яковлев С.В., Журавлева М.В., Проценко Д.Н., Белобородов В.Б., Брик Н.И., Брусина Е.Б. и др. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы. Consilium Medicum. — 2017. — Т. 19. — № 7-1. — С. 15—51. / *Yakovlev S.V., Zhuravleva M.V., Protsenko D.N., Beloborodov V.B., Briko N.I., Brusina E.B. i dr.* Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnnoi Terapii) pri okazanii statsionarnoi meditsinskoi pomoshchi. Metodicheskie

rekomentatsii dlya lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenii Moskvy. Consilium Medicum 2017; 19: 7—1: 15—51. [in Russian]

25. *Агеевец В.А., Лазарева И.В. Сидоренко С.В.* Проблема устойчивости к карбапенемным антибиотикам: распространение карбапенемаз в мире и России, эпидемиология, диагностика, возможности лечения. Фарматека. — 2015. — № 14 (307). — С. 9—16. / *Ageevets V.A., Lazareva I.V. Sidorenko S.V.* Problema ustoychivosti k karbapenemnym antibiotikam: rasprostranenie karbapenemaz v mire i Rossii, epidemiologiya, diagnostika, vozmozhnosti lecheniya. Farmateka 2015; 14 (307); 9—16. [in Russian]

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Куцевалова Ольга Юрьевна* — к.б.н., Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону

*Кит Олег Иванович* — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, генеральный директор ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

*Панова Наталья Ивановна* — врач бактериолог лаборатории клинической микробиологии ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

*Розенко Дмитрий Александрович* — заведующий отделением, врач анестезиолог реаниматолог ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

*Геворкян Юрий Артушевич* — д.м.н., профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии № 2, врач-онколог, ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

*Харегезов Дмитрий Акимович* — врач-онколог ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

*Мартынов Дмитрий Викторович* — к.м.н., заведующий Отделением анестезиологии и реанимации №1, Ростовский государственный медицинский университет Минздрав России, Ростов-на-Дону

26. *Покровский В.И., Акимкин В.Г., Брико Н.И. и др.* Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информационный материал по ее положению. Н.Новгород: Ремедиум Приволжье, 2012. / *Pokrovskii V.I., Akimkin V.G., Briko N.I. i dr.* Natsionalnaya kontseptsiya profilaktiki infektsii, svyazannykh s okazaniem meditsinskoi pomoshchi, i informatsionnyi material po ee polozheniyam. N.Novgorod: Remedium Privolzhe, 2012. [in Russian]

*Малыгин Владимир Николаевич* — к.м.н., заведующий отделением анестезиологии и реанимации №1, Ростовский государственный медицинский университет Минздрав России, Ростов-на-Дону

*Янковская Галина Васильевна* — к.м.н., врач-терапевт высшей категории, заведующая кабинетом клинической фармакологии, врач-клинический фармаколог, ЮОМЦ ФМБА России, Ростов-на-Дону

*Егорова Ольга Альбертовна* — врач клинический, фармаколог, Больница скорой медицинской помощи города Ростова-на-Дону

*Каминский Михаил Юрьевич* — к.м.н., заведующий отделением анестезиологии-реанимации N7, врач анестезиолог реаниматолог Больницы скорой помощи, Ростов-на-Дону

*Мирошниченко Дмитрий Иванович* — врач клинический фармаколог, Областная клиническая больница, Ростов-на-Дону

# Влияние циклоферона на эффективность фармакотерапии инфекционных заболеваний широкого спектра у детей и взрослых. Систематический обзор и метаанализ

Н. К. МАЗИНА, П. В. МАЗИН, Д. В. РЕДЬКИНА

Кировский государственный медицинский университет, Киров

## The Influence of Cycloferone on the Effectiveness of Pharmacotherapy of Wide Spectrum of Infectious Diseases in Children and Adults: Systematic Review and Meta-Analysis

N. K. MAZINA, P. V. MAZIN, D. V. REDKINA

Kirov State Medical University, Kirov

Объект исследования — массив данных, извлечённых из публикаций в рецензируемых научных изданиях, по клинической эффективности инъекционной и таблетированной формы препарата «Циклоферон» при кишечных инфекциях, сепсисе, менингите, бруцеллезе у детей и взрослых. Цель работы — оценка клинической эффективности циклоферона путем сравнения результатов (исходов) его использования на фоне базисной терапии острых и хронических инфекционных заболеваний бактериального и вирусного генеза, разной локализации с учётом неоднородности групп сравнения и изменчивости индикаторных параметров отклика на препарат. Сравнивали формализованные параметры клинической эффективности циклоферона и базисной терапии (повышение абсолютной и относительной пользы, отношение шансов, ЧБНЛ и др.). Высокую изменчивость показателей нивелировали симметричностью групп сравнения. Объединение групп сравнения в процессе мета-анализа повысило статистическую мощность исследования и позволило дать обобщённую оценку клинической эффективности препарата. Показано, что применение циклоферона для лечения и профилактики инфекционных заболеваний у взрослых и детей более, чем в 2 раза повышает шансы выздоровления и снижения рецидивов инфекционных заболеваний.

**Ключевые слова:** циклоферон, желудочно-кишечные инфекции, хронический бруцеллёз, менингит, сепсис, унифицированные показатели клинической эффективности, частотные характеристики, метаанализ, отношение шансов,

The object of research was an array of data on the clinical effectiveness of Cycloferon tablets and injections for intestinal infections, sepsis, meningitis, and brucellosis in children and adults, extracted from publications in peer-reviewed scientific journals. The aim of the work was to evaluate the clinical effectiveness of Cycloferon by comparing the results (outcomes) of its use against the background of basic therapy of acute and chronic infectious diseases of bacterial and viral genesis with different localization, taking into account the heterogeneity of the comparison groups and high variability of the indicator parameters of the response to the drug. Formalized parameters of clinical effectiveness of Cycloferon and background therapy, such as OR, the increase in absolute and relative benefits, NNT, were compared. High variability of indicators was leveled by the symmetry of the comparison groups. Combining the comparison groups in the meta-analysis process increased the statistical power of the study and allowed giving a generalized assessment of the clinical efficacy of the drug. It is shown that the use of cycloferon for the treatment and prevention of infectious diseases in adults and children more than doubles the chances of recovery and diminishes the recurrence of infectious diseases.

**Keywords:** cycloferon, gastrointestinal infections, chronic brucellosis, meningitis, sepsis, unified indicators of clinical effectiveness, frequency parameters, meta-analysis, odds ratio.

## Введение

Лечение и профилактика инфекционных заболеваний детей и взрослых всё чаще сталкиваются с неудачами вследствие резистентности возбудителей и вторичных иммунодефицитов. Инфекционные болезни представлены разнообразными нозологиями, при которых часто наблюдаются сходные неспецифические явления, такие как депрессия клеточно-опосредованного

иммунитета, дезинтеграция многих систем специфической и неспецифической защиты, функциональные нарушения нейтрофилов и лимфоцитов. Поэтому при лечении таких инфекций возрастает роль препаратов, способных расширить адаптационный ресурс систем естественного неспецифического иммунитета, в частности, эндогенных, экзогенных и синтетических иммуномодуляторов [1–3].

Для экзогенных иммуномодуляторов (ИМ) характерны побочные эффекты, которые ограничивают их применение в клинической практике: гриппоподобный синдром, обострение патологи-

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 610998, г. Киров, ул. К. Маркса, 112. ГКМУ

ческих процессов со стороны желудочно-кишечного тракта, центральной нервной и сердечно-сосудистой системы, мочевыводящей системы, кожи, суставов и щитовидной железы. При длительном применении экзогенных ИМ в больших концентрациях образуются антитела, которые их быстро инактивируют. Имеется опасность возникновения аутоиммунных заболеваний у пациентов, длительно получающих такие препараты [3, 4].

Индукторы интерферона (ИФН) имеют ряд преимуществ перед экзогенными ИМ, активизируя в организме синтез собственных интерферонов, которые не обладают антигенной активностью [3–5]. При этом выработка анти-ИФН антител не индуцируется, зато включаются механизмы защиты органов и тканей от избытка ИФН, что очень важно при длительном лечении [6, 7].

Эффективным и перспективным средством является отечественный препарат циклоферон (ЦКФ) — низкомолекулярный индуктор эндогенного интерферона, относящийся к классу акридонов и обладающий широким спектром биологической активности [3, 5, 7–9]. Основными клетками, выделяющими ИФН после введения ЦКФ являются макрофаги, Т- и В-лимфоциты. ЦКФ обладает прямым и опосредованным (через выработку ИФН) иммуотропным эффектом [1, 7, 10], активирует Т-лимфоциты и NK-клетки, нормализует баланс между CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клетками, снижает уровень В-лимфоцитов в периферической крови, повышает синтез высокоаффинных антител, а также синтез и активность  $\alpha$ -ИФН. Кроме того, ЦКФ активирует фагоцитоз, способствует повышению чувствительности нейтрофилов к другим иммунокорректорам и экспрессии антигенов. Он является индуктором синтеза мРНК для ИФН, интерлейкинов 1, 2, 6, индуцирует смешанный (Th1/Th2) тип иммунного ответа, начинает индуцировать ИФН через 4–6 ч, а пика эффект достигает через 8 ч, постепенно снижаясь через 24 ч [1, 3, 6].

В клинических многоцентровых рандомизированных плацебо-контролируемых исследованиях были доказаны позитивные фармакологические эффекты ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы [3–5], при острых кишечных инфекциях у детей разной степени тяжести [8, 7, 11], у пациентов с гнойно-септической патологией органов брюшной полости [12–14]. Во всех случаях применение индуктора интерферона ЦКФ вызывало нормализацию функциональных нарушений нейтрофилов, ускоряло выздоровление, снижало частоту и тяжесть послеоперационных осложнений.

Цель работы состояла в получении обобщённой оценки клинической эффективности ЦКФ при лечении распространённых инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной природы,

затрагивающих желудочно-кишечного тракта и мочевыводительную систему, при сепсисе, менингите, бруцеллёзе, инфекционных осложнениях после хирургических операций у взрослых и детей на основании систематического обзора и последующего метаанализа результатов рандомизированных клинических исследований (РКИ).

## Материал и методы

Систематический обзор и метаанализ в данном исследовании выполняли по схемам и в последовательности, опубликованной ранее [15].

После теоретического сравнительного анализа текстов согласно ключевым словам — «циклоферон, таблетки, раствор, взрослые, дети, острые и хронические инфекции ЖКТ, бруцеллёз, менингит, сепсис, пиелонефрит» были отобраны 76 (14,3%) публикаций. Частоты исходов (положительных, полезных или их отсутствия) в группах сравнения были выражены в долях пациентов (%) с исходами по конечным точкам эффективности ЦКФ в группах сравнения (табл. 1). По этим критериям для систематического обзора и метаанализа извлекли количественные данные из 13 публикаций по применению ЦКФ у детей (от 3 мес. до 17 лет) и 10 публикаций — у взрослых (18–55 лет), что в итоге составило 4,3% [2–8, 16–33] от всего массива опубликованных работ.

На основе числа пациентов с «позитивными» и «отрицательными» клиническими эффектами лечения, согласно точкам исходов (табл. 2), в ходе систематического обзора и вычислений была создана формализованная совокупность унифицированных показателей клинической эффективности ЦКФ для метаанализа в общепринятом [15], формате (табл. 3, 4).

Далее, сформировали обобщённые группы сравнения. Одну обозначали как контрольную, где все пациенты получали базисную терапию или симптоматическое лечение (БТ) в качестве активного плацебо, другую — как основную, в которой пациенты получали дополнительно ЦКФ.

Принципиальным является гетерогенность данных, поскольку именно такой подход, а не «идеальные РКИ» с жестким протоколом, открывает возможность имитировать реальную клиническую практику.

Проверку на устойчивость результатов в условиях гетерогенности показателей клинической эффективности проводили путём раздельного вычисления ОШ и 95%ДИ при применении ЦКФ у детей и взрослых. Ввиду малочисленности публикаций по применению ЦКФ или в таблетках, или в инъекциях, но наличия печатных сообщений об использовании ЦКФ по типу ступенчатой терапии (сначала инъекционные формы, а затем таблетки), публикации по разным лекарственным формам объединяли.

Статистическую значимость различий в группах сравнения по частотным характеристикам разных параметров-откликов (ЧИЛ и ЧИК) оценивали по критерию  $\chi^2$ , который вычисляли по абсолютному количеству пациентов с определённым исходом профилактики или лечения («заболели», «не заболели», «осложнения» и др.) [15].

## Результаты исследования

Все публикации и извлечённые из них данные были объединены в соответствии с возрастом пациентов в 2 группы: дети (от 3 месяцев до 17 лет) и взрослые (от 18 до 55 лет). Эту группировку данных (см. табл. 2) дополнили разбиением на подгруппы в соответствии с нозологиями, видами точек исходов и типом фармакотерапии (базисной или с участием ЦКФ). Так, учитывали гетерогенность опубликованных данных и их групповую

**Таблица 1. Список ссылок на публикации, извлечённые для систематического обзора и метаанализа, с обозначением нозологий и точек исхода, характеризующих клинические эффекты ЦКФ**

| Ссылка на публикацию | Нозология                                      | Точки исходов, характеризующие эффективность медикаментозного вмешательства с участием ЦКФ                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      |                                                | Дети                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| [21]                 | Гастродуоденопатия хеликобактерного генеза     | 1. Достижение 100% эрадикации <i>H. pylori</i> за время лечения                                                                                                                                                                                                                                                            |
| [6]                  | Острые кишечные инфекции                       | 1. Исчезновение лихорадки и интоксикации на 3-и сутки                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| [7]                  | Кишечные инфекции                              | 1. Бактериологическая санация от возбудителя<br>2. Купирование интоксикационного и диарейного синдрома                                                                                                                                                                                                                     |
| [2]                  | Энтеровирусный менингит                        | 1. Нормализация уровня ИФН на момент санации ликвора<br>2. Снижение ИЛ-4 > пг/мл по сравнению с исходным уровнем                                                                                                                                                                                                           |
| [22]                 | Микоплазменная пневмония                       | 1. Повышение уровня индуцированного ИФН- $\alpha$ на 2-е сутки после начала лечения<br>2. Повышение уровня индуцированного ИФН- $\gamma$ на 2-е сутки после начала лечения<br>3. Повышение уровня общего сывороточного ИФН на 2-е сутки после начала лечения<br>4. Снижение уровня TNF $\alpha$<br>5. Повышение уровня IgA |
| [17]                 | Пиелонефрит                                    | 1. Отсутствие рецидивов в течение года после лечения                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| [8]                  | Кишечные инфекции                              | 1. Отсутствие ротавирусного антигена после лечения                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| [23]                 | Инфекционный мононуклеоз                       | 1. Нормализация носового дыхания<br>2. Отсутствие лимфаденопатии<br>3. Нормализация размера печени<br>4. Отсутствие спленомегалии                                                                                                                                                                                          |
| [19]                 | Инфекционный мононуклеоз                       | 1. Снижение основных клинических признаков заболевания на 3-й день после начала лечения<br>2. Нормализация содержания лейкоцитов к окончанию лечения<br>3. Нормализация СОЭ                                                                                                                                                |
| [20]                 | Арбовирусный менингит                          | 1. Снижение основных симптомов заболевания на 3-и сутки после начала лечения                                                                                                                                                                                                                                               |
| [24]                 | Энтеровирусный менингит                        | 1. Частота санации ликвора                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| [16]                 | Инфекционный мононуклеоз                       | 1. Уменьшение размера лимфатических узлов<br>2. Нормализация носового дыхания<br>3. Уменьшение гепатомегалии<br>4. Уменьшение спленомегалии<br>5. Отсутствие атипичных мононуклеаров                                                                                                                                       |
| [18]                 | Ротавирусный энтерит                           | 1. Отсутствие интоксикации через 3-е суток лечения<br>2. Исчезновение диареи на 5-е сутки лечения                                                                                                                                                                                                                          |
| Взрослые             |                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| [27]                 | Неспецифический язвенный колит                 | 1. Нормализация гистологической картины<br>2. Нормализация всех показателей ИФН-статуса<br>3. Полная ремиссия заболевания по совокупности всех показателей                                                                                                                                                                 |
| [26]                 | Пептические дуоденальные язвы                  | 1. Рубцевание язвенного дефекта<br>2. Устранение эзофагита, гастродуоденита<br>3. Отсутствие остаточных нарушений симпатно-парасимпатической регуляции<br>4. Отсутствие реконтаминации <i>H. pylori</i> через 12 мес.<br>5. Отсутствие остаточных язвенных дефектов при эндоскопическом исследовании                       |
| [33]                 | Хронический бруцеллёз                          | 1. Отсутствие рецидивов через 6 мес. после лечения<br>2. Отсутствие рецидивов через 12 мес. после лечения                                                                                                                                                                                                                  |
| [29]                 | Дисбиоз кишечника при ХОБЛ                     | 1. Отсутствие сухих хрипов при выписке<br>2. Отсутствие воспалительных изменений в гемограмме<br>3. Отсутствие диспептического синдрома<br>4. Отсутствие абдоминального болевого синдрома<br>5. Нормализация стула                                                                                                         |
| [28]                 | Септические осложнения у хирургических больных | 1. Отсутствие послеоперационных внутрибрюшинных абсцессов                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| [5]                  | Хронический бруцеллёз                          | 2. Выжили<br>1. Отсутствие миалгии к 31-му дню лечения<br>2. Отсутствие нарушений функции сустава I-й степени<br>3. Субъективная позитивная оценка эффекта лечения                                                                                                                                                         |
| [25]                 | ЯБЖ и ДК                                       | 1. Заживление язвенного дефекта на стационарном этапе лечения                                                                                                                                                                                                                                                              |
| [30]                 | Хронический бруцеллёз                          | 1. Позитивная самооценка улучшения самочувствия в конце лечения                                                                                                                                                                                                                                                            |
| [32]                 | Арбовирусная инфекция                          | 1. Отсутствие геморрагической сыпи<br>2. Отсутствие кровотоочивости десен<br>3. Отсутствие носовых кровотечений<br>4. Отсутствие нарушений со стороны ЖКТ<br>5. Отсутствие тромбоцитопении<br>6. Отсутствие осложнений                                                                                                     |
| [31]                 | Внебольничная пневмония                        | 1. Нормализация содержания Т-хелперов на 7-е сутки                                                                                                                                                                                                                                                                         |

**Примечание.** ИЛ – интерлейкин; TNF – фактор некроза опухоли.



**Таблица 2. Клинические эффекты ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы по опубликованным результатам РКИ, включённым в систематический обзор**

| Ссылка<br>на РКИ | Точки<br>исходов* | Общее число<br>пациентов в РКИ | Группы пациентов,<br>получавших БТ |             |       | Группы пациентов,<br>получавших ЦКФ+БТ |           |       |
|------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------|-------|----------------------------------------|-----------|-------|
|                  |                   |                                | $N_{РКИ}$                          | $N_{контр}$ | $n^+$ | $n^-$                                  | $N_{ЦКФ}$ | $n^+$ |
| Дети             |                   |                                |                                    |             |       |                                        |           |       |
| [21]             | 1                 | 37                             | 22                                 | 16          | 6     | 15                                     | 14        | 1     |
| [6]              | 1                 | 300                            | 150                                | 24          | 126   | 150                                    | 64        | 86    |
| [7]              | 1                 | 580                            | 248                                | 203         | 45    | 332                                    | 299       | 33    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 60          | 188   |                                        | 276       | 56    |
| [2]              | 1                 | 86                             | 40                                 | 5           | 35    | 46                                     | 28        | 18    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 10          | 30    |                                        | 22        | 24    |
| [22]             | 1                 | 56                             | 20                                 | 6           | 14    | 36                                     | 25        | 11    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 4           | 16    |                                        | 22        | 14    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 4           | 16    |                                        | 20        | 16    |
|                  | 4                 |                                |                                    | 6           | 14    |                                        | 31        | 5     |
|                  | 5                 |                                |                                    | 10          | 10    |                                        | 26        | 10    |
| [17]             | 1                 | 52                             | 34                                 | 16          | 18    | 28                                     | 18        | 10    |
| [8]              | 1                 | 300                            | 150                                | 90          | 60    | 150                                    | 135       | 15    |
| [23]             | 1                 | 84                             | 42                                 | 22          | 20    | 42                                     | 25        | 17    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 29          | 13    |                                        | 34        | 8     |
|                  | 3                 |                                |                                    | 36          | 6     |                                        | 39        | 3     |
|                  | 4                 |                                |                                    | 2           | 40    |                                        | 7         | 35    |
| [19]             | 1                 | 80                             | 40                                 | 6           | 34    | 40                                     | 23        | 17    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 19          | 21    |                                        | 23        | 17    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 9           | 31    |                                        | 25        | 15    |
| [20]             | 1                 | 80                             | 40                                 | 25          | 15    | 40                                     | 33        | 7     |
| [24]             | 1                 | 120                            | 60                                 | 34          | 16    | 60                                     | 37        | 23    |
| [16]             | 1                 | 84                             | 42                                 | 29          | 13    | 42                                     | 34        | 8     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 22          | 20    |                                        | 25        | 15    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 30          | 12    |                                        | 33        | 9     |
|                  | 4                 |                                |                                    | 28          | 14    |                                        | 35        | 7     |
|                  | 5                 |                                |                                    | 7           | 35    |                                        | 15        | 27    |
| [18]             | 1                 | 100                            | 62                                 | 30          | 32    | 38                                     | 23        | 15    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 19          | 43    |                                        | 24        | 14    |
| Взрослые         |                   |                                |                                    |             |       |                                        |           |       |
| [27]             | 1                 | 58                             | 27                                 | 8           | 19    | 31                                     | 25        | 6     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 3           | 24    |                                        | 10        | 21    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 12          | 15    |                                        | 23        | 8     |
| [26]             | 1                 | 147                            | 77                                 | 60          | 17    | 70                                     | 64        | 6     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 8           | 69    |                                        | 34        | 36    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 43          | 34    |                                        | 56        | 14    |
|                  | 4                 |                                |                                    | 50          | 22    |                                        | 67        | 3     |
|                  | 5                 |                                |                                    | 62          | 15    |                                        | 67        | 3     |
| [33]             | 1                 | 40                             | 20                                 | 13          | 7     | 20                                     | 17        | 3     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 12          | 8     |                                        | 16        | 4     |
| [29]             | 1                 | 120                            | 44                                 | 14          | 30    | 76                                     | 60        | 16    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 37          | 7     |                                        | 74        | 2     |
|                  | 3                 |                                |                                    | 9           | 35    |                                        | 71        | 5     |
|                  | 4                 |                                |                                    | 20          | 24    |                                        | 74        | 2     |
|                  | 5                 |                                |                                    | 25          | 19    |                                        | 69        | 7     |
| [28]             | 1                 | 58                             | 31                                 | 24          | 7     | 27                                     | 26        | 1     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 27          | 4     |                                        | 23        | 4     |
| [5]              | 1                 | 40                             | 20                                 | 12          | 8     | 20                                     | 18        | 2     |
|                  | 2                 |                                |                                    | 7           | 13    |                                        | 14        | 6     |
|                  | 3                 |                                |                                    | 6           | 14    |                                        | 14        | 6     |
| [25]             | 1                 | 55                             | 23                                 | 16          | 7     | 32                                     | 29        | 3     |
| [30]             | 1                 | 47                             | 20                                 | 11          | 9     | 27                                     | 25        | 2     |
| [32]             | 1                 | 270                            | 112                                | 84          | 28    | 158                                    | 105       | 53    |
|                  | 2                 |                                |                                    | 56          | 56    |                                        | 88        | 70    |
|                  | 3                 |                                |                                    | 67          | 5     |                                        | 105       | 53    |
|                  | 4                 |                                |                                    | 78          | 34    |                                        | 123       | 35    |
|                  | 5                 |                                |                                    | 17          | 95    |                                        | 27        | 131   |
|                  | 6                 |                                |                                    | 62          | 50    |                                        | 123       | 35    |
| [31]             | 1                 | 93                             | 70                                 | 29          | 41    | 23                                     | 17        | 6     |

**Примечание.** \* — точки исходов обозначены и пронумерованы как в табл. 1;  $N$  — общее число пациентов в группе, подгруппе;  $n$  — число пациентов в подгруппе с определённым типом исхода («+» — «позитивного» или «-» — «отсутствия такового» — «отрицательного»).

**Таблица 3. Значения унифицированных показателей клинической эффективности ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний у детей по опубликованным результатам РКИ, включённым в систематический обзор для метаанализа**

| Ссылка                                                    | Исходы | ЧИЛ,% | ЧИК,% | $\chi^2$ | $p$      | ПАП,% | ПОП,% | ЧБНЛ | ОШ   | 95%ДИ | 95%ДИ |
|-----------------------------------------------------------|--------|-------|-------|----------|----------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| [21]                                                      | 1      | 93    | 73    | 1,31     | 0,25     | 20    | 27    | 5    | 5,25 | 0,51  | 58    |
| [6]                                                       | 1      | 43    | 18    | 25,7     | 0,000... | 25    | 139   | 4    | 3,91 | 2,2   | 7,04  |
| [7]                                                       | 1      | 90    | 82    | 8,21     | 0,004    | 8     | 10    | 13   | 2,01 | 1,2   | 3,4   |
|                                                           | 2      | 83    | 24    | 202      | 0,000... | 59    | 246   | 2    | 15,4 | 10,3  | 23,3  |
| [2]                                                       | 1      | 61    | 12,5  | 21,2     | 0,000... | 48,5  | 388   | 2    | 10,9 | 3,3   | 41,1  |
|                                                           | 2      | 48    | 25    | 4,8      | 0,03     | 23    | 92    | 4    | 2,8  | 1,1   | 7,7   |
| [22]                                                      | 1      | 69    | 30    | 8,1      | 0,004    | 39    | 130   | 3    | 5,3  | 1,4   | 21,1  |
|                                                           | 2      | 61    | 20    | 7,2      | 0,007    | 41    | 205   | 2    | 6,3  | 1,5   | 30,2  |
|                                                           | 3      | 55    | 20    | 5,26     | 0,02     | 35    | 175   | 3    | 5    | 1,24  | 24    |
|                                                           | 4      | 87    | 30    | 18,05    | 0,000... | 57    | 190   | 2    | 14,5 | 3,2   | 69,5  |
|                                                           | 5      | 73    | 50    | 2,8      | 0,09     | 23    | 46    | 4    | 2,6  | 0,7   | 9,4   |
| [17]                                                      | 1      | 64    | 47    | 1,84     | 0,18     | 17    | 36    | 6    | 2    | 0,65  | 6,4   |
| [8]                                                       | 1      | 90    | 60    | 38       | 0,000... | 30    | 50    | 3    | 6,01 | 3,1   | 12    |
| [23]                                                      | 1      | 60    | 52    | 1,9      | 0,17     | 8     | 15    | 13   | 1,9  | 0,71  | 5,27  |
|                                                           | 2      | 81    | 69    | 1,59     | 0,21     | 12    | 17    | 8    | 1,9  | 0,62  | 6,06  |
|                                                           | 3      | 94    | 86    | 0,49     | 0,48     | 8     | 9     | 13   | 2,17 | 0,42  | 14,25 |
|                                                           | 4      | 16    | 5     | 1,99     | 0,158    | 11    | 220   | 9    | 4    | 0,69  | 41,3  |
| [19]                                                      | 1      | 58    | 15    | 15,6     | 0,000... | 43    | 287   | 2    | 7,67 | 2,39  | 26,8  |
|                                                           | 2      | 58    | 49    | 0,81     | 0,37     | 9     | 18    | 11   | 1,5  | 0,57  | 3,96  |
|                                                           | 3      | 64    | 22    | 13,1     | 0,000... | 42    | 191   | 2    | 5,74 | 1,96  | 17,4  |
| [20]                                                      | 1      | 82,5  | 62,5  | 4,01     | 0,045    | 20    | 32    | 5    | 2,83 | 0,91  | 9,41  |
| [24]                                                      | 1      | 62    | 57    | 0,48     | 0,48     | 5     | 9     | 20   | 0,76 | 0,32  | 1,79  |
| [16]                                                      | 1      | 81    | 69    | 1,6      | 0,21     | 12    | 17    | 8    | 1,91 | 0,62  | 6,06  |
|                                                           | 2      | 60    | 52    | 1,83     | 0,17     | 8     | 15    | 13   | 1,83 | 0,7   | 4,86  |
|                                                           | 3      | 79    | 71    | 0,57     | 0,45     | 8     | 11    | 13   | 1,47 | 0,49  | 4,54  |
|                                                           | 4      | 84    | 67    | 3,4      | 0,078    | 17    | 25    | 6    | 2,5  | 0,8   | 8,29  |
|                                                           | 5      | 35    | 17    | 3,94     | 0,047    | 18    | 106   | 6    | 2,78 | 0,9   | 9,15  |
| [18]                                                      | 1      | 60    | 48    | 1,39     | 0,24     | 12    | 25    | 8    | 1,64 | 0,67  | 4,05  |
|                                                           | 2      | 63    | 30    | 10,02    | 0,001    | 33    | 110   | 3    | 3,88 | 1,5   | 9,9   |
| <b>Итог статистического моделирования при метаанализе</b> |        |       |       |          |          |       |       |      |      |       |       |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | мета | 3,91  | 4,6   |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | М-Х  | 3,73  | 4,4   |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | случ | 3,13  | 4,8   |

**Примечание.** \* — точки исходов обозначены и пронумерованы как в табл. 1.

симметричность по отношению к типу фармако-терапии.

В целом, систематический обзор и метаанализ охватил данные по 3477 пациентам, из которых в группу контроля вошли 1642 пациента (1198 детей и 444 взрослых) и в группу ЦКФ — 1835 пациентов (1351 детей и 484 взрослых).

Вследствие неоднородности физиологической природы точек исходов и различий в чувствительности их ответа на тип фармакотерапии возникали неопределённости в оценке эффекта ЦКФ. Они могли привести к искажению истинной картины эффекта — его преувеличению или отрицанию (ложноположительному или ложноотрицательному заключению) в зависимости от значений параметра точки исхода.

После расчётов унифицированных параметров клинической эффективности (см. табл. 3, 4) стало очевидно, что значения частот исходов в группе лечения ЦКФ (ЧИЛ), как правило, превосходили значения частот исходов в группе контроля (ЧИК) практически по всем исследованным точкам, однако статистическая значимость различий сильно колебалась. По критерию  $\chi^2$  уровень статистической значимости межгрупповых различий ЧИЛ и

ЧИК достигал границ диапазона  $p < 0,05$  у 52 и 57% значений точек исходов (дети и взрослые, соответственно, далее по тексту). При менее жестком критерии статистической значимости  $p < 0,1$ , доля статистически значимых различий в группах ЧИЛ и ЧИК возрастала до 59 и 67%, что отражало устойчивость оценок различий эффективности лечения.

Значения показателя «повышение абсолютной пользы» лечения (ПАП) в 52 и 63% точек исходов превышали 20%, то есть подтверждали наличие клинического эффекта ЦКФ. Значения показателя «повышение относительной пользы» (ПОП) в 63 и 69% точек исходов превышали порог 25%, то есть свидетельствовали о клинической значимости эффекта. Показатель ЧБНЛ в подавляющем большинстве случаев имел значения, не превышающие 10, что отражало более высокое качество и эффективность лечения с участием ЦКФ по сравнению с БТ.

Можно заметить, что величины унифицированных показателей эффективности в обеих возрастных подгруппах имели достаточно близкие значения. Это отчётливо подтвердилось сопоставлением обобщённых описательных статистик каждого унифицированного показателя (табл. 5).

**Таблица 4. Значения унифицированных показателей клинической эффективности ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний у взрослых по опубликованным результатам РКИ, включенным в систематический обзор для метаанализа**

| Ссылка                                                    | Исходы | ЧИЛ,% | ЧИК,% | $\chi^2$ | $p$      | ПАП,% | ПОП,% | ЧБНЛ | ОШ   | 95%ДИ | 95%ДИ |
|-----------------------------------------------------------|--------|-------|-------|----------|----------|-------|-------|------|------|-------|-------|
| [27]                                                      | 1      | 81    | 28    | 5,32     | 0,000... | 53    | 189   | 2    | 9,9  | 2,56  | 40,3  |
|                                                           | 2      | 33    | 11    | 2,6      | 0,101    | 22    | 200   | 5    | 3,8  | 0,81  | 23,9  |
|                                                           | 3      | 74    | 44    | 5,34     | 0,021    | 30    | 68    | 3    | 3,6  | 1,1   | 12,6  |
| [26]                                                      | 1      | 91    | 78    | 5,07     | 0,02     | 13    | 17    | 8    | 3,1  | 1,04  | 9,93  |
|                                                           | 2      | 48    | 11    | 26,2     | 0,000... | 37    | 336   | 3    | 8,2  | 3,2   | 22,2  |
|                                                           | 3      | 80    | 56    | 9,7      | 0,002    | 24    | 43    | 4    | 3,2  | 1,43  | 7,1   |
|                                                           | 4      | 96    | 72    | 16,9     | 0,000... | 24    | 33    | 4    | 9,8  | 2,7   | 53,3  |
|                                                           | 5      | 96    | 80    | 6,5      | 0,011    | 16    | 20    | 6    | 5,4  | 1,4   | 30,1  |
| [33]                                                      | 1      | 85    | 65    | 1,2      | 0,27     | 20    | 31    | 5    | 3,1  | 0,54  | 21,2  |
|                                                           | 2      | 80    | 60    | 1,91     | 0,3      | 20    | 33    | 5    | 2,67 | 0,54  | 14,7  |
| [29]                                                      | 1      | 79    | 32    | 26,2     | 0,000... | 47    | 147   | 2    | 8,04 | 3,21  | 20,35 |
|                                                           | 2      | 97    | 84    | 5,29     | 0,021    | 13    | 15    | 8    | 7    | 1,23  | 71,1  |
|                                                           | 3      | 94    | 21    | 66,7     | 0,000... | 73    | 348   | 1    | 55,2 | 15,5  | 216   |
|                                                           | 4      | 97    | 45    | 41,2     | 0,000... | 52    | 116   | 2    | 44   | 9,4   | 402   |
|                                                           | 5      | 91    | 57    | 18,9     | 0,000... | 34    | 60    | 3    | 7,5  | 1,26  | 42,16 |
| [28]                                                      | 1      | 96,3  | 79,4  | 2,88     | 0,091    | 16,9  | 21    | 6    | 7,58 | 0,85  | 154   |
|                                                           | 2      | 85,2  | 88,2  | 0        | 1,0      | -3    | -3    | -33  | 0,85 | 0,14  | 5,14  |
| [5]                                                       | 1      | 90    | 60    | 3,33     | 0,068    | 30    | 50    | 3    | 6    | 0,92  | 64,6  |
|                                                           | 2      | 70    | 35    | 3,61     | 0,057    | 35    | 100   | 3    | 4,33 | 0,97  | 20,2  |
|                                                           | 3      | 70    | 30    | 6,4      | 0,011    | 40    | 133   | 3    | 5,44 | 1,18  | 26,3  |
| [25]                                                      | 1      | 91    | 70    | 2,7      | 0,1      | 21    | 30    | 5    | 4,23 | 0,81  | 28,1  |
| [30]                                                      | 1      | 93    | 55    | 7,08     | 0,008    | 38    | 69    | 3    | 10,2 | 1,6   | 106   |
| [32]                                                      | 1      | 67    | 75    | 2,27     | 0,131    | -8    | -11   | -13  | 0,66 | 0,31  | 3,17  |
|                                                           | 2      | 56    | 50    | 0,85     | 0,36     | 6     | 12    | 17   | 1,26 | 0,75  | 2,1   |
|                                                           | 3      | 67    | 60    | 0,25     | 0,26     | 7     | 12    | 14   | 1,33 | 0,78  | 2,26  |
|                                                           | 4      | 78    | 70    | 2,32     | 0,12     | 8     | 11    | 13   | 1,53 | 0,85  | 2,76  |
|                                                           | 5      | 17    | 15    | 0,18     | 0,67     | 2     | 13    | 50   | 1,15 | 0,57  | 2,39  |
|                                                           | 6      | 78    | 55    | 15,4     | 0,000..  | 23    | 42    | 4    | 2,83 | 1,6   | 4,9   |
| [31]                                                      | 1      | 75    | 41    | 7,31     | 0,007    | 34    | 83    | 3    | 4    | 1,3   | 13,7  |
| <b>Итог статистического моделирования при метаанализе</b> |        |       |       |          |          |       |       |      |      |       |       |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | мета | 2,47  | 2,8   |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | М-Х  | 2,38  | 2,0   |
|                                                           |        |       |       |          |          |       |       |      | случ | 3,37  | 5,01  |

**Примечание.** \* — точки исходов обозначены и пронумерованы как в табл. 1.

«Оптимистические оценки» для детской популяции составили: ОШ = 4,4 (95% ДИ от 2,9 до 5,7), а у взрослых: ОШ = 7,8 (95% ДИ от 3,2 до 11,3). Однако после анализа описательных статистик унифицированных показателей (соотношение М, Ме, Мо и SD) и значений критериев нормальности распределения (табл. 5) получилось, что по совокупности значений исследованных суррогатных точек исходов все они, кроме ЧИЛ и ЧИК, имеют существенные отклонения от нормального распределения. Следовательно, обычные процедуры суммации и усреднения для оценки и интерпретации клинической эффективности ЦКФ не подходят и могут исказить результат в условиях ненормального распределения без учёта гетерогенности и соотношения численности подгрупп (так называемых «весовых нагрузок»).

Следовательно, для окончательной интерпретации эффективности ЦКФ по опубликованным данным потребовалось их статистическое объединение, поэтапная оценка внутренней и внешней гетерогенности, что обычно является неотъемлемым элементом метаанализа, позволяет уменьшить систематическую ошибку, смещения статистических оценок и получить корректную

объединённую количественную оценку клинической эффективности препарата.

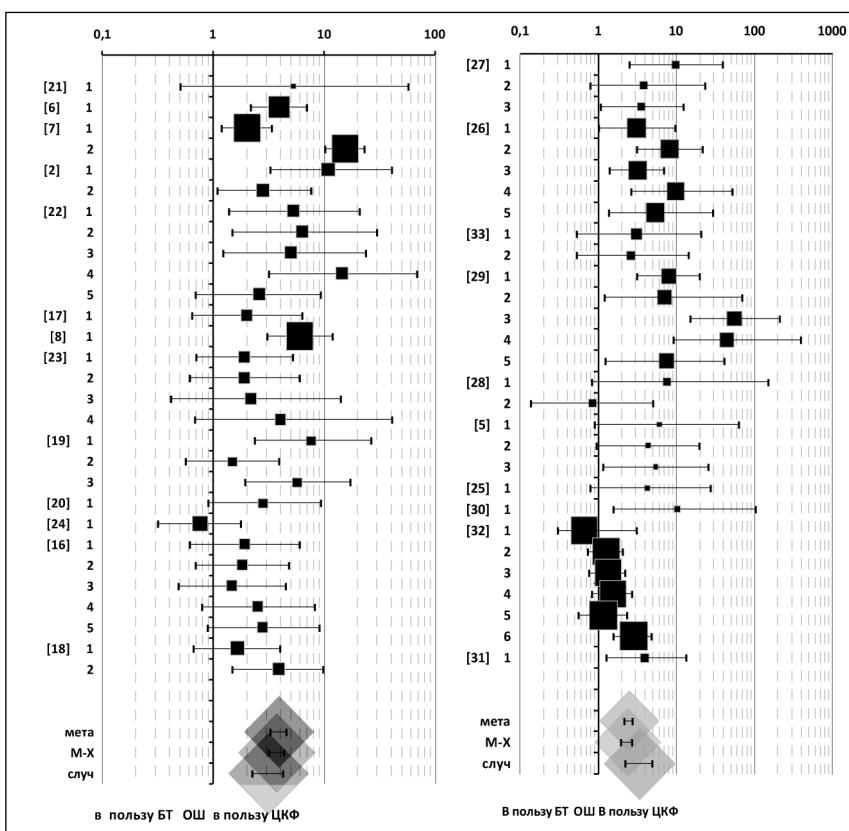
С учётом изменчивости значений унифицированных показателей клинической эффективности (см. табл. 3 и 4) провели метаанализ и графическое представление его результата [15] в виде диаграмм типа «форест-плот» (рис. 1) — сдвига ОШ (по оси абсцисс) в пользу применения ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний широкого спектра у детей и взрослых.

Дополнительно оценивали гетерогенность данных с вычислением обобщённого значения lgОШ (мета-) и статистическим моделированием с поправкой на неоднородность исследований: а) по методу Мантеля–Хензеля в модели фиксированных эффектов (обозначение в табл. 3, 4 и на графике — М-Х); б) при допущении случайности эффектов (обозначение в табл. 3, 4 и на графике — случ.).

При включении ЦКФ в схемы лечения инфекции у детей обобщённая оценка lgОШ, полученная в ходе метаанализа по совокупности гетерогенных оценочных показателей, указанных в табл. 3 и на рис. 1, уверенно сдвигалась вправо по оси абсцисс «в пользу ЦКФ» и составила 3,91 (95% ДИ от 3,3 до

**Таблица 5. Статистические характеристики унифицированных показателей клинической эффективности ЦКФ при инфекционных заболеваниях**

| Унифицированный показатель клинической эффективности | Описательные статистики показателей |     |     |     |         | Значения критериев нормальности распределения |                     |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----|-----|-----|---------|-----------------------------------------------|---------------------|
|                                                      | M                                   | Me  | Mo  | SD  | Min-max | Lilliefors, $p$                               | Shapiro-Wilk W, $p$ |
| <b>Дети</b>                                          |                                     |     |     |     |         |                                               |                     |
| ЧИЛ                                                  | 67                                  | 64  | 60  | 18  | 16–94   | 0,792                                         | <0,2                |
| ЧИК                                                  | 44                                  | 48  | 30  | 23  | 5–86    | 0,109                                         | <0,05               |
| ПАП                                                  | 24                                  | 20  | 8   | 16  | 5–59    | 0,008                                         | <0,1                |
| ПОП                                                  | 98                                  | 46  | 15  | 101 | 8–388   | 0,0003                                        | <0,01               |
| ЧБНЛ                                                 | 6,6                                 | 5   | 12  | 5   | 1–20    | 0,002                                         | <0,05               |
| ОШ                                                   | 4,4                                 | 2,8 | 1,9 | 4   | 0,8–15  | 0,000...                                      | <0,01               |
| <b>Взрослые</b>                                      |                                     |     |     |     |         |                                               |                     |
| ЧИЛ                                                  | 78                                  | 80  | 91  | 19  | 17–97   | 0,240                                         | >0,2                |
| ЧИК                                                  | 53                                  | 56  | 60  | 23  | 11–88   | 0,824                                         | <0,2                |
| ПАП                                                  | 25                                  | 23  | 30  | 18  | 8–73    | 0,000...                                      | <0,01               |
| ПОП                                                  | 76                                  | 42  | 33  | 32  | 10–347  | 0,000...                                      | <0,01               |
| ЧБНЛ                                                 | 4,7                                 | 4,2 | 3,3 | 12  | 3,3–50  | 0,000...                                      | <0,01               |
| ОШ                                                   | 7,8                                 | 4,2 | 3,1 | 12  | 0,7–55  | 0,000...                                      | <0,01               |

**Рис. 1. Отношение шансов позитивного исхода под влиянием ЦКФ при инфекционных заболеваниях широкого спектра у детей (слева) и взрослых (справа) после метаанализа совокупности оценочных показателей, представленных в публикациях, включённых в систематический обзор.**

Обозначения: — точки в виде квадратов — значения  $IgOШ$  эффектов ЦКФ в конкретных РКИ; точки в виде ромбов — обобщенные оценки ОШ; площадь точек ориентировочно соответствует числу пациентов, участвовавших в РКИ; горизонтальные «усы» — десятичные логарифмы 95% ДИ; в квадратных скобках — ссылки на публикации, включенные в систематический обзор и мета-анализ, как в табл. 2 и 4; ось абсцисс (логарифмическая) —  $IgOШ$ ;  $IgOШ = 1$  — линия нулевого эффекта; ромбовидные точки — обобщенные значения  $IgOШ$  в мета-анализе (мета) с поправками на фиксированные (модель Мантеля-Ханзеля, М-Х) и случайные эффекты (случ).

4,6). При поправке на фиксированный эффект по статистической модели Мантеля–Хензеля происходило незначительное уменьшение  $IgOШ$  до 3,73 (95% ДИ от 3,2 до 4,4). При переходе к более «жёсткой» модели случайных эффектов и с учётом гетерогенности параметров-откликов оценка  $IgOШ$  позитивных исходов уменьшалась до 3,13 с расширением диапазона 95% ДИ (95% ДИ от 2,0 до 4,8), оценка гетерогенности по  $\chi^2$  составила 109,8,  $p=0,000...$ , коэффициент гетерогенности  $H$  составил 2,0 (95% ДИ от 1,7 до 2,4), индекс гетерогенности составил  $I^2=74,5\%$  (95% ДИ от 69,4, % до 82,3%), что, с одной стороны, математически подтверждало высокую гетерогенность данных, с другой — устойчивость и статистическую достоверность оценки ОШ и его 95% ДИ, которые изменялись в зависимости от типа статистической модели в пределах 25%.

При включении ЦКФ в схемы лечения инфекционных заболеваний широкого спектра у взрослых обобщённая оценка  $IgOШ$  полученная в ходе мета-анализа по совокупности гетерогенных оценочных показателей, указанных в табл. 4 и на рис. 1 также уверенно сдвигалась вправо по оси абсцисс «в пользу ЦКФ» и составила 2,47 (95% ДИ от 2,2 до 2,8). При поправке на фиксированный эффект по ста-

статистической модели Мантеля–Хензеля происходило незначительное уменьшение  $\lg\text{ОШ}$  до 2,38 (95% ДИ от 2,0 до 2,76). При переходе к более «жёсткой» поправке на случайность эффектов и с учётом гетерогенности параметров-откликов оценка  $\lg\text{ОШ}$  позитивных исходов возрастала до 3,37 с расширением диапазона 95%ДИ (95% ДИ от 2,27 до 5,01), оценка гетерогенности по  $\chi^2$  составила 195,6,  $p=0,000...$ , коэффициент гетерогенности  $H$  составил 2,6 (95%ДИ от 2,2 до 3,0), индекс гетерогенности составил  $I^2=85,2\%$  (95% ДИ от 79,9 до 89,1%), что также математически подтверждало высокую гетерогенность данных. Невзирая на это, продемонстрирована высокая устойчивость и статистическая значимость оценки ОШ и его 95%ДИ, которые изменялись в зависимости от типа статистической модели в пределах 27%.

## Заключение

При сходстве в дизайне независимых РКИ, включённых в систематический обзор и метаанализ, отмечали разнообразие точек исхода, характеризующих клинические эффекты ЦКФ.

Обобщённая совокупность абсолютных значений ЧИЛ и ЧИК у детей и взрослых при попарном сравнении по непараметрическому критерию знаков различалась в среднем на 23 и 25% ( $z=4,3$  и  $4,5$ ;  $p=0,000...$ ), то есть имел место высокий уровень статистической значимости различий в пользу более высокой клинической эффективности ЦКФ. Вариабельность значений частотных характеристик точек исхода, характеризующих клиническую эффективность, в подгруппе с ЦКФ (согласно значениям SD) была снижена по сравнению с БТ. Абсолютные значения ЧИЛ в подавляющем большинстве были выше, чем ЧИК при попарном сравнении.

Расчётные значения ОШ по каждому РКИ без учёта численности участвовавших пациентов (так называемой «весовой нагрузки») приводили к завышенным результатам (табл. 5). Для более строгой проверки «нулевой гипотезы» эти результаты были обработаны в разных статистических моделях метаанализа с поправками на гетерогенность и неоднородность исходных данных (табл. 3 и 4). После формирования единого массива для статистической обработки проявилась возможность более взвешенной оценки клинической эффективности ЦКФ при лечении инфекционных заболеваний у детей и взрослых. Выяснилось, что шансы наступления позитивных исходов и у педиатрических пациентов и у взрослых благодаря ЦКФ повышались.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Еришов Ф.И., Шульдjakов А.А., Ромацов М.Г., Ляпина Е.П., Соболева Л.А. Результаты и перспективы использования индукторов интерферона в лечении инфекционных болезней. Вестник РАМН. — 2013. — № 10. С. 46—52. / *Ershov F.I., Shul'djakov A.A., Romacov M.G., Ljapina E.P., Soboleva L.A. Rezul'taty i perspektivy ispol'zovaniya induk-*

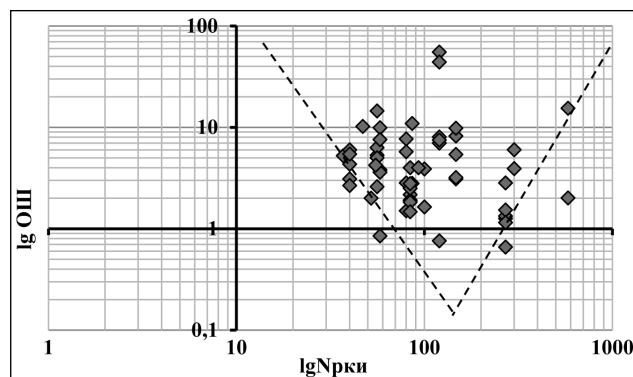


Рис. 2. Связь значений ОШ от величины численности пациентов, участвовавших в РКИ (Npki).

Ось ординат —  $\lg\text{ОШ}$ ; ось абсцисс —  $\lg N_{\text{пки}}$ .

Формирование симметричных по гетерогенности подгрупп для метаанализа позволило скорректировать смещение оценки эффективности ЦКФ в формате ОШ, что было показано сопоставлением формальных описательных статистик и результатов статистического моделирования в ходе метаанализа.

Это подтвердилось сопоставлением формальных описательных статистик и результатов статистического моделирования в ходе метаанализа и при изучении зависимости ОШ от численности пациентов в РКИ (рис. 2).

Оказалось, что функциональная зависимость ОШ от численности пациентов, включённых в клиническое исследование ( $N_{\text{пки}}$ ), отсутствует (коэффициент корреляции Пирсона  $r=0,00726$ ), а точки образуют несимметричную общность, что и продемонстрировал воронкообразный график, который мы для удобства масштабирования осей и обозначения точек построили в логарифмической системе координат.

Из анализа этого графика возможен ещё один вывод — отсутствие «публикационного смещения», то есть получение на основании извлечённых опубликованных данных оценки, приближенной к клинической реальности.

Таким образом, использованный нами метааналитический подход позволяет увеличить статистическую мощность клинических исследований и получить устойчивую оценку эффективности ЦКФ. Его введение в схемы фармакотерапии инфекционных заболеваний широкого спектра у детей и взрослых позволяет увеличить более чем в 2 раза шансы выздоровления или наступления устойчивой ремиссии.

torov interferona v lechenii infekcionnyh boleznej. Vestnik RAMN 2013; 10: 46—52. [in Russian]

2. Михайлова Е.В., Еремеева И.Г. Патогенетическая терапия асептических менингитов у детей. Вестник северо-западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. — 2007. — № 1. — С. 49—52. / *Mihajlova E.V., Eremeeva I.G. Patogeneticheskaja terapija asepticheskikh meningitov u detej. Vestnik severo-zapadnogo*



- gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I. I. Mechnikova. 2007; 1: 49–52. [in Russian].
3. Романцов М.Г., Мельникова И.Ю. Возможность использования циклоферона при вирусных и бактериальных инфекциях у детей (клинический обзор). Журнал Интерферон 2011. Сборник научных статей. — 2012. — С. 232–252. / *Romancov M.G., Mel'nikova I.Yu.* *Vozmozhnost' ispol'zovaniya cikloferona pri virusnyh i bakterial'nyh infekcijah u detej (klinicheskij obzor).* Zhurnal Interferon 2011. Sbornik nauchnyh statej. 2012; 232–252 [in Russian].
  4. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. — Киев: 2010. — С. 52. / *Drannik G.N.* *Klinicheskaja immunologija i allergologija.* Kiev: 2010; 552. [in Russian]
  5. Ляпина Е.П., Шульдьяков А., Кожеевникова Г. Циклоферон в комплексном лечении больных хроническим бруцеллёзом. Врач. — 2006. — № 12. — С. 35–38. / *Ljapina E.P., Shul'djakov A., Kozhevnikova G.* *Cikloferon v kompleksnom lechenii bol'nyh hronicheskim brucellosem.* Vrach 2006; 12: 35–38. [in Russian]
  6. Брум Т.В., Гладышев В.Г., Романцов М.Г. Влияние циклоферона на важнейшие показатели инфекционного процесса у детей с острыми кишечными инфекциями. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии. — 2004. — № 2. — С. 54–155. / *Brum T.V., Gladyshev V.G., Romancov M.G.* *Vlijanie cikloferona na vazhnieshie pokazateli infekcionnogo processa u detej s ostrymi kishhechnymi infekcijami.* Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. 2004; 2: 54–155. [in Russian]
  7. Романцов М.Г., Грекова А.И., Смолянкин Н.Н., Яснецова А.Ф., Старикова И.В., Лузина Н.В., Симонова В.И., Баженова О.П., Каткова В.В., Брум Т.В., Тимершина Н.В. Метилглюкамин акридоната в комплексной терапии кишечных инфекций у детей (пострегистрационные многоцентровые исследования). Циклоферон. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии. — 2004. — № 3. — С. 104. / *Romancov M.G., Grekova A.I., Smoljankin N.N., Jasneceva A.F., Starikova I.V., Luzina N.V., Simonova V.I., Bazhenova O.P., Katkova V.V., Brum T.V., Timerschina N.V.* *Metilgljukamin akridonacetat v kompleksnoj terapii kishhechnyh infekcij u detej (postregistracionnye mnogocentrovye issledovanija).* Cikloferon. Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. 2004; 3: 104. [in Russian]
  8. Романцов М.Г., Тихомирова О.В. Патогенетически обоснованная иммунотропная терапия кишечных инфекций у детей (клинический обзор) Циклоферон. Фундаментальные исследования. — 2010. — № 3. — С. 122–137. / *Romancov M.G., Tihomirova O.V.* *Patogeneticheski obosnovannaja immunotropnaja terapija kishhechnyh infekcij u detej (klinicheskij obzor)* Cikloferon. Fundamental'nye issledovanija 2010; 3: 122–137. [in Russian]
  9. Румянцева С.А., Шишкина А.А. Иммункоррекция гнойных осложнений при инсульте. Вестник северо-западного государственного медицинского университета им. И. М. Мечникова. — 2005. — № 3 — С. 130–134. / *Rumjanceva S.A., Shishkina A.A.* *Immunokorrekcija gnojnyh oslozhnenij pri insul'te.* Vestnik severo-zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.M. Mechnikova. 2005; 3: 130–134. [in Russian]
  10. Ермолов А.С., Иванов П.А., Хватов В.Б. и др. Эффективность иммунотропной терапии у больных тяжёлым острым панкреатитом. В кн.: Актуальные вопросы диагностики и лечения панкреатогенного инфильтрата забрюшинной клетчатки: Материалы городского семинара. М.: НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, 2005. — № 181. — С. 42–48. / *Ermolov A.S., Ivanov P.A., Hvatov V.B. et al.* *Jefferektivnost' immunokorrekcii u bol'nyh tjazhelym ostrym pankreatitom.* In: Aktual'nye voprosy diagnostiki i lechenija pankreatogennogo infil'trata zabrjushinnoj kletchatki: Materialy gorodskogo seminar. M.: NII skoroj pomoshhi im. N.V. Sklifosovskogo 2005; 181: 42–48. [in Russian]
  11. Романцов М.Г. Терапия кишечных инфекций циклофероном. Врач. — 2001. — № 6. — С. 28–283. / — *Terapija kishhechnyh infekcij cikloferonom.* Vrach 2001; 6: 28–283. [in Russian]
  12. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. СПб «Диалект», 2006. — С. 295. / *Kozlov V.K.* *Sepsis: jetiologija, immunopatogenez, koncepcija sovremennoj immunoterapii.* SPb «Dialekt», 2006; 295. [in Russian]
  13. Ступин В.А., Гивировская Н.Е., Жидких Н.В. Клиническая эффективность применения индукторов интерферона у хирургических больных. Хирургия. — 2010. — № 6. — С. 52–56. / *Stupin V.A., Givirovskaja N.E., Zhidkih N.V.* *Klinicheskaja jefferektivnost' primeneniya induktorov interferona u hirurgicheskix bol'nyh.* Hirurgija 2010; 6: 52–56. [in Russian]
  14. Фролов В.М., Пересадин Н.А., Чхетиани Р.Б., Круглова О.В. Повышение эффективности антибактериальной терапии хронического сепсиса при использовании комбинации циклоферона и реамберина. Антибиотики и химиотер. — 2012; — № 6: — С. 18–27. / *Frolov V.M., Peresadin N.A., Chhetiani R.B., Kruglova O.V.* *Povyshenie jefferektivnosti antibakterial'noj terapii hroniosepsisa pri ispol'zovanii kombinacii cikloferona i reamberina.* Antibiotiki i khimioter 2012; 6: 18–27. [in Russian]
  15. Мазина Н.К., Мазин П.В., Ипполитова А.А., Коваленко А.Л. Оценка клинической эффективности циклоферона при гепатите В и С у детей и взрослых по результатам систематического обзора и мета-анализа. Антибиотики и химиотер. — 2017. — Т. 62. — № 5–6. — С. 43–53. / *Mazina N. K., Mazin P. V., Ippolitova A. A., Kovalenko A. L.* *Cycloferon Efficiency in Children's and Adults' Hepatitis B and C Treatment: Systematic Review and Meta-Analysis Results.* Antibiotiki i khimioter 2017; 5–6: 43–53. [in Russian]
  16. Баранова И.П., Курмаева Д.Ю. Сравнительный анализ эффективности противовирусной терапии при инфекционном мононуклеозе у детей. Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2013. — № 8. — С. 47–49. / *Baranova I.P., Kurmaeva D.Ju.* *Sravnitel'nyj analiz jefferektivnosti protivovirusnoj terapii pri infekcionnom mononukleoze u detej.* Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija 2013; 8: 47–49. [in Russian]
  17. Ботвиньев О.К., Орехова С.Б., Романцов М.Г. Эффективность применения Циклоферона при пиелонефрите у детей. Российский педиатрический журнал. — 2010. — № 1. — С. 25–28. / *Botvin'ev O.K., Orehova S.B., Romancov M.G.* *Jefferektivnost' primeneniya Cikloferona pri pielonefrite u detej.* Rossijskij pediatricheskij zhurnal 2010; 1: 25–28. [in Russian]
  18. Васютенко Е.Б., Петрова А.Г. Меглумина акридоната в лечении ротавирусного гастроэнтерита у детей. Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2013. — № 10. — С. 16–19. / *Vasjutenko E.B., Petrova A.G.* *Meglumina akridonacetat v lechenii rotavirusnogo gastroenterita u detej.* Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija 2013; 10: 16–19. [in Russian]
  19. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. Клиническая эффективность применения циклоферона в комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей. Антибиотики и химиотер. — 2011. — № 9–10 — С. 37–40. / *Kasymova E.B., Bashkina O.A., Galimzjanov H.M.* *Klinicheskaja jefferektivnost' primeneniya cikloferona v kompleksnoj terapii infekcionnogo mononukleoza u detej.* Antibiotiki i himioterapija 2011; 9: 37–40. [in Russian]
  20. Кимирилова О. Г., Романцов М. Г., Харченко Г.А. Иммунотропная терапия арбовирусных инфекций у детей. Антибиотики и химиотер. — 2013. — № 3–4. — С. 44–49. / *Kimirilova O. G., Romancov M. G., Harchenko G.A.* *Immunotropnaja terapija arbovirusnyh infekcij u detej.* Antibiotiki i khimioterapija 2013; 3–4: 44–49. [in Russian]
  21. Корниенко Е.А. Применение индуктора интерферона Циклоферона при эрадикационной терапии у детей. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии. — 2002 — № 1–2. — С. 120–122. / *Kornienko E.A.* *Primenenie induktora interferona Cikloferona pri jeradikacionnoj terapii u detej.* Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. 2002; 1–2: 120–122. [in Russian]
  22. Королёва Е.Г., Головачёва Е.Г., Орлов А.В., Милкин К.К., Образцова Е.В., Осидак Л.В., Дринецкий В.П. Циклоферон в терапии респираторной микоплазмы пневмонии инфекции у детей с отягощённым преморбидным фоном. Вестник северо-западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. — 2007. — № 4. — С. 38–42. / *Koroljova E.G., Golovachjova E.G., Orlov A.V., Milkint K.K., Obrazcova E.V., Osidak L.V., Drinevskij V.P.* *Cikloferon v terapii respiratornoj mikoplazmy pnevmonii infekcii u detej s otjagoshhonnym premorbidnym fonom.* Vestnik severo-zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.I. Mechnikova 2007; 4: 38–42. [in Russian]
  23. Курмаева Д.Ю., Баранова И.П. Терапевтическая эффективность различных форм циклоферона при лечении инфекционного мононуклеоза у детей. Антибиотики и химиотер. — 2011. — № 9–10. — С. 33–36. / *Kurmaeva D.Ju., Baranova I.P.* *Terapevticheskaja jefferektivnost' razlichnyh form cikloferona pri lechenii infekcionnogo mononukleoza u detej.* Antibiotiki i khimioterapija 2011; 9–10: 33–36. [in Russian]
  24. Хаманова Ю.Б., Сабитов А.У., Фомин В.В., Чеснакова О.А., Овчинникова А.О., Лагерева Ю.Г. Клиническая оценка эффективности лечения менингеальной формы энтеровирусной инфекции иммуномодуляторами. Уральский медицинский журнал. — 2013. — № 6. — С. 50–54. / *Hamanova Ju.B., Sabitov A.U., Fomin V.V., Chesnakova O.A., Ovchinnikova A.O., Lagereva Ju.G.* *Klinicheskaja ocenka jefferektivnosti lechenija meningal'noj formy jentervirusnoj infekcii immunomoduljatorami.* Ural'skij medicinskij zhurnal 2013; 6: 50–54. [in Russian]
  25. Второв М.О. Особенности иммунного статуса больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки на фоне лечения циклофероном в сочетании с гипербарической оксигенацией. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии. 2006. — 1. — 115–120. / *Vtorov M.O.* *Osobennosti immunnogo statusa bol'nyh jazvennoj bolezni'ju zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki na fone lechenija cikloferonom v sochetanii s giperbaricheskoj oksigenaciej.* Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. 2006; 1: 115–120. [in Russian]
  26. Евдокимова И.В. Эффективность циклоферона в лечении множественных ленточных язв дуоденальной локализации. Вестник северо-западного государственного медицинского университета

- им. И.М. Мечникова. — 2005. — № 4. — С. 84—88. / *Evdokimova I.V.* Jeffektivnost' cikloferona v lechenii mnozhestvennyh pepticheskikh jazv duodenal'noj lokalizacii. Vestnik severo-zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.M. Mechnikova. 2005; 4: 84—88. [in Russian]
27. *Ершов Ф.И., Гусева О.А., Григорян С.С., Оспельникова Т.П., Гаджиева М.Г.* Эффективность таблеток циклоферона в терапии неспецифического язвенного колита. Международный медицинский журнал. — 2002. — № 5. — С. 432—434. / *Ershov F.I., Guseva O.A., Grigorjan S.S., Ospel'nikova T.P., Gadzhieva M.G.* Jeffektivnost' tabletok cikloferona v terapii nespecificheskogo jazvennogo kolita. Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal 2002; 5: 432—434. [in Russian]
  28. *Лешихина Ю.А., Прилуцкая Н.В., Цкаева Т.М., Жидких С.Ю., Джафаров Э.Т., Балдин В.Л., Овсяницкий Ф.О.* Профилактика и лечение гнойно-септических осложнений у хирургических больных. Вестник интенсивной терапии. — 2006. — № 1. — С. 67—70. / *Leshihina Ju.A., Priluckaja N.V., Ckaeva T.M., Zhidkih S.Ju., Dzhaфарov Je.T., Balдин V.L., Ovsjanickij F.O.* Profilaktika i lechenie gnojno-septicheskikh oslozhnenij u hirurgicheskikh bol'nyh. Vestnik intensivnoj terapii 2006; 1: 67—70. [in Russian]
  29. *Линниченко Е.Р.* Клинико-патологическое обоснование использования циклоферона в комплексном лечении больных хронической обструктивной болезнью лёгких, сочетанной с дисбиозом кишечника. Вестник северо-западного государственного медицинского университета им. И.М. Мечникова. — 2005. — 4. — 92—96. / *Linnichenko E.R.* Kliniko-patologicheskoe obosnovanie ispol'zovanija cikloferona v kompleksnom lechenii bol'nyh hronicheskoi obstruktivnoj bolezni'ju legkih, sochetannoju s disbiozom kishechnika. Vestnik severo-zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.M. Mechnikova. 2005; 4: 92—96. [in Russian]
  30. *Ляпина Е.П., Соболева Л.А., Шульдяков А.А., Сатарова С.А., Перминова Т.А.* Эффективность циклоферона при лечении больных бруцеллёзом. Клиническая медицина. 2010. — № 3. — С. 54—58. / *Ljapina E.P., Soboleva L.A., Shul'djakov A.A., Satarova S.A., Perminova T.A.* Jeffektivnost' cikloferona pri lechenii bol'nyh brucellezom. Klinicheskaja medicina 2010; 3: 54—58. [in Russian]
  31. *Ржеутская Р.Е.* Интенсивная терапия тяжёлой внебольничной пневмонии. Грузинские медицинские новости, 2012; 12: 33—39. *Rzheutskaja R.E.* Intensivnaja terapija tjazhelej vnebol'nicnoj pnevmonii. Gruzinskie medicinskie novosti, 2012; 12: 33—39. [in Russian]
  32. *Романцов М.Г., Галимзянов Х.М., Локтева О.М., Коваленко А.Л., Степанов А.В.* Экспериментальная и клинико-лабораторная оценка эффективности комплексной терапии арбовирусных заболеваний. Антибиотики и химиотер. 2012. — 7—8: 12—22. / *Romancov M.G., Galimzjanov H.M., Lokteva O.M., Kovalenko A.L., Stepanov A.V.* Jeksperimental'naja i kliniko-laboratornaja ocenka jeffektivnosti kompleksnoj terapii arbovirusnyh zabolevanij. Antibiotiki i khimioter 2012; 7—8: 12—22. [in Russian]
  33. *Шульдяков А.А., Молокина О.Н., Ляпина Е.П., Гладилина Е.Г., Смагина А.Н., Бережнова И.А.* Клинико-иммунологическая эффективность циклоферона в комплексном лечении хронического бруцеллёза. Вестник северо-западного государственного медицинского университета им. И.М. Мечникова. — 2005. — № 4. — С. 88—91. / *Shul'djakov A.A., Molokina O.N., Ljapina E.P., Gladilina E.G., Smagina A.N., Berezhnova I.A.* Kliniko-immunologicheskaja jeffektivnost' cikloferona v kompleksnom lechenii hronicheskogo brucelleza. Vestnik severo-zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta im. I.M. Mechnikova. 2005; 4: 88—91. [in Russian]

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Мазина Надежда Константиновна* — д.м.н., зав. кафедрой фармакологии Кировского ГМУ, Киров

*Мазина Павел Владимирович* — руководитель Центра внедрения биомедицинских и медицинских технологий Кировского ГМУ, Киров

*Редькина Дарья Владимировна* — ассистент кафедры фармакологии Кировского ГМУ, Киров

# DDD- и DU90%-анализ антимикробной терапии внебольничной пневмонии в условиях стационара Федерального центра

\*О. В. ЖУКОВА<sup>1</sup>, О. В. РУИНА<sup>1</sup>, С. В. КОНОНОВА<sup>1</sup>, М. В. ХАЗОВ<sup>2</sup>, С. В. РОМАНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород

<sup>2</sup> Приволжский окружной медицинский центр, Нижний Новгород

## DDD and DU90% Analysis of Antimicrobial Therapy of Community-Acquired Pneumonia in the In-Patient Department of the Federal Center

\* O. V. ZHUKOVA<sup>1</sup>, O. V. RUINA<sup>1</sup>, S. V. KONONOVA<sup>1</sup>, M. V. KHAZOV<sup>2</sup>, S. V. ROMANOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod

<sup>2</sup> Privolzhsky District Medical Center, Nizhny Novgorod

**Цель исследования** — проведение DDD-анализа и DU90%-анализа антимикробной терапии внебольничной пневмонии в условиях реальной клинической практики стационара Федерального центра в России. **Материал и методы.** Материалами для исследования послужили данные 48 историй болезни пациентов с ВП, госпитализированных в ФБУЗ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России г. Нижнего Новгорода в 2016 г. Возраст пациентов составил от 22 до 84 лет ( $54,79 \pm 17,49$ ). Диагноз был подтверждён рентгенологическими исследованиями при поступлении. Средняя степень тяжести была диагностирована в 41,67% (20 пациентов), тяжёлая степень — в 58,33% (28 пациентов) случаев. При проведении ретроспективной фармакоэпидемиологической оценки использовался DDD-анализ и DU90%-анализ. **Результаты.** Наибольшее количество назначений приходится на цефалоспорины III поколения и фторхинолоны. Самое большое значение NDDD соответствует левофлоксацину, затем следует цефтриаксон (NDDD=108,5 г, что в 4,3 раза меньше, чем для левофлоксацина). В расчёте на 100 койко-дней в стационаре 69,67% пациентов получают терапию левофлоксацином, что в разы превышает долю пациентов, получающих терапию другими АМП. В группу, составляющую 90% всех потребляемых NDDD антимикробных препаратов при ВП, вошли: левофлоксацин — 71,19%, цефтриаксон — 16,50%, эртапенем — 4,70%. Сегмент DU10% составили лекарственные препараты (ЛП), доля которых в реальной структуре назначений составила 24,56%. Стоимость одной DDD в сегменте DU90% (6022,88 руб.) в 1,9 раза превышает таковую в сегменте DU10% (3166,73 руб.), что позволяет говорить о широком использовании дорогостоящих ЛП. **Выводы.** Лекарственные средства, вошедшие в группу 90% по результатам DU90%, составили 75,44% в реальной структуре назначения. В стационаре преимущественно использовались дорогостоящие антимикробные препараты (оригинальные ЛП и высококачественные генерики). Стоимость одной DDD в сегменте DU90% почти в 2 раза превышает стоимость DDD в сегменте DU10%.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, антимикробная терапия, антибиотики, фторхинолоны, фармакоэпидемиологический анализ, DDD-анализ, DU90%-анализ, потребление антимикробных препаратов.

The purpose of the study is to conduct DDD analysis and DU90% analysis of antimicrobial therapy of community-acquired pneumonia in the real clinical practice of the inpatient department of the federal center in Russia. **Material and methods.** The materials for the study are data from 48 case histories of patients with CAP, hospitalized in the Volga District Medical Centre (VDMC) under Federal Medical and Biological Agency (FMBA) of Russia in Nizhny Novgorod in 2016. The patients' age ranged from 22 to 84 years ( $54.79 \pm 17.49$ ). The diagnosis was confirmed by x-ray examinations at admission. The average severity of the disease was diagnosed in 41.67% (20 patients), the severe degree of the disease in 58.33% (28 patients). When conducting a retrospective pharmacoepidemiological assessment, DDD analysis and DU90% analysis were used. **Results.** The largest number of prescriptions falls on III generation cephalosporins and fluoroquinolones. The largest NDDD value corresponds to levofloxacin, followed by ceftriaxone (NDDD = 108.5 g, which is 4.3 times less than for levofloxacin). Within the framework of 100 bed-days in the hospital, 69.67% of patients receive levofloxacin therapy, which is several times greater than the proportion of patients receiving therapy with other antimicrobial agents. The group constituting 90% of all the NDDD antimicrobial drugs consumed in CAP included: levofloxacin — 71.19%, ceftriaxone — 16.50%, ertapenem — 4.70%. The DU10% segment was comprised of medications with the share in the real structure of prescriptions amounting to 24.56%. The cost of one DDD in the DU90% segment (6,022.88 rubles) is 1.9 times higher than that in the DU10% segment (3,166.73 rubles), which allows discussing the extensive use of expensive drugs. **Conclusions.** Drugs, included in the group of 90% according to the results of DU90%, accounted for 75.44% in the real purpose structure. Expensive antimicrobials (original drugs and high-quality generics) were predominantly used in the hospital. The cost of one DDD in the DU90% segment is almost 2 times the cost of DDD in the DU10% segment.

**Keywords:** community-acquired pneumonia, antimicrobial therapy, antibiotics, fluoroquinolones, pharmacoepidemiological analysis, DDD analysis, DU90% analysis, consumption of antimicrobial drugs.

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 603950, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1. ПИМУ

## Введение

Внебольничная пневмония (ВП) занимает одно из лидирующих положений в структуре заболеваемости и смертности от инфекционных болезней в развитых странах, в том числе и в России [1–4]. Ведущее место в терапии ВП занимают антибиотики. Интерес представляет проведённое в нескольких стационарах Европы исследование, определяющее какому числу больных была назначена антимикробная терапия и по какому поводу. Оказалось, что в среднем 30% госпитализированных больных получали антибактериальный препарат, и чаще всего он назначался по поводу инфекций дыхательной системы [5]. Таким образом, затраты на антибиотики составляют значительную часть всех расходов на лекарственные препараты, закупаемые многопрофильным стационаром, поэтому оптимизация структуры ассортимента антибактериальных препаратов является важной задачей практического здравоохранения и клинической фармации.

Учёт закупок лекарственных средств (ЛС) является наиболее простым способом оценки их потребления. Однако такая оценка недостаточно стабильна для сравнения потребления лекарственных средств внутри или между учреждениями. Для оценки потребления может быть использовано суммирование количества граммов назначенных лекарственных средств. Методология ATC/DDD (Anatomical Therapeutic Chemical Classification, анатомо-терапевтическая и химическая классификация / Defined Daily Dose, установленная суточная доза) является международным стандартом при проведении исследований по потреблению ЛС. Полученные в ходе проведения исследования потребления ЛС данные необходимо учитывать при принятии управленческих решений в планировании терапии.

Цель работы — проведение DDD-анализа и DU90%-анализа антимикробной терапии ВП в условиях реальной клинической практики стационара Федерального центра в России.

## Материал и методы

Материалами для исследования послужили данные 48 историй болезни пациентов с ВП, госпитализированных в ФБУЗ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России г. Нижнего Новгорода в 2016 г. В исследование включены все пациенты, госпитализированные в стационар за анализируемый период. Терапия ВП осуществлялась в соответствии со стандартами лечения [6, 7].

Возраст пациентов составил от 22 до 84 лет ( $54,79 \pm 17,49$ ). Диагноз был подтвержден рентгенологическими исследованиями при поступлении.

Средняя степень тяжести ВП была диагностирована в 41,67% (20 пациентов), тяжёлая форма ВП — в 58,33% (28 пациентов) случаев. У 72,92% пациентов имелась сопутствующая патология, из них у 42,86% пациентов — острые или хронические заболевания дыхательной системы (острый брон-

хит, гайморит, синусит, хроническая обструктивная болезнь лёгких, бронхиальная астма).

Клиническая эффективность лечения оценивалась по данным историй болезни на основании оценки лечащего врача как выздоровление или улучшение.

На основании данных историй болезни стационарных больных с ВП был проведён ретроспективный анализ антимикробной терапии (АМТ).

При проведении ретроспективной фармакоэпидемиологической оценки использовался DDD-анализ и DU90%-анализ. DDD-анализ представляет количественные данные о потреблении ЛС в стационаре при ВП. В ходе исследования было определено количество установленных суточных доз (NDDD) за анализируемый период (квартал, год и т.д.), что является основным при проведении DDD-анализа.

Далее была проведена оценка количества установленных суточных доз ЛС на одного пациента в год (NDDD/1 пациент/год) (формула 1):

$$\text{NDDD/1 пациент в год} = \frac{\text{NDDD}}{N_{\text{пациентов}}} \quad (1);$$

и количества установленных суточных доз ЛП на 100 койко-дней (NDDD/100 койко-дней) (формула 2):

$$\text{NDDD/100 койко-дней} = \frac{\text{NDDD} \times 100}{\text{количество койко-дней}} \quad (2).$$

Информацию о величине DDD получали на специализированном сайте ВОЗ — WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology ([http://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index](http://www.whocc.no/atc_ddd_index))

## Результаты и обсуждение

Основное место в терапии больных с ВП занимают антимикробные лекарственные препараты (АМП). Антимикробная терапия (АМТ) у пациентов с ВП проводилась в 100% случаев.

Антимикробные лекарственные препараты (АМП) назначались эмпирическим путём с учётом вероятной этиологии и чувствительности предполагаемого возбудителя к данным препаратам, а также с учётом предшествующей АМТ.

Наибольшее количество назначений приходится на цефалоспорины III поколения и фторхинолоны. Также обращает внимание довольно частое назначение цефалоспоринов V поколения (14,04% в общей структуре назначений) (табл. 1), что связано с госпитализацией пациентов с неэффективностью предшествующей антибиотикотерапии (в том числе в условиях стационаров).

При средней тяжести ВП (20 человек) использовалась монотерапия АМП. В 3 случаях к стартовой терапии был добавлен дополнительный АМП: меропенем и левофлоксацин — при стартовой терапии цефтаролина фосамилом, азитромицин — при стартовой терапии эртапенемом.

**Таблица 1. Частота назначения лекарственных препаратов для антимикробной терапии**

| МНН                 | Частота назначения, абс. (%) |
|---------------------|------------------------------|
| Моксифлоксацин      | 2 (3,51)                     |
| Левофлоксацин       | 19 (33,33)                   |
| Меропенем           | 1 (1,75)                     |
| Азитромицин         | 1 (1,75)                     |
| Цефтаролина фосамил | 8 (14,04)                    |
| Эртапенем           | 4 (7,02)                     |
| Цефтриаксон         | 20 (35,09)                   |



Также в ходе исследования была проанализирована АМТ при тяжёлой ВП (28 пациентов). В качестве стартовой терапии была назначена монотерапия АМП в 89,3% случаев. Её эффективность составила 0,920. Замена схемы лечения имела место в двух случаях: при использовании левофлоксацина — на комбинацию моксифлоксацина и цефтриаксона; при использовании цефтаролина фосамил (развитие побочных эффектов) — на комбинацию левофлоксацина и цефтриаксона.

Далее проводили расчёт числа установленных суточных доз (NDDD) в расчётном периоде (формула 3) (табл.2):

$$\text{NDDD} = Q / \text{DDD}, (3)$$

где: Q — количество потребленного ЛС;  
Q=доза ЛС • число пациентов—дни.

Самое большое значение NDDD соответствует левофлоксацину, затем следует цефтриаксон (NDDD=108,5 г, что в 4,3 раза меньше, чем для левофлоксацина).

После определения NDDD рассчитывали показатели, характеризующие использование ЛП при данной нозологии в стационаре.

По формуле 1 определили количество установленных суточных доз ЛП на одного пациента в год (NDDD/1 пациент/год), что даёт представление о количестве дней лечения данным ЛС каждым пациентом ежегодно и используется для оценки потребления ЛС применяющихся короткими курсами (табл. 3).

Потребление левофлоксацина в стационаре в разы превышает потребление других АМП (в 4,3 раза — цефтриаксона и в 156 раз — азитромицина).

На следующем этапе исследования было определено количество установленных суточных доз ЛС на 100 койко-дней (NDDD/100 койко-дней) по формуле 2, что даёт представление о доле пациентов в стационаре, получающих определённый вид лечения (табл. 4).

В расчёте на 100 койко-дней в стационаре 69,67% пациентов получают терапию левофлоксацином, что в разы превышает долю пациентов, получающих терапию другими АМП.

На следующем этапе исследования был проведён анализ потребления антимикробных препаратов при ВП на основе их доли в общем числе установленных суточных доз (DU90%-анализ).

Рассчитанные NDDD/год для каждого АМП, использовавшегося в терапии ВП, ранжировали от большего к меньшему, а затем рассчитывали долю каждого ЛС в общем NDDD, который принимали за 100% всех использованных ЛС. Итогом стало формирование двух групп ЛС. В первую группу, DU90%, были включены ЛС, составляющие 90% потребляемых NDDD при ВП в анализируемом стационаре. Вторую группу составили ЛС с небольшим показателем NDDD, которые составили оставшиеся 10% всех NDDD (табл. 5).

**Таблица 2. NDDD АМП в терапии ВП в условиях стационара**

| ЛС                  | NDDD/год |
|---------------------|----------|
| Левофлоксацин       | 468,16   |
| Цефтриаксон         | 108,50   |
| Эртапенем           | 30,92    |
| Цефтаролина фосамил | 24,00    |
| Меропенем           | 15,00    |
| Моксифлоксацин      | 8,00     |
| Азитромицин         | 3,00     |

**Таблица 3. Количество установленных суточных доз ЛС на одного пациента в год (NDDD/1 пациент/год)**

| ЛС                  | NDDD/1 пациента/год |
|---------------------|---------------------|
| Левофлоксацин       | 9,75                |
| Цефтриаксон         | 2,26                |
| Эртапенем           | 0,64                |
| Цефтаролина фосамил | 0,50                |
| Меропенем           | 0,31                |
| Моксифлоксацин      | 0,17                |
| Азитромицин         | 0,06                |

**Таблица 4. Количество установленных суточных доз ЛС на 100 койко-дней (NDDD/100 койко-дней)**

| ЛС                  | NDDD/100 койко-дней |
|---------------------|---------------------|
| Левофлоксацин       | 69,67               |
| Цефтриаксон         | 16,15               |
| Эртапенем           | 4,60                |
| Цефтаролина фосамил | 3,57                |
| Меропенем           | 2,23                |
| Моксифлоксацин      | 1,19                |
| Азитромицин         | 0,45                |

**Таблица 5. Результаты DU90%-анализа АМТ ВП в условиях стационара**

| ЛП                  | NDDD/год | Доля ЛП | Суммарный % |
|---------------------|----------|---------|-------------|
| Левофлоксацин       | 468,16   | 71,19   |             |
| Цефтриаксон         | 108,50   | 16,50   | 87,69       |
| Эртапенем           | 30,92    | 4,70    | 92,40       |
| Цефтаролина фосамил | 24,00    | 3,65    | 96,05       |
| Меропенем           | 15,00    | 2,28    | 98,33       |
| Моксифлоксацин      | 8,00     | 1,22    | 99,54       |
| Азитромицин         | 3,00     | 0,46    | 100         |
| Σ                   | 657,58   | 100     |             |

В группу, составляющую 90% всех потребляемых NDDD антимикробных препаратов при ВП, вошли: левофлоксацин — 71,19%, цефтриаксон — 16,50%, эртапенем — 4,70%.

Эти ЛС составляют 75,44% в реальной структуре назначения. Сегмент DU10% составили ЛС, доля которых в реальной структуре назначений составила 24,56%.

Стоимость одной DDD в сегменте DU90% (6022,88 руб.) в 1,9 раза превышает таковую в сегменте DU10% (3166,73 руб.), что позволяет говорить о широком использовании дорогостоящих ЛС.

## Заключение

Проведён DDD-анализ и DU90%-анализ антимикробной терапии ВП в условиях стационара в реальной клинической практике за год. Были



определены NDDD/год для антимикробных препаратов, количество установленных суточных доз ЛП на 100 койко-дней (NDDD/100 койко-дней), установлена лекарственная нагрузка (г) на 1 пациента с ВП в год. Наибольшее количество потребления в стационаре при лечении ВП приходится на левофлоксацин: NDDD/год составила 468,16 г (69,67% пациентов получают терапию левофлоксацином). По результатам DU90%-анализа группу 90% всех потребляемых NDDD АМП при ВП составили левофлоксацин, цефтриаксон, эртапенем. Эти ЛС составляют 75,44% в реальной структуре назначения. В стационаре преимущественно использовались преимущественно дорогостоящие АМП (оригинальные лекарственные препараты и высококачественные генерики). Стоимость одной DDD в сегменте DU90% почти в 2 раза превышает стоимость DDD в сегменте DU10%.

Ранее нами было проведено исследование потребления АМП в стационаре государственного бюджетного учреждения здравоохранения. Стоимость одной DDD в сегменте DU10% более чем в четыре раза превышала таковую в сегменте

DU90%, что позволило утверждать о преимущественном использовании недорогих лекарственных препаратов [8]. Наибольшее количество назначений приходилось на цефтриаксон, особенно при тяжёлой степени ВП. Но клиническая эффективность цефтриаксона при терапии ВП средней степени тяжести составила лишь 36,0%, а при тяжёлой — 63,6% [9]. Таким образом, проведение фармакоэпидемиологических исследований, ставящих своей целью анализ потребления лекарственных средств, способно оптимизировать их структуру назначения и использования с позиций клинической эффективности и экономической составляющей. Внедрение в практику службы клинических фармакологов и организаторов здравоохранения DD- и DU90%-анализа приведёт к созданию возможности сопоставления результатов реальной клинической практики различных медицинских организаций и выбора наиболее оптимальных медицинских технологий.

**Конфликт интересов.** При выполнении данной работы у авторов отсутствовал конфликт интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Синопальников А.И., Козлов Р.С. Внебольничные инфекции дыхательных путей. Руководство для врачей. М.: Премьер МТ. Наш Город, 2007. — 352 с. / *Sinopal'nikov A.I., Kozlov R.S. Vnebol'nichnye infekcii dyhatel'nyh putej. Rukovodstvo dlya vrachej. M.: Prem'er MT. Nash Gorod, 2007. — 352 s. [in Russian]*
2. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. Пневмония. М.: МИА. 2006. — 464 с. / *Chuchalin A.G., Sinopal'nikov A.I., Strachunskij L.S. Pnevmoniya. M.: MIA, 2006; 464. [in Russian]*
3. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых. Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. М.: 2010. — 60 с. / *Chuchalin A.G., Sinopal'nikov A.I., Kozlov R.S., Tyurin I.E., Rachina S.A. Vnebol'nichnaya pnevmoniya u vzroslykh. Prakticheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike. M.: 2010; 60. [in Russian]*
4. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжёлой внебольничной пневмонии у взрослых. Под ред. А. Г. Чучалина, А. И. Синопальникова, Р. С. Козлова и др. Российское респираторное общество, МАКМАХ, 2014. — 82 с. / *Klinicheskie rekomendacii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike tyazhelej vnebol'nichnoj pnevmonii u vzroslykh. Pod red. A. G. Chuchalina, A. I. Sinopal'nikova, R. S. Kozlova i dr. Rossijskoe respiratornoe obshchestvo, MAKMAH, 2014; 82. [in Russian]*
5. Ansari F., Erntell M., Goossens H., Davey P. Clin Infect Dis 2009; 49 (10): 1496—1504. DOI: 10.1086/644617
6. Жукова О.В., Руина О.В., Кононова С.В., Кобышклина Т.М. Терапевтический архив. — 2017. № 8. — С. 17—21. DOI: 10.17116/terarkh201789817-21 / *Zhukova O.V., Ruina O.V., Kononova S.V., Konyshkina T.M. Terapevticheskij arhiv 2017; 8: 17—21. DOI: 10.17116/terarkh201789817-21. [in Russian]*
7. Жукова О.В., Руина О.В., Кузоватова Е.А., Кобышклина Т.М., Сухачева Н.Н., Петелина И.С. Медицинские технологии. Оценка и выбор. — 2016. — Т. 25. — № 3. — С. 89—95. / *Zhukova O.V., Ruina O.V., Kuzovatova E.A., Konyshkina T.M., Suhacheva N.N., Petelina I.S. Medicinskie tehnologii. Ocenka i vybor 2016; 25 (3): 89—95. [in Russian]*
8. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 декабря 2012 г. № 1658н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при пневмонии средней степени тяжести». / *Prikaz Ministerstva zdravooohraneniya Rossijskoj Federacii ot 29 dekabrya 2012 g. № 1658n «Ob utverzhdenii standartov specializirovannoj medicinskoj pomoshchi pri pnevmonii srednej stepeni tyazhesti». [in Russian]*
9. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 ноября 2012 г. № 741н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при пневмонии тяжёлой степени тяжести с осложнениями». / *Prikaz Ministerstva zdravooohraneniya Rossijskoj Federacii ot 9 noyabrya 2012 g. № 741n «Ob utverzhdenii standartov specializirovannoj medicinskoj pomoshchi pri pnevmonii tyazhyoloy stepeni tyazhesti s oslozhneniyami». [in Russian]*

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Жукова Ольга Вячеславовна* — к. ф. н., доцент кафедры управления и экономики фармации и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород

*Руина Ольга Владимировна* — к. м. н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород

*Кононова Светлана Владимировна* — д. ф. н., заведующий кафедрой управления и экономики фармации и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород

*Хазов Михаил Владимирович* — к. м. н., заместитель директора по медицинской части ФБУЗ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, Нижний Новгород

*Романов Сергей Владимирович* — к. м. н., директор ФБУЗ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, Нижний Новгород

# Возможные пути преодоления антибиотикорезистентности нозокомиальных патогенов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*

Н. Н. МАРКЕЛОВА<sup>1</sup>, Е. Ф. СЕМЕНОВА<sup>2</sup>

Городская клиническая больница № 64, Москва  
Пензенский государственный университет, Пенза

## Possible Ways to Overcome Antibiotic Resistance of Nosocomial Pathogens *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*

N. N. MARKELOVA<sup>1</sup>, E. F. SEMENOVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> City Clinical Hospital № 64, Moscow  
<sup>2</sup> Penza State University, Penza

Грамотрицательные бактерии *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* являются наиболее важными внутрибольничными патогенами в связи с быстрым ростом среди них множественной лекарственной устойчивости. Настоящий обзор содержит анализ публикаций, посвященных характеристике их структурных и физиологических особенностей как возбудителей нозокомиальных инфекций, а также взаимосвязи вирулентности и антибиотикорезистентности. Описаны новые способы и антибактериальные вещества, альтернативные антибиотикам, способствующие решению проблемы преодоления антибиотикорезистентности грамотрицательных бактерий.

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, внутрибольничные патогены, множественная лекарственная устойчивость, пути преодоления антибиотикорезистентности.

Gram-negative bacteria *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia* are the most important nosocomial pathogens due to rapid growth of multiple drug resistance among them. This review contains the analysis of articles on characteristics of structural and physiological features of these pathogens as pathogens of nosocomial infections and connections between virulence and antibiotic resistance. New approaches and antibacterial agents, alternative to antibiotics, which help solve the problem of overcoming antibiotic resistance of gram-negative bacteria are described.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, nosocomial pathogens, multidrug resistance, ways to overcome antibiotic resistance.

## Введение

В современном мире условно-патогенные грамотрицательные бактерии (УПГБ) всё чаще становятся возбудителями внутрибольничных инфекций (ВБИ), при этом скорость формирования у них антибиотикорезистентности резко увеличилась в последние годы и достигла пандемического масштаба. К ним в основном относятся представители обширного семейства Enterobacteriaceae и группы неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОВБ) [1, 2].

Специальной комиссией по изучению вопроса доступности антимикробных препаратов (ААТФ) Американского общества инфекционных болезней (IDSA) создан список приоритетных

возбудителей, в который вошли *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* как микроорганизмы с растущим уровнем невосприимчивости практически ко всем группам антибиотиков, так называемые «проблемные» бактерии. На их фоне происходит широкое распространение нового эмерджентного микроорганизма — *Stenotrophomonas maltophilia*, характеризующегося природной резистентностью ко многим антимикробным препаратам, успешно адаптировавшегося в среде, окружающей человека, который также как *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* был представлен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) одним из ведущих возбудителей оппортунистических инфекций [3, 4].

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61. ГКБ № 64

## Физиологический статус возбудителей и связь их патогенности с антибиотикорезистентностью

В современной таксономической классификации *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.maltophilia* относятся к различным семействам и родам, при этом характеризуются некоторыми сходными особенностями физиологии бактериальной клетки, обуславливающими проявления патогенности и антибиотикорезистентности.

*K.pneumoniae* характеризуется наличием факторов вирулентности, основными из которых являются капсульный полисахарид, адгезины, сидерофоры [5]. Полисахариды капсулы ингибируют дифференцировку и функциональную способность макрофагов, защищая бактерии от фагоцитоза и бактерицидных факторов сыворотки крови. В настоящее время среди капсульных (K) типов бактерии значительно распространены K1 и K2. Однако некоторые клоновые группы K1 и K2 резко превосходят другие по своей вирулентности, связанной с наличием плазмиды, несущей ген-регулятор экспрессии слизистого фенотипа (*gmpA*) и ген сидерофора (SP) аэробактина [6]. К таким штаммам относится гипервирулентный (*hypermucoviscous*) вариант *K.pneumoniae* (*hvKP*), который вызывает опасные для жизни инфекции у молодых, здоровых людей [7, 8]. Сидерофоры *K.pneumoniae*: энтеробактин и аэробактин обеспечивают микробные клетки железом ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Энтеробактин синтезируют почти все штаммы *K.pneumoniae*, при этом железо изолируется ими преимущественно из трансферрина. Источником железа для аэробактина являются клетки хозяина, и синтез этого сидерофора в большей степени связан с вирулентностью штаммов микроорганизма [9].

*K.pneumoniae* обладает пиями общего типа (или тип I), которые являются бактериальными адгезинами и могут выходить за пределы капсульной матрицы. Белок адгезии в этом типе пилей способен связываться с маннозосодержащими трисахаридами гликопротеинов, представленных в слизи и на поверхности эпителиальных клеток. Адгезия к поверхности является первым шагом в формировании биоплёнки, но адгезины также могут играть важную роль на последующих этапах её развития, например, содействуя межклеточным контактам. Практически у всех изолятов *K.pneumoniae* есть пили третьего типа, которые опосредуют связывание с коллагеном тканей организма и принимают участие в образовании биоплёнки, улучшая адгезию к абиотическим поверхностям [10].

Изменения в физиологических характеристиках госпитальных клонов, отражаются во взаимосвязи между вирулентностью и лекарственной устойчивостью. Антибиотикорезистентные изоляты

*K.pneumoniae*, не обладающие специфическими факторами вирулентности, подавляют врождённые защитные механизмы хозяина чрезмерными микробными нагрузками в процессе неконтролируемой пролиферации бактериальных клеток под влиянием неэффективной антибактериальной терапии [11]. Некоторые факторы вирулентности, такие как капсульные полисахариды K1, K2, K5, гены *gmpA* и аэробактин отсутствуют в изолятах бактерий, продуцирующих  $\beta$ -лактамазы с карбапенемазной активностью — КРС (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases) [12]. У *K.pneumoniae* описан ген *AmpR*, который действует как регулятор вирулентности. В присутствии бета-лактамов, активная форма *AmpR* может индуцировать экспрессию цефалоспоринызы *AmpC* и модулировать вирулентность, регулируя адаптацию бактерий к окружающей среде. В отсутствие цефокситина, клавулановой кислоты, имипенема ген *AmpC* репрессирован и связан с повышенной экспрессией вирулентности, которая выражается в синтезе капсулы, устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови, образованием биоплёнки, синтезом пилей [13].

Успешная колонизация и рост *P.aeruginosa* в изменённых условиях окружающей среды зависит от дифференциальной экспрессии генов, в связи с чем бактерия имеет большое количество регуляторных генов, участвующих в катаболизме, транспорте и оттоке органических соединений, системах хемотаксиса [14]. Патогенность *P.aeruginosa* связана с наличием ряда факторов вирулентности. Цитотоксическим действием, в том числе и в отношении макрофагов, а также способностью подавлять биосинтез белка обладают экзотоксин А и пиоцианин; нейраминидаза, отщепляя остатки сиаловых кислот от клеточных рецепторов, облегчает специфическую адгезию бактерии к клеткам хозяина [15].

Адаптивные способности *P.aeruginosa* в нозокомиальной среде связаны с доминированием антибиотикоустойчивых изолятов, характеризующихся отсутствием агрессивных вирулентных факторов, как например клоны ST-111, ST-175, ST-235, которые несут ответственность за внутрибольничные инфекции, вызванные множественно лекарственно устойчивыми штаммами *P.aeruginosa* по всему миру. Подобные клоны ассоциированы с нарушением продукции пиоцианина и пиовердина, имеют также дефекты подвижности. Предполагается, что последние невыгодны метаболически или с точки зрения активирования ими иммунной системы хозяина. Изменения в метаболизме способствуют ограничению доступа питательных веществ и кислорода к клеткам, что в полной мере поддерживается в биоплёнках, где бактерии склонны к медленному росту или существованию в стационарной фазе.

Таким образом, отсутствие пигмента, нивелирование подвижности, устойчивость к антибиотикам и формирование биоплёнки способствуют успешному выживанию и распространению адаптированной *P.aeruginosa* во внутрибольничных условиях [16].

Основные механизмы вирулентности *A.baumannii* включают: поглощение железа, присоединение к эпителиальным клеткам и образование биоплёнки. Наличие сидерофоров может обеспечить конкурентное преимущество для возбудителя по сравнению с другими микроорганизмами. Высокий уровень избыточной экспрессии нескольких систем приобретения железа имеет значение для выживания *A.baumannii* в железодефицитной среде, внося значительный вклад в патогенность этого вида [17, 18]. Генетические компоненты, необходимые для поглощения железа через сидерофор ацинетобактин, вовлечены в горизонтальный перенос генов, а также сложные хромосомные перестройки, что согласуется с патогенным потенциалом *A.baumannii* приобретения сторонних генов факторов вирулентности [19]. Микроорганизм взаимодействует с альвеолярными эпителиальными клетками человека опосредованно через белок наружной мембраны OmpA, который вызывает дисфункцию митохондрий, сопровождающуюся выходом цитохрома C и белка гема, что приводит к апоптозу клеток, также OmpA принимает участие в образовании биоплёнки [20]. Другие ключевые белки, способствующие вирулентности *A.baumannii*, включают фосфолипазы D и C, которые обуславливают устойчивость к сыворотке человека и усиление токсичности в отношении эпителиальных клеток соответственно. *A.baumannii* демонстрирует сродство к абиотическим поверхностям, что обусловлено наличием гена адгезии *csuE*, участвующего в образовании пилей и биоплёнок. Пили прикрепляются к абиотическим поверхностям, таким как стекло и полимерное оборудование, и инициируют формирование микроколоний, а затем полное развитие структур биоплёнки. Кроме того, *A.baumannii* может выживать в условиях высыхания гораздо лучше, чем большинство других *Acinetobacter* sp. [21].

Устойчивость к антибиотикам *A.baumannii* может зависеть от приобретения им генов резистентности через горизонтальный перенос. Многие клинические штаммы *A.baumannii* способны захватывать ДНК других бактерий, передвигаясь по влажной поверхности, при этом подвижность обеспечивается пилиями IV типа и зависит от доступности железа. Предположительно, генетические детерминанты, придающие устойчивость к антибактериальным препаратам, были приобретены от родственных видов бактерий, принадлежащих родам *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Escherichia* [22]. Также было обнаружено, что умеренные фа-

ги могут выступать в качестве векторов для горизонтального переноса генов, что ранее недооценивалось [23, 24].

Колонизируя биотопы пациента, *S.maltophilia* попадает в стрессовые условия, такие как высокая температура тела, иммунологический ответ, воздействие антибиотиков, в результате чего проявляет более высокую мутационную способность, чем изоляты *S.maltophilia* из окружающей среды, где бактерия приобретает гены резистентности, сохраняет их, и в изменённой больничной обстановке успешно экспрессирует [25–27]. Анализ клинических и экологических изолятов *S.maltophilia* выявил их геномную гетерогенность, обусловленную способностью как приобретать гены антибиотикоустойчивости от различных бактерий, в том числе грамположительных, так и передавать их представителям семейства *Enterobacteriaceae* и *P.aeruginosa*, и показал, что микроорганизм имеет черты, связанные с вирулентностью других видов бактерий [26].

Внеклеточные ферменты *S.maltophilia*: ДНКазы, желатиназа, гемолизины, липазы, протеиназы могут играть существенную роль в патогенезе инфекции. Фосфолипаза расщепляет фосфолипиды жирных кислот и участвует в разрушении клеточных мембран. *S.maltophilia* обладает пилиями: одни причастны к адгезии и образованию биоплёнки, в результате чего происходит колонизация биотических и абиотических поверхностей, другие — уклонению от иммунного ответа и лекарственной устойчивости. SMF-1-пили вызывают агглютинацию эритроцитов животных, они более выражены на поверхности бактериальной клетки при 37°C и проявляют идентичность с пилиями *P.aeruginosa*. Способствовать адгезии может и необычный положительный заряд клеточной поверхности *S.maltophilia*. Супернатанты штаммов *S.maltophilia* вызывают гибель клеток линий Нер-2, HeLa и Vero, а также округление и отделение фибробластов человека, изменяя актиновый цитоскелет. Гемолитическая активность *S.maltophilia* зависит от источника крови и может различаться в зависимости от фосфолипидов клеточных мембран эритроцитов [28–30]. Липополисахарид (ЛПС) микроба вносит свой вклад в антимикробную резистентность и вирулентность *S.maltophilia*: уменьшение производства ЛПС у мутантов увеличивает их восприимчивость к некоторым антимикробным агентам, и штаммы становятся полностью авирулентны в животной модели инфекции, легко погибая от факторов иммунной защиты хозяина [31]. Интегроны, гиперэкспрессия эффлюксных систем, формирование меланиноподобного пигмента, защищающего клетки от воздействия окружающей среды, и биоплёнки гораздо чаще встречаются у МЛУ изолятов *S.maltophilia*, чем у чувствительных к антибиотикам штам-



мов, что делает их своеобразными маркерами полирезистентности [32]. Избыточная экспрессия системы активного выведения SmeDEF придаёт устойчивость к антибиотикам, принадлежащим к различным группам, и сопряжена со снижением вирулентности *S.maltophilia*. В пределах интегров штаммы содержат генные кассеты, которые несут гены устойчивости к антибиотикам, четвертичным аммонийным соединениям и являются резервуаром детерминант лекарственной устойчивости в медицинских учреждениях [33].

### **Чувствительность к антибиотикам и основные механизмы резистентности**

Нарушение проницаемости наружной мембраны грамотрицательных бактерий является одним из важных механизмов устойчивости. Гидрофильные растворённые вещества, преимущественно проходят через заполненные водой каналы поринов, но существуют ограничения для притока различных органических молекул, особенно лекарственных средств. Упорядочение молекул воды в узких пориновых каналах в связи с наличием кислотных и основных аминокислотных остатков на противоположных сторонах стенки канала приводит к затруднённому проникновению через него липофильных молекул. Основным путём для них связан с прохождением через двухслойную липидную мембрану, наружный слой которой состоит целиком из липополисахаридов с очень низкой текучестью. Мутационная потеря основных поринов увеличивает устойчивость к гидрофильным антибиотикам, таким как  $\beta$ -лактамы, при этом питательные вещества, особенно при низких концентрациях, также не проникают в клетку [34, 35].

Эффлюкс имеет значение как физиологический способ детоксикации внутриклеточных метаболитов, реализации бактериальной вирулентности, межклеточной сигнализации и клеточного гомеостаза. Этот механизм не обеспечивает высокого уровня резистентности к антибиотикам, но увеличивает их минимальную подавляющую концентрацию (МПК), позволяя бактериям достичь значительной устойчивости в совокупности с другими механизмами. Системы активного выведения типа RND (resistance-nodulation-division) наиболее характерны для грамотрицательных бактерий и составляют комплекс из периплазматического белка, например, AcrA, канала наружной мембраны, и белка-насоса, например, AcrB, аналогичного тому, который осуществляет протонный антипорт в цитоплазматической мембране. Подобные эффлюксные системы обеспечивают устойчивость не только к антибиотикам, но и к антимикробным пептидам неспецифической им-

мунной системы человека, что может рассматриваться как новый фактор вирулентности бактерии [36]. Экспрессия генов хромосом, кодирующих RND, вносит значительный вклад в устойчивость грамотрицательных бактерий к веществам с антимикробной активностью, так как в процессе эффлюкса из клетки выводится широкий спектр субстратов, включающий антибиотики, красители, биоцидные вещества, детергенты и антисептики. Синергизм между эффлюксом и нарушенной проницаемостью наружной мембраны приводит к эффективной лекарственной устойчивости [37].

Способность к производству ферментов, разрушающих антибиотики, характерна для всех микроорганизмов, но некоторые ферментативные механизмы устойчивости, найденные у грамотрицательных бактерий, обеспечили им господствующее положение в клинических условиях, в том числе связанное с возможностями внутривидового и межвидового распространения детерминант резистентности через подвижные генетические элементы путём горизонтального переноса [38, 39].

Устойчивость грамотрицательных бактерий к бета-лактамам обеспечивается ферментами  $\beta$ -лактамазами. Расширенного спектра  $\beta$ -лактамазы — ESBL (extended-spectrum beta-lactamases), принадлежащие к классу A, описаны у семейств Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae и рода *Acinetobacter*, но наиболее часто встречаются у *K.pneumoniae*. Гены, кодирующие ESBL, обычно находятся на плазмидах вместе с генами, кодирующими устойчивость к аминогликозидам, триметоприм-сульфаметоксазолу, тетрациклину, хлорамфениколу. Большинство ESBL относятся к SHV или TEM типам, которые произошли от  $\beta$ -лактамаз узкого спектра [40]. Другие редкие виды ESBL включают типы VEB и PER, первые чаще обнаруживают у клинических штаммов *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, вторые встречаются у *P.aeruginosa* и *A.baumannii*. Они отличаются умеренным подавлением ингибиторов  $\beta$ -лактамаз и имипенема. Среди  $\beta$ -лактамаз класса A число ферментов с карбапенемазной активностью ограничено, наиболее широко из них распространены ферменты GES и KPC. Некоторые варианты GES, проявляют значительное карбапенемазное действие и все в большей степени обнаруживаются в грамотрицательных палочках, в частности у *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* [41—43]. Ферменты KPC расширили географию карбапенемоустойчивых *K.pneumoniae* благодаря клональному распространению [44].

AmpC  $\beta$ -лактамазы — индуцируемые цефалоспорины, закодированные в хромосомах многих видов бактерий; опосредуют устойчивость к пенициллинам, цефалоспорином и нечувствительны к ингибиторам  $\beta$ -лактамаз, но подавляются клоксациллином и азтреономом. В настоящее время бактерии, у которых отсутствуют хромосомные



AmpC, в том числе *K.pneumoniae*, *S.maltophilia*, являются носителями плазмид с приобретёнными генами AmpC. Эти плазмиды, часто несут множество других генов устойчивости: к аминогликозидам, хлорамфениколу, хинолонам, тетрациклинам, триметоприму, а также кодируют  $\beta$ -лактамазы, такие как TEM, CTX, SHV, VIM [45]. Ферменты типа OXA класса D гидролизуют цефалоспорины третьего и четвёртого поколения, азтреонам, карбапенемы и не ингибируются клавулановой кислотой и тазобактамом. Большинство OXA кодируются плазмидами и наиболее характерны для *A.baumannii* [46, 47]. Металло- $\beta$ -лактамазы (MBL) класса B обладают способностью гидролизовать все бета-лактамы, в том числе карбапенемы, за исключением монобактама — азтреонама, устойчивы к ингибиторам клавуланату и сульбактаму, восприимчивы к хелатирующим агентам; кодируются в основном плазмидами. В настоящее время присутствие MBL регистрируется у *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *K.pneumoniae* [48, 49].

Механизмы резистентности к аминогликозидам чаще связаны с ферментами, модифицирующими субстрат, которые прикрепляют фосфат, аденил или ацетил к молекулам антибиотиков, уменьшая их аффинность с 30S рибосомальной субъединицей. Другой механизм сопротивления аминогликозидам — метилирование 16S рРНК распространён среди грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae и группы неферментирующих бактерий, в том числе *P.aeruginosa* и *A.baumannii*. Гены метилаз расположены в транспозонах плазмид, обеспечивая горизонтальное распространение. Экзогенно приобретённые 16S рРНК метилтрансферазы (16S-RMT) ответственны за устойчивость к аминогликозидам очень высокого уровня. Производство метилаз 16S-RMT часто сопровождается продукцией карбапенемаз и ESBL [50, 51].

Формирование устойчивости к тигециклину часто наблюдается у *A.baumannii* и *K.pneumoniae*, особенно при лекарственной устойчивости штаммов. Системы эффлюкса RND-типа и другие могут быть факторами пониженной чувствительности к препарату. Например, эффлюксный комплекс AcrAB был определён в качестве основного механизма бактериальной резистентности к тигециклину у Enterobacteriaceae, способствующего внутренней устойчивости ко многим структурно различным липофильным соединениям, в том числе моющим средствам, красителям и антибиотикам без накопления в периплазме [52—54].

Полимиксин В и полимиксин Е (колистин) — пептидные антибиотики, которые всё чаще используются в качестве препаратов, сохранивших антибактериальную активность в отношении МЛУ *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *K.pneumoniae*. Тем не менее в последнее время было описано появле-

ние устойчивости к колистину. Существуют мутационные стабильные механизмы сопротивления и адаптивные, обратимые после удаления селективного давления. Главный из них — модификация липидного компонента внешней мембраны липополисахарида [55]. Мутации, меняющие функции внешней мембраны описаны у *K.pneumoniae* [56]. Для *P.aeruginosa* было зафиксировано стабильное увеличение производства наружного мембранного белка H1, оказывающего своё защитное действие при помощи двухвалентных катионов, которые препятствуют действию катионных антибиотиков [48]. Резистентность к колистину *A.baumannii* возникает через адаптацию ранее восприимчивых изолятов, часто во время лечения данным препаратом. Основной механизм связан с модификациями липополисахарида, вызванными мутациями или инсерциями в генах, кодирующих биосинтез липида, при этом снижается суммарный отрицательный заряд наружной мембраны, уменьшая сродство к колистину, или устраняется сама мишень для этого препарата [57—59].

## Пути преодоление антибиотикорезистентности

Распространение резистентных грамотрицательных бактерий и отсутствие новых соединений для лечения вызванных ими инфекций актуализирует поиск новых антимикробных веществ и новых терапевтических подходов в преодолении повышенной устойчивости микроорганизмов к антибиотикам [60].

**Комбинирование антибактериальных препаратов.** Синергетическое действие двух антибиотиков в комбинации считается выгодным, так как более эффективно подавляется рост микроорганизмов. С другой стороны, проявляется их способность быстрее сформировать резистентность к антибиотикам, способствуя выживанию резистентных форм. Комбинации антагонистических препаратов являются менее эффективными в отношении чувствительных патогенов, при этом селективное преимущество одного из препаратов может уменьшиться, в результате антагонистические пары антибиотиков также могут предотвратить МЛУ [61]. Описаны различные эффективные комбинации антибактериальных препаратов синергидного действия на колистиноустойчивые штаммы *A.baumannii*: имипинем—колистин, колистин—рифампицин и колистин—доксциклин [62]. Комбинация тигециклина с амикацином показала синергизм для изолятов *K.pneumoniae*, *S.maltophilia*, *A.baumannii*, а также с колистином против *K.pneumoniae* [63].

**Ингибирование мутаций.** Мутации, придающие устойчивость к антимикробным агентам, являются неизбежным следствием ошибок ДНК-полимеразы. Ингибирование белков бактерий, играю-

ших активную роль в мутациях собственных геномов, или подавление их дерепрессии может представлять собой принципиально новый подход в борьбе с развитием резистентности [64]. В сочетании с ошибками ДНК-полимераз у бактерий возможны повреждения ДНК, возникающие от регидратации, воздействия антибиотиков, химических окислителей, теплового шока, ультрафиолетового излучения, дезинфицирующих веществ, включения чужеродной ДНК в свой геном. В ответ на стресс ряд ферментов участвуют в гомологичной рекомбинации и в репарации повреждённой ДНК как, например, белок RecA, описанный у *A.baumannii*. Включение ингибиторов продукции этих ферментов в новые дезинфицирующие средства может препятствовать ответу бактериальных клеток на повреждения ДНК, подавляя индуцированный мутагенез и гомологичные рекомбинации в больничных условиях [65, 66].

**Химиосенсибилизация.** Химиосенсибилизаторы ослабляют различные механизмы устойчивости или усовершенствуют конструкцию молекулы антибиотика, чтобы уменьшить его восприимчивость к инаktivации бактериями. Была разработана новая группа антибактериальных молекул EPI (efflux pump inhibitor), которые блокируют экспрессию генов, отвечающих за активное выведение антибиотиков из клетки, и восстанавливают их нормальную внутриклеточную концентрацию, оказывают влияние на энергетические процессы активного транспорта, подавляя поток молекул внутри канала путём конкурентного выведения или его блокирования. Они могут действовать совместно с обычными антибиотиками, восстанавливая их активность [67]. Под влиянием EPI-вещества фенилаланин-аргинин- $\beta$ -нафтиламида (PA $\beta$ N) — конкурентного ингибитора антибактериальных препаратов подавлялась способность эффлюксной системы AdeFGH к выведению триметоприма, хлорамфеникола и клиндамицина из клетки бактерии, восстанавливалась восприимчивость к левофлоксацину у клинических штаммах *P.aeruginosa* [68, 69]. Несколько производных хинолина считаются EPI-веществами широкого спектра для *K.pneumoniae* и демонстрируют увеличение внутриклеточной концентрации норфлоксацина, хлорамфеникола, тетрациклина [70].

**Иммунизация.** В отношении чрезвычайно устойчивых штаммов хорошим средством обеспечения немедленного иммунитета против биологических агентов, является терапия на основе антител, чего может быть достаточно, чтобы снять острую инфекцию. Так, капсульный полисахарид K1 *A.baumannii* иммуногенен и является одним из факторов вирулентности. Антитела, направленные против K1, могут быть использованы в серотипспецифической терапии через пассивную иммунизацию [71].

**Бактериофагия.** Бактериофаги специфичны и не влияют на эукариотические клетки, индуцируют бактериолиз с помощью механизмов, отличных от антибиотиков. Бактериофаг *K.pneumoniae* NK-5 ( $\phi$ NK5), выделенный из сточных вод больницы, успешно использовали для лечения экспериментального абсцесса печени мышей, вызванной гипервирулентным штаммом *K.pneumoniae* [72]. Описаны случаи положительного исхода бактериемии у мышей, вызванной карбапенеморезистентным *P.aeruginosa* при использовании специфических вирулентных штаммов бактериофагов [73]. На поверхности *A.baumannii* представлено значительное количество бактериальных антигенов, которые определяют высокую специфичность фагов. Один из них — AB1 использовался в качестве нетоксичного антибактериального средства [74]. Возможно применение бактериофагов для обработки биоплёнок: поражая клетки на поверхности, фаги реплицируются, создавая высокую локальную концентрацию, постепенно разрушая биоплёнки; инфицируют клетки персистеры и остаются в них, пока они не станут метаболически активными, после чего уничтожают их. Ослабление или уничтожение матрицы биоплёнки фагами может способствовать проникновению антибиотиков, что увеличивает возможность их синергетической комбинации [75].

**Горизонтальная передача бактерицидных генов.** Эта антибактериальная терапевтическая технология с использованием донорских клеток аттенуированной *E.coli*, несущей бактерицидные гены в конъюгативной плазмиде, была успешно применена для лечения ожоговых ран мышей, инфицированных *A.baumannii*. Экспрессия генов в плазмиде *E.coli* подавлялась, но становилась дерепрессированной при их передаче реципиентным микроорганизмам путём конъюгации, в результате чего в бактериальных клетках *A.baumannii* нарушался белковый синтез, что приводило к их гибели [76].

**Использование антимикробных пептидов (АМР).** АМП — это разнообразная группа молекул, которые производятся многими тканями и типами клеток различных беспозвоночных, растений и животных. Большинство АМП являются небольшими, катионными и амфифильными и являются важным компонентом врождённой иммунной защиты (Host defense peptides — HDPS). Механизм действия АМР заключается в уничтожении бактерии путём формирования пор в клеточных мембранах, некоторые из пептидов ингибируют функции внутриклеточных биополимеров. Связываясь с анионными участками липополисахарида, поликатионы ослабляют межмолекулярные взаимодействия липополисахарида, разрушая мостики из двухвалентных катионов, делая его проницаемым для лекарственных средств. Потенциал АМР был оценен в отношении многих микроорганиз-

мов. Активность buforin II, secropin P1, magainin II отдельно и в сочетании с антибиотиками подтверждена на клинических изолятах *S.maltophilia*. Кроме того, наблюдался синергизм между пептидами и полимиксином Е, меропенемом, цефтазидимом, пиперациллином и кларитромицином [77, 78]. АМР ОН-САТН30 от королевской кобры показал синергетическое действие с ципрофлоксацином и левофлоксацином в отношении *P.aeruginosa* [79, 80]. Были разработаны генетически модифицированные ткани человека, производящие повышенные уровни кателицидина LL-37, и успешно применены на животных моделях с ранами, инфицированными антибиотикоустойчивым *A.baumannii*. Животные Wallaby вырабатывают кателицидин WAM1, эффективный против *Acinetobacter* sp., в 3–80 раз более мощный, чем LL-37 и не вызывающий гемолиз эритроцитов человека, в результате чего может рассматриваться как потенциал для парентерального применения [81]. По механизму действия к катионным пептидам близки хелаторы (ЭДТА, нитрилотриуксусная кислота, гексаметафосфат натрия), которые дезинтегрируют внешнюю мембрану путем удаления  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ , нарушая её целостность [82].

**Воздействие на плазмиды.** Уникальная стратегия исключения плазмид, несущих гены резистентности, из бактериальной клетки — ингибирование конъюгации при помощи некоторых веществ: дегидрокрепениновой, линолевой и линоленовой кислот [83]. В естественных условиях в дочерних бактериальных клетках, которые не унаследовали плазмиду, кодирующую систему бактериальный токсин-антитоксин (БТА), антитоксин разрушается клеточными протеазами и не реплицируется, освобождая скрытый токсин, который способен убить клетки, и, таким образом, уменьшить популяцию клеток, не содержащих плазмиды. Подавление репликации плазмиды и искусственная активация токсина в этой системе имеет потенциал новой антибактериальной стратегии, что и было продемонстрировано в отношении клинических изолятов *P.aeruginosa* [84, 85].

**Влияние на механизмы патогенности.** Показана возможность подавления протеаз *S.maltophilia*, способствующих вторжению в ткани и их разрушению. Такие вещества-ингибиторы не влияют на подобные ферменты хозяина, так как существует немного структурных взаимосвязей между прокариотическими и эукариотическими протеазами, несмотря на схожие механизмы действия, что и определяет разработку ингибиторов с требуемой специфичностью [86]. На примере *P.aeruginosa* было показано, что химический элемент галлий (Ga) может заменить во многих биологических системах железо (Fe) и ингибировать Fe-зависимые процессы, такие как синтез ферментов: рибонуклеотидредуктазы, супероксиддисмутазы,

каталазы, цитохромов, а также подавлять рост и образование биоплёнок [87].

**Нанотехнологии.** Неорганические вещества в виде наночастиц имеют перспективное направление в качестве антимикробных агентов. Наноразмерные материалы имеют большую площадь поверхности по отношению к объёму, что приводит к повышенной реактивности. Показана бактерицидная активность наночастиц серебра против МЛЮ штаммов *P.aeruginosa*, *A.baumannii* и способность препятствовать образованию биоплёнок [88]. Оксид азота (NO) является свободным радикалом, и проявляет антимикробную активность. С помощью нанотехнологий NO стабилизировали гидрогелями силана или кремния, превратив его в наночастицы с сухой матрицей. После воздействия влаги NO медленно высвобождается из них при относительно фиксированной концентрации. Активность таких наночастиц NO в качестве новых антибактериальных агентов против МЛЮ была продемонстрирована в отношении *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *K.pneumoniae* [89].

**Антимикробное действие эфирных масел.** В настоящее время эфирные масла всё чаще рассматриваются как альтернативные антимикробные вещества, которые могли бы конкурировать с антибактериальными препаратами или дополнять их [90]. Наружная мембрана грамотрицательных бактерий состоит в основном из молекул липополисахарида, который обуславливает отрицательный заряд, и образует гидрофильный барьер проницаемости, обеспечивающий защиту от воздействия гидрофобных веществ [91]. В отличие от многих антибиотиков, гидрофобные компоненты эфирных масел способны получить доступ к периплазме грамотрицательных бактерий через пориновые белки их наружной мембраны [92, 93]. Механизмы антибактериального действия полностью не изучены, но было показано, что терпены — основные компоненты эфирных масел, накапливаются в липидной части клеточной мембраны, повреждая её. В результате увеличивается проницаемость мембраны для протонов и ионов, приводящая к нарушению протонной движущей силы и изменению внутриклеточного pH гомеостаза; в ряде случаев изменяется и структура белков, встроенных в мембрану [94]. Потенциал использования эфирных масел показан не только в нетоксических концентрациях от 0,05 мкл/мл до 0,5 мкл/мл, но и более высоких  $\geq 3,125$  мкл/мл. Описаны клинические изоляты *S.maltophilia*, устойчивые к фосфомицину, имипенему, пиперациллину и азтреонаму, при этом проявляющие чувствительность к эфирным маслам корицы, тмина, гвоздики, тимьяна [95, 96].

## Заключение

Проведённый анализ научной литературы свидетельствует о том, что грамотрицательные



бактерии *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.maltophilia* получили широкое распространение во внутрибольничной среде из-за легко формируемой у них устойчивости к антибиотикам, связанной с особенностями строения и физиологии бактериальной клетки. В то же время антибиотикорезистентность зачастую сопровождается снижением метаболической активности и как следствие — вирулентности, а реализа-

ция патогенного потенциала связана с чрезмерной микробной нагрузкой в очагах поражения из-за неэффективной антибактериальной терапии. Очевидно, что новые способы борьбы с антибиотикорезистентностью и антибактериальные вещества, альтернативные антибиотикам, могут внести свой вклад в преодоление множественной лекарственной устойчивости грамотрицательных бактерий.

## ЛИТЕРАТУРА

- Walsh T. R., Toleman M. A. The emergence of pan-resistant Gram-negative pathogens merits a rapid global political response. *J. Antimicrob Chemother* 2012; 67 (1): 1–3.
- Livermore D. M. Current epidemiology and growing resistance of gram negative pathogens. *Korean J of Internal Med* 2012; 27 (2):128–142.
- Talbot G. H., Bradley J., Edwards J. E., Gilbert D., Scheld M., Bartlett J. G. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2006; 4 (5): 657–668.
- World Health Organization (WHO) Drug resistance Available at URL: [http://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/en/](http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/) 2011.
- Martínez J., Martínez L., Rosenblueth M., Silva J., Martínez-Romero E. How are gene sequences analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. *J Intern Microb* 2010; 7 (4): 261–268.
- Lery L. M., Frangeul L., Tomas A., Passet V., Almeida A. S., Bialek-Davenet S. et al. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* genomes identifies a phospholipase D family protein as a novel virulence factor. *BMC Biology* 2014; 12 (1): 1–15.
- Lee H. C., Chuang Y. C., Yu W. L., Lee N. Y., Chang C. M., Ko N. Y. et al. Clinical implications of hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia. *J Intern Med* 2006; 259 (6): 606–614.
- Russo T. A., Olson R., MacDonald U., Metzger D., Maltese L. M., Drake E. J. et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Immun* 2014; 82 (6): 2356–2367.
- Hazen T. H., Zhao L., Sahl J. W., Robinson G., Harris A. D., Rasko D. A. et al. Characterization of *Klebsiella* sp. strain 10982, a colonizer of humans that contains novel antibiotic resistance alleles and exhibits genetic similarities to plant and clinical *Klebsiella* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58 (4): 1879–1888.
- Schroll C., Barken K. B., Krogfelt K. A., Struve C. Role of type I and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiol* 2010; 10 (1): 179: 1–110.
- Tzouveleakis L. S., Miriagou V., Kotsakis S. D., Spyridopoulou K., Athanasiou E., Karagouni E. et al. KPC-producing multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 as a typical opportunistic pathogen. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (10): 5144–5146.
- Lavigne J. P., Cuzon G., Combescurre C., Bourg G., Sotto A., Nordmann P. Virulence of *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring bla KPC-2 carbapenemase gene in a *Caenorhabditis elegans* model. *PLoS One* 2013; 8 (7): e67847: 1–7.
- Hennequin C., Robin F., Cabrollet N., Bonnet R., Forestier C. Characterization of a DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strain involved in an outbreak and role of the AmpR regulator in virulence. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56 (1): 288–294.
- Stover C. K., Pham X. Q., Erwin A. L., Mizoguchi S. D., Warrenner P., Hickey M. J. et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen *Nature* 2000; 406: 959–964.
- Лабинская А. С. Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика М.: БИНОМ; 2013. — Т. III. — С. 316–317. / Labinskaya, A. S. Rukovodstvo po meditsinskoi mikrobiologii. Opportunisticheskie infektsii: vzbuditeli i etiologicheskaya diagnostika M.: BINOM; 2013; III: 316–317. [in Russian]
- Walters M. C., Roe F., Bugnicourt A., Franklin M. J., Stewart P. S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47 (1): 317–323.
- Eijkelkamp B. A., Hassan K. A., Paulsen I. T., Brown M. H. Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions. *BMC genomics* 2011; 129 (1): 126.
- Peleg A. Y., Seifert H., Paterson D. L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen *Clin Microbiol Rev* 2008; 21 (3): 538–582.
- Penwell W. F., Arivett B. A., Actis L. A. The *Acinetobacter baumannii* entA gene located outside the acinetobactin cluster is critical for siderophore production, iron acquisition and virulence. *PLoS one* 2012; 7 (5): e36493: 1–12.
- Gaddy J. A., Arivett B. A., McConnell M. J., Lopez-Rojas R., Pachón J., Actis L. A. Role of acinetobactin-mediated iron acquisition functions in the interaction of *Acinetobacter baumannii* strain ATCC 19606T with human lung epithelial cells, *Galleria mellonella* caterpillars, and mice. *Infect Immun* 2012; 80 (3): 1015–1024.
- Sahl J. W., Gillece J. D., Schupp J. M., Waddell V. G., Driebe E. M., Engelthaler D. M. et al. Evolution of a pathogen: a comparative genomics analysis identifies a genetic pathway to pathogenesis in *Acinetobacter*. *PLoS One* 2013; 8 (1): e54287: 1–10.
- Wilhelm G., Piesker J., Laue M., Skiebe E. DNA uptake by the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii* occurs during movement along wet surfaces. *J Bacteriol* 2013; 195 (18): 4146–4153.
- Bonnin R. A., Rotimi V. O., Hubail M., Gasiorowski E., Sweih, N., Nordmann P. et al. Wide Dissemination of GES-Type Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii* Isolates in Kuwait. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (1): 183–188.
- Mulvey M. R., Simor A. E. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? *Canadian Med Assoc J* 2009; 180 (4): 408–415.
- Adjidé C. C., De Meyer A., Weyer M., Obin O., Lamory F., Lesueur C. et al. A sensitive, specific and predictive isolation medium developed for *Stenotrophomonas maltophilia* study in healthcare settings. *Pathologie-biologie* 2010; 58 (1): 11–17.
- Denton M., Hall M. J., Todd N. J., Kerr K. G., Littlewood J. M. Improved isolation of *Stenotrophomonas maltophilia* from the sputa of patients with cystic fibrosis using a selective medium. *Clin Microb Infect* 2000; 6 (7): 395–396.
- Moore J. E., Xu J., Millar B. C., Courtney J., Elborn J. S. Development of a Gram-negative selective agar (GNSA) for the detection of Gram-negative microflora in sputa in patients with cystic fibrosis. *J Appl Microbiology* 2003; 95 (1): 160–166.
- Karaba S. M., White R. C., Cianciotto N. P. *Stenotrophomonas maltophilia* encodes a type II protein secretion system that promotes detrimental effects on lung epithelial cells. *Infect Immun* 2013; 81 (9): 3210–3219.
- Ryan R. P., Monchy S., Cardinale M., Taghavi S., Crossman L., Avison M. et al. The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7 (7): 514–525.
- Turrientes M. C., Baquero M. R., Sánchez M. B., Valdezate S., Escudero E., Berg G. et al. Polymorphic mutation frequencies of clinical and environmental *Stenotrophomonas maltophilia* populations. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76 (6): 1746–1758.
- Travassos L. H., Pinheiro M. N., Coelho F. S., Sampaio J. L. M., Merquior V. L. C., Marques E. A. Phenotypic properties, drug susceptibility and genetic relatedness of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains from seven hospitals in Rio de Janeiro, Brazil *J Appl Microbiol* 2004; 96 (5): 1143–1150.
- Oliveira-Garcia D., Dall'Agnol M., Rosales M., Azuz A. C., Alcántara N., Martínez M. B. et al. Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces *Cell Microbiol* 2003; 5 (9): 625–636.
- Jucker B. A., Harms H., Zehnder A. J. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *J Bacteriol* 1996; 178 (18): 5472–5479.
- Prashanth K., Badrinath S. Simplified phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* spp. and their antimicrobial susceptibility status. *J Med Microbiol* 2000; 49 (9): 773–778.
- Roca I., Espinal P., Martí S., Vila J. First identification and characterization of an AdeABC-like efflux pump in *Acinetobacter genomospecies* 13TU. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (3): 1285–1286.
- Denton M., Kerr K. G. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11 (1): 57–80.
- Anderson S. W., Stapp J. R., Burns J. L., Qin X. Characterization of small-colony-variant *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from the

- sputum specimens of five patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (2): 529–535.
38. Nikaido H., Pagès J. M. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2012; 36 (2): 340–363.
  39. Souli M., Galani I., Giamarellou H. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. *Euro Surveill* 2008; 13 (47): 584–594.
  40. Bradford P. A. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14 (4): 933–951.
  41. Bonnin R. A., Nordmann P., Potron A., Lecuyer H., Zahar J. R., Poirel L. Carbapenem-hydrolyzing GES-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (1): 349–354.
  42. Miriagou V., Cornaglia G., Edelstein M., Galani I., Giske C. G., Gniadkowski M. et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microb Infect* 2010; 16 (2): 112–122.
  43. Poirel L., Bonnin R. A., Nordmann P. Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Gram-negative rods. *Infect Genet Evol* 2012; 12 (5): 883–893.
  44. Adler A., Paikin S., Sterlin Y., Glick J., Edgar R., Aronov R. et al. A sword-less knight: epidemiology and molecular characteristics of the blaKPC-negative sequence type 258 *Klebsiella pneumoniae* clone. *J Clin Microbiol* 2012; 50 (10): 3180–3185.
  45. Jacoby G. A. AmpC  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22 (1): 161–182.
  46. Girlich D., Damaceno Q. S., Oliveira A. C., Nordmann P. OXA-253, a Variant of the Carbapenem-Hydrolyzing Class D  $\beta$ -Lactamase OXA-143 in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58 (5): 2976–2978.
  47. Jacoby G. A., Munoz-Price L. S. The new  $\beta$ -lactamases. *New England J Med* 2005; 352 (4): 380–391.
  48. Bonomo R. A., Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006; 43: Suppl 2: 49–56.
  49. Walsh T. R., Toleman M. A., Poirel L., Nordmann P. Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18 (2): 306–325.
  50. Vakulenko S. B., Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16 (3): 430–450.
  51. Wachino J., Arakawa Y. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: an update. *Drug Resist Updates* 2012; 15 (3): 133–148.
  52. Rumbo C., Gato E., López M., de Alegría C. R., Fernández-Cuenca F., Martínez-Martínez L. et al. Contribution of efflux pumps, porins, and  $\beta$ -lactamases to multidrug resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (11): 5247–5257.
  53. Sun Y., Cai Y., Liu X., Bai N., Liang B., Wang R. The emergence of clinical resistance to tigecycline. *Intern J Antimicrob Agents* 2013; 41 (2): 110–116.
  54. Visalli M. A., Murphy E., Projan S. J., Bradford P. A. AcrAB multidrug efflux pump is associated with reduced levels of susceptibility to tigecycline (GAR-936) in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47 (2): 665–669.
  55. Landman D., Georgescu C., Martin D. A., Quale J. Polymyxins revisited. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21 (3): 449–465.
  56. Antoniadou A., Kontopidou F., Poulakou G., Koratzanis E., Galani I., Papadomichelakis E. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59 (4): 786–790.
  57. Adams M. D., Nickel G. C., Bajaksouzian S., Lavender H., Murthy A. R., Jacobs M. R., Bonomo R. A. Resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii* associated with mutations in the PmrAB two-component system. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53 (9): 3628–3634.
  58. Hood M. I., Becker K. W., Roux C. M., Dunman P. M., Skaar E. P. Genetic determinants of intrinsic colistin tolerance in *Acinetobacter baumannii*. *Infect Immun* 2013; 81 (2): 542–551.
  59. Perez F., Hujer A. M., Hujer K. M., Decker B. K., Rather P. N., Bonomo R. A. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51 (10): 3471–3484.
  60. Nikaido H., Pagès J. M. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2012; 36 (2): 340–363.
  61. Torella J. P., Chait R., Kishony R. Optimal Drug Synergy in Antimicrobial Treatments. *PLoS Comput Biol* 2010; 6 (6): 130–140.
  62. Miyasaki Y., Morgan M. A., Chan R. C., Nichols W. S., Hujer K. M., Bonomo R. A. et al. *In vitro* activity of antibiotic combinations against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* and the effects of their antibiotic resistance determinants. *FEMS Microbiol Lett* 2012; 328 (1): 26–31.
  63. Entenza J. M., Moreillon P. Tigecycline in combination with other antimicrobials: a review of *in vitro*, animal and case report studies. *Intern J Antimicrob Agents* 2009; 34 (1): 8–19.
  64. Cirz R. T., Chin J. K., Andes D. R., de Crécy-Lagard V., Craig W. A., Romesberg F. E. Inhibition of mutation and combating the evolution of antibiotic resistance. *PLoS biology* 2005; 3 (6): 1024–1033.
  65. Aranda J., Bardina C., Beceiro A., Rumbo S., Cabral M. P., Barbé J. et al. *Acinetobacter baumannii* RecA protein in repair of DNA damage, antimicrobial resistance, general stress response, and virulence. *J Bacteriol* 2011; 193 (15): 3740–3747.
  66. Norton M. D., Spilka A. J., Godoy V. G. Antibiotic resistance acquired through a DNA damage-inducible response in *Acinetobacter baumannii*. *J. Bacteriol* 2013; 195 (6): 1335–1345.
  67. Alibert-Franco S., Mahamoud A., Bolla J. M., Davin-Regli A., Chevalier J., Garnotel E. Efflux pumps of gram-negative bacteria, a new target for new molecules. *Current Topics Med Chem* 2010; 10 (18): 1848–1857.
  68. Cortez-Cordova J., Kumar A. Activity of the efflux pump inhibitor phenylalanine-arginine  $\beta$ -naphthylamide against the AdeFGH pump of *Acinetobacter baumannii*. *Intern J Antimicrob Agents* 2011; 37 (5): 420–424.
  69. Mahamoud A., Chevalier J., Alibert-Franco S., Kern W. V., Pagès J. M. Antibiotic efflux pumps in Gram-negative bacteria: the inhibitor response strategy. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59 (6): 1223–1229.
  70. Chevalier J., Bredin J., Mahamoud A., Mallaë M., Barbe J., Pagès J. M. Inhibitors of antibiotic efflux in resistant *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48 (3): 1043–1046.
  71. Russo T. A., Beanan J. M., Olson R., MacDonald U., Cox A. D., Michael F. S. et al. The K1 capsular polysaccharide from *Acinetobacter baumannii* is a potential therapeutic target via passive immunization. *Infect Immun* 2013; 81 (3): 915–922.
  72. Hung C. H., Kuo C. F., Wang C. H., Wu C. M., Tsao N. Experimental phage therapy in treating *Klebsiella pneumoniae*-mediated liver abscesses and bacteremia in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (4): 1358–1365.
  73. Wang J., Hu B., Xu M., Yan Q., Liu S., Zhu X. et al. Use of bacteriophage in the treatment of experimental animal bacteremia from imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Intern J Molecul Med* 2006; 17 (2): 309–317.
  74. Yang H., Liang L., Lin S., Jia S. Isolation and characterization of a virulent bacteriophage AB1 of *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiol* 2010; 10 (1): 131.
  75. Harper D. R., Enright M. C. Bacteriophages for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *J Appl Microbiol* 2011; 111 (1): 1–7.
  76. Shankar R., He L. K., Szilagyi A., Muthu K., Gamelli R. L., Filutowicz M. et al. A novel antibacterial gene transfer treatment for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*-induced burn sepsis. *J Burn Care & Research* 2007; 28 (1): 6–12.
  77. Brogden K. A. Antimicrobial peptides: pore former or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 2005; 3 (3): 238–250.
  78. Giacometti A., Cirioni O., Del Prete M. S., Barchiesi F., Fortuna M., Drenaggi D. et al. *In vitro* activities of membrane-active peptides alone and in combination with clinically used antimicrobial agents against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44 (6): 1716–1719.
  79. Li X., Zhang L., McKay G. A., Poole K. Role of the acetyltransferase AAC (6)-Iz modifying enzyme in aminoglycoside resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 (4): 803–811.
  80. Pucci M. J., Bush K. Investigational antimicrobial agents of 2013. *Clin. Microbiol Rev* 2013; 26 (4): 792–821.
  81. Thomas-Virnic G. L., Centanni J. M., Johnston C. E., He L. K., Schlosser S. J., Van Winkle K. F. et al. Inhibition of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* by nonviral expression of hCAP-18 in a bio-engineered human skin tissue. *Molec Ther* 2009; 17 (3): 562–569.
  82. Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev* 1992; 56 (3): 395–411.
  83. DeNap J. C. B., Hergenrother P. J. Bacterial death comes full circle: targeting plasmid replication in drug-resistant bacteria. *Org Biomolec Chem* 2005; 3 (6): 959–966.
  84. Baquero F., Coque T. M., de la Cruz F. Ecology and evolution as targets. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (8): 3649–3660.
  85. Williams J. J., Hergenrother P. J. Artificial activation of toxin-antitoxin systems as an antibacterial strategy. *Trends Microbiol* 2012; 20 (6): 291–298.
  86. Windhorst S., Frank E., Georgieva D. N., Genov N., Buck F., Borowski P. et al. The Major Extracellular Protease of the Nosocomial Pathogen



*Stenotrophomonas maltophilia* Characterization of the protein and molecular cloning of the gene. J Biol Chem 2002; 277 (13): 11042–11049.

87. Kaneko Y., Thoendel M., Olakanmi O., Britigan B. E., Singh P. K. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. J Clin Invest 2007; 117 (4): 877–888.
88. Rai M. K., Deshmukh S. D., Ingle A. P., Gade A. K. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. J Appl Microbiol 2012; 112 (5): 841–852.
89. Schairer D. O., Chouake J. S., Nosanchuk J. D., Friedman A. J. The potential of nitric oxide releasing therapies as antimicrobial agents. Virulence 2012; 3 (3): 271–279.
90. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. Food Chemical Toxicol 2008; 46 (2): 446–475.
91. May J., Chan C. H., King A., Williams L., French G. L. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. J. Antimicrob Chemother 2000; 45 (5): 639–643.
92. Sikkema J., De Bont J. A., Poolman B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol Rev 1995; 59 (2): 201–222.
93. Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M. G., Venuti V., Cristani M., Daniele C. et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49 (6): 2474–2478.
94. Choi H. W., Lee B. G., Kim N. H., Park Y., Lim C. W., Song H. K. et al. A role for a menthone reductase in resistance against microbial pathogens in plants. Plant physiol 2008; 148 (1): 383–401.
95. Brooke J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. Clin Microbiol Rev 2012; 25 (1): 2–41.
96. Giamarellou H. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long. Intern J. Antimicrob Agents 2010; 36: 50–54.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Маркелова Наталья Николаевна — к. б. н., Отделение лабораторной диагностики ГБУ «Городская клиническая больница № 64 Департамента здравоохранения города Москвы» Москва

Семенова Елена Федоровна — к. б. н., старший научный сотрудник, профессор, кафедра «Общая и клиническая фармакология», Медицинский институт, ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», Пенза

# Исторические «видения» Антони Левенгука

Л. И. ДВОРЕЦКИЙ

Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва

## Historical «Visions» of Antonie van Leeuwenhoek

L. I. DVORETSKIY

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Статья посвящена голландскому исследователю Антони Левенгуку, который почти 350 лет назад впервые увидел с помощью сконструированного им микроскопа микроорганизмы в воде с кусочком корня хрена. Приводятся сведения об истории микроскопирования и о роли Левенгука, впервые увидевшего, наряду с микроорганизмами, эритроциты, сперматозоиды, волокна поперечно-полосатых мышц. Обсуждается творческое содружество между Левенгуком и художником Яном Вермеером. Наиболее вероятной причиной сближения исследователя с художником мог стать общий интерес к оптическим устройствам, в частности к оптическим эффектам с позиции исследователя-микроскописта и живописца, использовавшего в своей живописной технологии систему линз (камеру обскуру), изготовленных Левенгуком.

**Ключевые слова:** Антони Левенгук, Вермеер, микроскоп, микроорганизмы.

The article is devoted to the Dutch researcher Antonie van Leeuwenhoek, who for the first time almost 350 years ago saw microorganisms in water with a piece of horseradish root in it with the help of a microscope designed by him. It provides information about the history of microscopy and the role of Leeuwenhoek, who was the first to see erythrocytes, spermatozoa, and striated muscle fibers along with microorganisms. The article also discusses creative collaboration between Leeuwenhoek and artist Jan Vermeer. The most likely reason for the close relationship between the researcher and the artist could be the general interest in optical devices, in particular optical effects from the perspective of a microscopist and a painter who used Leeuwenhoek's lens system (camera obscura) in his pictorial technology.

**Keywords:** Antonie van Leeuwenhoek, Vermeer, microscope, microorganisms.

Апрель 1673 г. стал особенным для последующего развития медицины, понимания причин многих заболеваний и разработки способов их этиотропной терапии. В этот весенний день 40-летний торговец мануфактурой голландского города Дельфта, Антонин Левенгук (рис. 1), сидящий за сконструированным им самим микроскопом увидел в нём нечто необычное.

Ещё в молодости Левенгук научился изготавливать специально отшлифованные увеличительные стекла, увлекся этим искусством и достиг в нём высочайшего совершенства. В те времена самые сильные линзы увеличивали изображение не более, чем в двадцать раз. Увеличительные стекла («линзочки») Левенгука, величиной не больше крупной горошины, обладали способностью увеличивать предметы в несколько сотен раз. Сложной многолинзовой системе, включающей объектив и окуляр, исследователь предпочитал простые однолинзовые микроскопы, то есть лупы



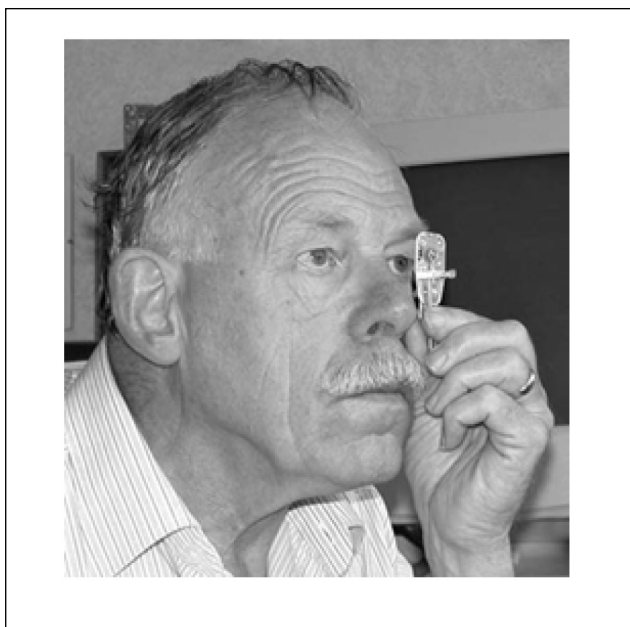
Рис. 1. Ян Верколье. Портрет Антони Левенгука. Рикс-музей. Амстердам.

© Л. И. Дворецкий, 2018

Адрес для корреспонденции: 115446, г. Москва, Коломенский проезд, д. 4. ГКБ им. С. С. Юдина



**Рис. 2.** «Чудо-микроскоп» А. Левенгука



**Рис. 3.** Взгляд в микроскоп Левенгука

разных конструкций. Каждый «микроскоп» Левенгука состоял всего из одной линзы, но из таких, которые давали большее увеличение и меньшее искажение изображения, чем сложные микроскопы того времени. Изготовленные линзы Левенгук вставлял в металлические держатели с прикреплённой к ним иглой для насаживания объекта наблюдения. Однако пользоваться ими было трудно, поскольку крохотное стеклышко в оправе на длинной ручке приходилось прикладывать вплотную к глазу (рис. 2, 3).

Один из исследователей микроскопии остроумно писал по поводу использования такого микроскопа (Д. С. Рождественский, 1936): «Вы можете себе представить ужасное неудобство этих мельчайших линзочек. Объект вплотную к линзе, линза вплотную к глазу, носа девать некуда».

Несмотря на это, замечательные линзы Левенгука оказались окном в новый мир, а его наблюдения были поразительно точными для того времени. После смерти Левенгука в его рабочем кабинете, который он называл музеем, была обнаружена целая коллекция: 172 линзы и 273 микроскопа.

История микроскопирования восходит ещё к средневековью. Имеются данные, что первое микроскопирующее устройство было создано в той же Голландии в 1590 г. братьями Хансом и Захарием Янсенами, о которых, к сожалению, имеется очень мало информации. В 1665 г. английский естествоиспытатель Роберт Гук сконструировал новый микроскоп, позволивший ему увидеть растительную клетку. Тогда же им впервые было введено понятие «клетка». Именно после прочтения труда Р. Гука «Микрография» у Левенгука возник

интерес к изучению окружающей природы с помощью линз. Здесь уместно напомнить, что фамилия Левенгук является псевдонимом, который был взят родившимся 24 октября 1632 г. в Дельфте человеком, по фамилии Тонисзон. В переводе с голландского, Левенгук (Leeuwenhoek) означает «Львиный уголок» (по названию соседних с его родным домом Львиных ворот). Символично, что в приобретённом псевдониме есть некоторое созвучие с фамилией британца Роберта Гука (Hooke), чья книга подтолкнула Левенгука к главному делу его жизни — созданию и совершенствованию микроскопии.

Долгое время считалось, что Левенгук изготавливал свои линзы путём филигранной шлифовки, которая, с учётом их крошечных размеров, представляла собой необычайно трудоёмкое занятие, требовавшее огромной точности. После Левенгука никому не удавалось изготовить аналогичные по устройству приборы такого же качества изображения. Однако в конце 1970 годов в Новосибирском медицинском институте был апробирован метод изготовления линз не шлифовкой, а путём оплавления тонкой стеклянной нити до образования стеклянного шарика с последующей шлифовкой и полировкой одной из его сторон (плоско-выпуклая линза). Получающийся стеклянный шарик прекрасно работает как собирательная линза. [1]. Такой метод позволил изготавливать линзы, вполне удовлетворяющие всем необходимым критериям, и даже полностью воссоздать микроскоп системы Левенгука, хотя экспертиза оригинальных микроскопов голландца с целью подтвердить или опровергнуть эту гипотезу так и не была проведена.

Постоянно совершенствуя свой «микроскоп», Левенгук проводил долгое время за рассмотрением различных объектов и ему удалось увидеть много того, что позволило раскрыть удивительные тайны строения и функций человека и животных.

А. Левенгук первым увидел движение крови в мельчайших кровеносных сосудах (капиллярах) и понял, что кровь представляет собой не однородную жидкость, как думали его современники, а является живой средой, в которой движется множество мельчайших телец. Одними из этих телец, увиденных голландцем, оказались красные кровяные тельца, названные в последующем эритроцитами. Следует отметить, что эритроциты видел и итальянец Марчелло Мальпиги (1628—1694), который, однако, принял их за жировые капли. Не менее важно и другое открытие Левенгука, увиденного в семенной жидкости маленькие клетки с хвостиками, которые, как оказалось, внедряясь в яйцеклетку, дают начало зарождению нового организма. Так, в 1677 г. взору голландца явились сперматозоиды. И хотя формально открытие сперматозоидов принадлежит его другу, студенту-медику Иоганну Гаму, Левенгук первым детально рассмотрел, зарисовал и описал сперматозоиды человека, а вскоре и многих животных. Правда, он утверждал, что сформированный зародыш уже содержится в сперматозоиде и ему лишь предстоит увеличиваться в размерах, получая питание от яйцеклетки. Роль сперматозоидов в оплодотворении была доказана итальянским естествоиспытателем Ладзаро Спалланцани. Термин «сперматозоид» был введен только в начале XIX века членом Петербургской Академии наук Карлом Эрнстом фон Бэр, кстати, первым открывшим яйцеклетку человека и животных (1827 г.), заложив тем самым основы эмбриологии и учения о зародышевых листках. Рассматривая под своей лупой тоненькие пластинки мяса, Левенгук обнаружил, что мясо, точнее мышцы, состоят из микроскопических волоконцев. При этом мышцы конечностей и туловища (скелетные мышцы), в отличие от гладких мышц большинства внутренних органов и стенок кровеносных сосудов, состояли из поперечно-исчерченных волоконцев. Ныне, называя соответствующие группы мышц поперечно-полосатыми, наверное, немногие ассоциируют это обозначение с именем Левенгука.

Обнаружение перечисленных визуализированных объектов наблюдательным натуралистом, обладавшим талантом и упорством, по праву можно было приравнять к величайшим открытиям в биологии и медицине. Но то что увидел в своем микроскопе Антони Левенгук апрельским днем 1673 г., в своем доме у Львиных ворот, о котором сейчас напоминает мемориальная доска (рис. 4), потрясло не только многих современников, но и его самого. Уж не привиделось ли это



**Рис. 4. Мемориальная доска на месте дома г. Дельфта, в котором А. Левенгук впервые увидел под микроскопом живых микроорганизмов**

голландскому исследователю? Не было ли это неким видением Антони Левенгука?

Мучимый сомнениями и не имеющий никакой учёной репутации, Левенгук всё-таки решил сообщить о своих наблюдениях в Лондонское Королевское общество, считавшимся в то время первой в мире академией наук, в которой учёные споры основывались на экспериментах, а не на догматах. Принято считать датой рождения Лондонского Королевского общества 1662 г., когда Общество стало регулярно заседать в доме графа Коркского, известного нам как Роберт Бойль (R.Boyle, 1627—1691). На фронте этого дома висела надпись *Nullius in verba* — «Только не словами», что подразумевало приоритет эксперимента, а не схоластических споров. В этом же году стали выходить Протоколы Общества, и стало легче следить за его историей и развитием идей.

Вот что сообщал А. Левенгук: «После всех попыток узнать, какие силы в корне хрена действуют на язык и вызывают его раздражение, я положил приблизительно половину унции корня в воду: в размягчённом состоянии его легче изучать. Кусочек корня оставался в воде около трёх недель. 24 апреля 1673 г. я посмотрел на эту воду под микроскопом и с большим удивлением увидел в ней огромное количество мельчайших живых существ. Некоторые из них в длину были раза в три-четыре больше, чем в ширину, хотя они и не были толще волосков, покрывающих тело вши. Другие имели правильную овальную форму. Был там ещё и третий тип организмов наиболее многочисленный, — мельчайшие существа с хвостиками». Эти строки невольно при-



водят в изумление и даже трепет современных специалистов-микробиологов, для которых увиденные Левенгуком более трёхсот лет назад структуры оказались не «видениями» любознательного голландца, а стали навсегда предметом их профессиональной деятельности, целенаправленного поиска в исследуемых материалах больных, источником научного интереса, неожиданных результатов и новых открытий. А это «видение» Левенгука оказалось, поистине, историческим. Конечно, Левенгуку ещё не удалось увидеть в свой микроскоп микроорганизмов, вызывающих тяжёлые заболевания у человека. Но теперь был открыт путь, по которому их будут не без успеха искать другие учёные. Именно против этих существ будущая наука и её представители (Л. Пастер, Р. Кох, А. Флемминг и др.) станут разрабатывать всё новые и новые способы изучения и воздействия на них.

Этот причудливый мир палочкообразных, спиралевидных, шарообразных микроскопических существ со всевозможными отростками и ресничками поглотил всё внимание исследователя. Левенгук забросил свои торговые дела и начал усердно искать «анималькулей», как он называл наблюдаемых им микроскопических существ («animalculum» — лат.). Он находил их повсюду: в гнилой воде, в канавах, на собственных зубах.

Вначале члены Британской Королевской Академии скептически отнеслись к «микроскопическим инновациям» А. Левенгука и его наблюдениям. На помощь пришёл проживавший в г. Дельфте голландский анатом, физиолог и врач Ренье де Грааф (1641—1673). Р. Грааф (рис. 5) впервые описал строение фолликулов яичника («графовы пузырьки»), предложил обозначать женские половые гонады (половые железы) термином *ovarien* (яичники) и впервые доказал, что яйца из яичников поступают в матку при посредстве маточных (фаллопиев) труб.

В начале 1673 г. доктор Р. Грааф направил на имя секретаря Лондонского Королевского общества письмо, в котором он сообщал о проживающем в Голландии некоем изобретателе по имени Антони ван Левенгук, изготавливающем микроскопы, далеко превосходящие известные до сих пор микроскопы Евстафия Дивини. Имя Левенгука не значилось в то время среди знаменитых шлифовальщиков стекол, к которым принадлежал и известный итальянский оптик и механик Евстафий Дивини. Теперь можно сказать, что наука должна быть благодарна доктору Граафу за то, что, узнав о Левенгуке, он успел написать свое письмо. В августе того же года Грааф умер в возрасте тридцати двух лет. Возможно, если бы не он — мир так и не узнал бы о Левенгуке, талант которого, лишённый поддержки, оказался не востребованным, а его открытия были бы сделаны ещё раз другими, но уже много позднее.



Рис. 5. Ренье де Грааф (1641—1672)

В медицинско-фармацевтическом музее «Грифон» (Medisch Farmaceutisch Museum «De Griffioen») города Дельфта представлена в своём исконном виде лаборатория доктора Ренье де Граафа, первого, кому удалось проследить процесс овуляции; знаменитые линзы Антони Левенгука, первого увидевшего живых микроорганизмов, а также экспонаты первых опытов по созданию пенициллина в Голландии. Музейное соседство «левенгуковских» линз и «флемминговского» пенициллина кажется не случайным, а скорее символизирует связь между эпохальными открытиями, разделёнными почти тремя столетиями, наполненными непрекращающимися попытками проникнуть в сложный мир взаимодействия микробов и человека.

После письма Р. Граафа Королевское общество связалось с Левенгуком, и началась переписка, длившаяся почти полвека. А. Левенгук написал в Лондон около трёхсот писем, являющихся для нас единственным источником информации о нём и результатах его уникального для той эпохи труда. Он писал письма на голландском языке, которые переводились на английский или латынь и публиковались в *Philosophical Transactions of the Royal Society*. На латинском языке собрание писем Левенгука было издано впервые в 1695 г. под названием «Тайны природы» (*Arcana naturae*).

В процессе переписки Британская академия всё же решила провести тщательную проверку сообщений Левенгука, поручив её английскому ботанику и врачу, основоположнику анатомии растений, члену Лондонского Королевского общества Неемии Грю (*Grew Nehemiah*) (1641—1712).



Н. Грю полностью подтвердил достоверность наблюдений Левенгука, и тот был избран в феврале 1680 г. действительным и равноправным членом Лондонского Королевского общества.

В одном из писем от 17 сентября 1683 г. описываются микроскопические наблюдения над зубным налётом между собственными зубами, у двух женщин (вероятно жены и дочери) и ещё у двух старых мужчин, никогда в жизни не чистивших свои зубы. С прозорливостью учёного Левенгук стал исследовать именно содержимое полости рта, содержащего большое количество многочисленных микроорганизмов. Сделав соскоб со своих зубов, Левенгук смешал его с чистой дождевой водой и увидел под микроскопом великое множество маленьких существ («анималькулей»). «В полости моего рта их было, наверное, больше, чем людей в Соединённом Королевстве» — писал А. Левенгук Лондонскому Королевскому обществу, приложив при этом рисунки с изображением «анималькулей», в которых можно было узнать различные формы бактерий (кокки, спириллы, нитчатые бактерии и др.). Нагревая воду, в которой находились эти «зверушки», он обнаружил, что они перестают двигаться, как будто умирают, а при последующем охлаждении воды уже не оживают.

«...я всегда с большим удивлением наблюдал большое количество двигающихся мелких живых существ. Самые большие существа резко и быстро двигались, как бы бросаясь в жидкость (или в слюну), словно щука в воду. Другой вид более многочисленных существ имел округлые формы...» — описывал Левенгук свои наблюдения. А во рту стариков он обнаружил невероятно большую компанию живых быстро плавающих «анималькулей»: «...самые большие существа были с изогнутыми телами и постоянно двигались. Их было так много, что вся жидкость казалась живой». Данное наблюдение можно расценивать как первую попытку научного исследования сравнительного состава микробной флоры ротовой полости у лиц различного пола и возраста.

Сейчас трудно достоверно интерпретировать визуальные образы мельчайших живых существ, увиденных А. Левенгуком, но можно смело утверждать, что он был первым, кому выпала великая честь и счастливая удача приоткрыть завесу в неведомый дотоле мир микроорганизмов, играющих важную роль в природе и жизни человека. Это было одно из самых великих конструктивных открытий в истории человечества. В маленькой капле воды Левенгук открыл целый новый, совершенно неожиданный мир, изобилующий жизнью, хотя и приносящий, как потом оказалось, и смерть.

Ко всеобщему удивлению современников, автором описанных уникальных наблюдений оказался не маститый учёный, а человек, всю жизнь

занимавший муниципальные должности, обученный лишь бухгалтерскому и торговому делу и изготовлявший микроскопы ради собственного удовольствия. После того как однажды он увидел через увеличительное стекло в обычной капле воды волшебный, невидимый невооруженным глазом мир, это стало делом всей его жизни. «Я не обучен никакому мастерству, — писал он в своих письмах — моя работа на протяжении длительного времени проводилась не для получения признания, а главным образом, для удовлетворения жажды знаний, которая у меня была сильнее, чем у любого другого. Я считал своим долгом записывать все мои открытия на бумаге, чтобы склонные к изобретательству люди могли использовать эту информацию...»

Будучи чуждым творческим амбициям и стремлениям к славе, Левенгук пытался объяснить, что движет человеком, занимающимся исследованиями: «Профессора и студенты Лейденского университета уже много лет тому назад были заинтересованы моими открытиями; они наняли себе трёх шлифовальщиков линз для того, чтобы они обучали студентов. А что из этого вышло? Насколько я могу судить, ровно ничего, потому что конечной целью всех этих курсов является или приобретение денег посредством знания, или погоня за славой с выставлением напоказ своей учёности, а эти вещи не имеют ничего общего с открытием сокровенных тайн природы. Я уверен, что из тысячи человек не найдётся и одного, который был бы в состоянии преодолеть всю трудность этих занятий, ибо для этого требуется колоссальная затрата времени и средств, и человек должен быть всегда погружён в свои мысли, если хочет чего-либо достичь...». Прошло уже более трёх столетий, а мы и сейчас с удивлением спрашиваем себя, как мог Левенгук делать свои открытия при тех поистине примитивных средствах, которые были в его распоряжении?

А. Левенгук прожил долгую по тем временам жизнь и умер в возрасте 90 лет. До конца жизни он оставался пытливым неутомимым исследователем, стал одним из первых, кто начал проводить опыты на себе. Он брал из своих пальцев кровь на исследование, помещал под микроскоп кусочки собственной кожи, рассматривая её строение на различных участках тела и подсчитывая количество сосудов, которые её пронизывают. Изучая размножение таких насекомых, как вши, он помещал их на несколько дней в свой чулок, терпел укусы, но узнал, в конце концов, каков приплод у его «обследуемых». Левенгук изучал выделения своего организма в зависимости от качества съеденной пищи, испытывал на себе действие лекарств. Даже умирая, он оставался верен себе, детально описывая процесс угасания жизнедеятельности организма.

Похоронен А. Левенгук в Старой Церкви г. Дельфта. На одной из плит, по которым ходят посетители Старой Церкви, не подозревающие, что под этой землей лежит основоположник микробиологии, есть надпись, которая гласит: «Здесь покоится Антони Левенгук, достигший возраста 90 лет, десяти месяцев и двух дней. Всякий мимо проходящий должен испытать благоговение, ибо глубокая старость — это великий дар» (рис. 6).

Личность Антони Левенгука привлекала к себе многих знаменитых современников, совершавших к нему паломничество в надежде прикоснуться к «великому». Одним из первых его заметил и помог упоминавшийся уже голландский врач Ренье Граф. Неожиданно произошла встреча Левенгука с русским императором Петром I, прибывшим в 1698 г. в Дельфт из Гааги ради встречи с Левенгуком. Царь пригласил его к себе, на борт пришвартованной к реке, в миле от города, яхты, на которую 65-летний учёный принес целый ящик своих микроскопов и показал императору как движутся эритроциты в капле крови хвоста угря. Опубликованные «Тайны Природы» Левенгука открыли чудеса микромира Джонатану Свифту. Знаменитый английский сатирик посетил Дельфт, и этой поездке мы обязаны двум из четырёх частей знаменитой книги «Путешествия Гулливера».

Но особого внимания заслуживает факт, мимо которого нельзя пройти и трудно удержаться от построения всевозможных гипотез. Судьба свела в маленьком Дельфте двух больших знаменитостей — Антони Левенгука и художника Яна Вермеера (1632—1675).

Несмотря на то что к настоящему времени отсутствуют документальные сведения об их дружбе, есть достаточно оснований считать, что у художника и учёного явно могли быть общие интересы. Трудно представить, чтобы такие две знаменитости, жившие в маленьком городе, не испытывали бы потребности и даже необходимости, в общении друг с другом и интереса к творческим новациям каждого. К тому же, отец Вермеера занимался шёлкопрядильным производством, а Левенгук торговал шёлковыми товарами, что также не могло не повлиять на отношения между ними и их семьями. Кроме того, мог быть общий интерес к географическим картам и глобусам, который стал некоей манией для знатных голландцев того времени. Я.Вермеер состоял активным членом гильдии Святого Луки и одно время даже занимал почётную должность декана гильдии, что свидетельствует о его авторитете и значительном месте, которое художник занимал в дельфтском обществе. В XVII в. любой ремесленник и художник состоял в соответствующей гильдии, регламентирующей деятельность представителей профессии. Гильдия Святого Луки представляла собой цеховое объединение художни-

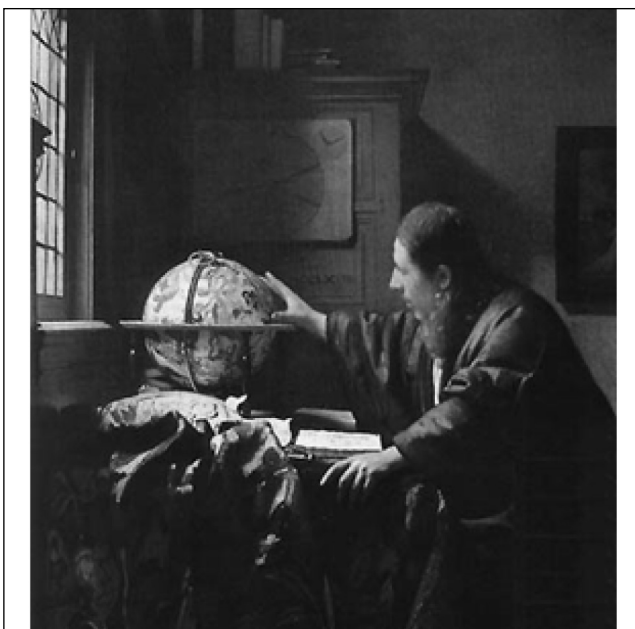


Рис. 6. Мемориальная плита А. Левенгука в Старой Церкви г. Дельфта

ков, скульпторов, печатников, возникшее с XV века. Очевидно, что члены этой гильдии не могли быть не осведомлены о знатных и творческих личностях Дельфта, к каким, несомненно, относился А. Левенгук.

Однако наиболее вероятная причина сближения исследователя с художником могла заключаться в общем интересе к оптическим устройствам, в частности к оптическим эффектам с позиции «микроскописта» и живописца. Имеющиеся исследования свидетельствуют о том, что во время работы Вермеер часто прибегал к камере-обскуре — предшественнице фотоаппарата для того, чтобы добиться фотографической точности изображаемых объектов. Камера представляла собой систему линз, сделанных из специально обточенного стекла и помещённых в светонепроницаемую коробку с небольшим отверстием в центре одной из стенок. Установив коробку отверстием к какому-либо предмету, можно было наблюдать на противоположной стенке его изображение. До изобретения фотоаппарата камера-обскура часто применялась художниками в тех случаях, когда необходимо было сделать точные наброски. Современный английский художник Дэвид Хокни, много времени посвятивший исследованию применения оптических устройств старыми мастерами живописи, считает, что пользоваться камерой-обскурой было совсем не просто, поскольку это требовало определённой сноровки [2]. Но она ни в коей мере не подменяла глаз живописца, а просто служила одним из вспомогательных средств. Предполагалось, что камера помогала увидеть в изображаемом объекте больше, чем видит глаз художника.

Поскольку кто-то должен был снабжать Я.Вермеера высококачественными линзами и принимать участие в «сеансах», нетрудно предположить с высокой долей вероятности, что этим мастером



**Рис. 7. Ян Вермеер. Астроном (фрагмент). 1668. Париж. Лувр**



**Рис. 8. Ян Вермеер. Географ (фрагмент). 1668–1669. Городской институт искусства. Франкфурт**

был никто иной, как Антони Левенгук — единственный таких дел мастер в Дельфте. И снова возникает мысль о возможности использования системы левенгуковских линз в «живописной технологии» художника, а, следовательно, о творческом содружестве Левенгука и Вермеера. Если для Левенгука линзы были основным средством проникновения в тайный мир живых микроорганизмов, то для Вермеера они использовались в качестве вспомогательного средства изображения, в котором художник достиг высшего совершенства. Включив воображение, можно смело представить, как одержимые творческими поисками, оба голландца «священнодействовали» с камерой-обскурой перед позируемыми, в поисках нужных ракурсов предметов для получения их точного изображения на полотне. Именно об этом написано в замечательно историческом романе о жизни и творчестве Вермеера, о знаменитой картине «Девушка с серьгой», о дружбе и близких отношениях художника с А. Левенгуком и использовании изготовленной им камеры-обскуры. (Т. Шевалье «Девушка с жемчужной сережкой»). Но, к сожалению, пока это не документальные факты, а всего лишь плод литературного воображения автора. Использование художником Вермеером линз, производимых мастером-исследователем Левенгуком переводит наши гипотезы по поводу их виртуальных взаимоотношений, в особую историческую плоскость взаимосвязи науки и искусства.

На мысль о знакомстве и дружбе Левенгука и Вермеера наводит некоторое изменение тематики художника в последний период его жизни. Американский искусствовед Артур Уилкок заметил, что

после 1655 г., когда Левенгук увлекся астрономией и навигацией, на полотнах Вермеера тоже появились «методично воспроизведённые карты и глобусы». Так, на картине «Астроном» (рис. 7) с максимальной точностью изображен глобус звёздного неба и можно даже различить несколько созвездий (слева — Большая Медведица).

Примечательно, что картины «Астроном» и «Географ» (1668-1669) стоят несколько особняком и как бы выпадают из ряда обычных для Вермеера жанровых сценок (рис. 7, 8). Эти картины относятся к позднему периоду творчества художника, отмеченному появлением таких тем, как учёный в интерьере, аллегория, портретные головки. Картины «Астроном» и «Географ» явно были задуманы как парные — одинаковы по размеру и посвящены одной теме — изображению учёного, полностью ушедшего в работу. Изображают они, судя по всему, одного и того же человека. Уж не Левенгука ли? Как полагают многие искусствоведы, он вполне мог позировать для обеих картин. В 1668 г. ему было тридцать пять — возраст, вполне соответствующий внешности учёных у Вермеера, хотя Антони пока ещё не прославился своими открытиями в микробиологии, но уже был известен как знаток астрономии и географии.

Для анализа личности астронома и географа, изображенных Я. Вермеером, обратимся к одной из картин в амстердамском Риксмусее. Там находится портрет А. Левенгука кисти голландского художника Яна Верколье, написанный в 1686 г. (см. рис. 1). Несмотря на то, что возраст портретируемых различается, можно увидеть определенное сходство учёных на картинах Вермеера с





**Рис. 9.** Мемориальная плита Я. Вермеера в Старой Церкви г. Дельфта

Левенгуком Я. Верколье, если при этом снять парик и сбросить почти два десятка лет.

Существует, пожалуй, единственный документ, позволяющий лишний раз вернуться к вопросу о взаимоотношениях двух голландцев. В архивах г. Дельфта был найден документ, согласно которому Левенгук, переживший Вермеера на 30 лет, стал в 1675 г. душеприказчиком вдовы ху-

дожника после его смерти. Подобная миссия, редко предоставляемая чужому человеку, требовала большой ответственности и всевозможных хлопот. И хотя, согласно договору, Левенгук мог взять себе помощников, он отказался от этого выбора и принял лично на себя исполнение предписанных ему обязанностей. А Ян Вермеер, непревзойденный мастер и обладатель тайн света в живописи «ожидал» целых тридцать лет своего соотечественника, а возможно и друга, в Старой Церкви г. Дельфта (рис. 9), в которой они, появившись на свет в один и тот же год, были крещены и нашли свой последний приют.

Интрига профессиональных контактов и дружеских взаимоотношений А. Левенгука и Я. Вермеера продолжает оставаться, сохраняет научно-художественный интерес у специалистов и таит в себе немало ещё нераскрытых тайн. Подтверждением этого является недавно вышедшая в свет книга, возвращающая нас на триста лет назад в Дельфт и погружающая в мир художника и исследователя [3].

Как бы не романтизировались возможные отношения между А. Левенгуком и Я. Вермеером, всякий побывавший в замечательном городе Дельфте невольно окутывается аурой незримого присутствия двух великих голландцев, обогативших не только биологическую и медицинскую науку, но и духовный мир человека. Ведь медицина и искусство — это неотъемлемые части общечеловеческой культуры.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мосолов А., Белкин А. Секрет Антони ван Левенгука?, М.: Наука и жизнь. — 1980. — № 5. — С. 90—92. / Mosolov A., Belkin A. Sekret Antoni van Levenguka?, М.: Nauka i zhizn 1980; 5: 90—92. [in Russian]
2. Хокни Д. Секреты старых картин. М.: Арт Родник, 2004. / Khokni D. Sekrety starykh kartin. М.: Art Rodnik, 2004. [in Russian]

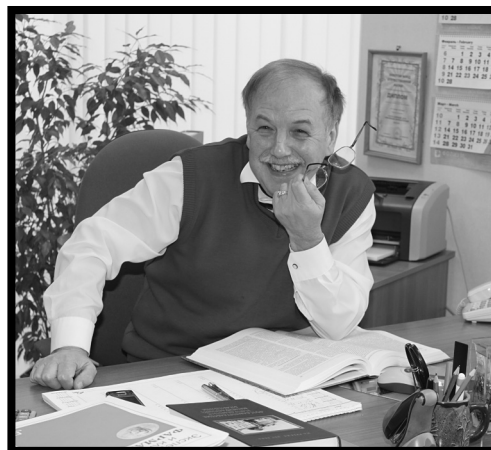
## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Дворецкий Леонид Иванович — д. м. н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии № 2 ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И. М. Сеченова, Москва

3. Snyder L. J. Eye of the Beholder. Johannes Vermeer, Antoni van Leeuwenhoek, and the Reinvention of Seeing. 2015; 465.

## ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА РОМАНЦОВА МИХАИЛА ГРИГОРЬЕВИЧА

### In Memory of Professor Romantsov Mikhail Grigorievich



29 декабря 2018 г. на 66-м году закончил жизненный путь Михаил Григорьевич Романцов, доктор медицинских наук, кандидат педагогических наук, лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, действительный член (академик) общественной организации «Российская академия естествознания», профессор кафедры педиатрии и детской кардиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Михаил Григорьевич родился 14.11.1953 г. в г. Калининграде, в семье служащих. После окончания средней школы №1 и медицинского училища г. Калининграда он работал фельдшером скорой медицинской помощи, но большой интерес и тяга к медицине очень скоро привели его в Куйбышевский медицинский институт. Будучи студентом педиатрического факультета, он многое успевал: хорошо учиться и успешно сдавать экзамены, работать в приёмном покое городской больницы и заниматься общественной работой. Он был известным студентом не только на своем курсе и факультете, но и на других факультетах, на курсах старше и младше. Это был неутомимый, беспокойный человек, всегда стремящийся к чему-то новому, занятый решением неотложных вопросов и проблем, умеющий дружить и ценить дружбу. И, как показала жизнь, эти черты характера оставались в нём до последних его дней.

После окончания института в 1978 г. Михаил Григорьевич вернулся в родной город и стал работать врачом-педиатром Калининградской городской инфекционной больницы. Но уже в 1981 г. он приезжает в Ленинград и поступает в заочную аспирантуру Научно-исследовательского института детских инфекций. Восьмидесятые годы XX века — это период не только формирования научных взглядов, знаний будущего учёного, но и приобретения опыта организатора здравоохранения. Начав свою работу с должности врача-педиатра детского санатория, он становится главным врачом санатория «Заря» г. Ленинграда, а затем дома ребенка № 5. В 1986 г. Михаил Григорьевич успешно защищает кандидатскую диссертацию,

посвящённую клинко-иммунологическим аспектам вирусного гепатита В у детей. Его наставниками и учителями были крупнейшие учёные нашей страны — ведущий детский инфекционист, гепатолог профессор Ирена Викторовна Гользанд и ведущий иммунолог, академик РАН Ирина Соломоновна Фрейдлин. Это они смогли увидеть во вчерашнем студенте очень пытливого, упорного, необыкновенно трудолюбивого, целеустремленного человека и пробудить в нём тот интерес к инфекционным болезням, иммунологии, проблемам интерферонотерапии, которые определили всю его многолетнюю научную деятельность. Далее была работа старшим, затем ведущим научным сотрудником ВНИИ гриппа МЗ СССР, связанная с разработкой новых противовирусных препаратов, защита в 1992 г. диссертации на соискание степени доктора медицинских наук. Диссертационная работа также касалась вопросов иммунитета и инфекций, но уже особенностей иммунного ответа у часто длительно болеющих детей, их реабилитации и возможности использования при их лечении различных иммуномодулирующих препаратов.

Фармакотерапия социально-значимых инфекций: вирусные гепатиты, ВИЧ, туберкулез, инфекции передающиеся половым путём и другие заболевания — вот вектор научных интересов Михаила Григорьевича Романцова. И, конечно, эта работа была связана с Научно-технологической фармацевтической фирмой «ПОЛИСАН», в которой Михаил Григорьевич длительное время возглавлял отдел координации медико-биологических исследований. Молодой, дерзкий, целеустремленный коллектив единомышленников взялся за решение необычайно сложной задачи — разработку, производство и внедрение в практику совершенно новых оригинальных препаратов различного механизма действия, включая и индукторов интерферона. И у них это получилось! Сегодня каждый врач поликлиники, стационара любого города, любого региона Российской Федерации и не только Российской Федерации, хо-



рошо знает такие отечественные препараты, как циклоферон, реамберин, цитофлавин, ремаксол. А перед этим была колоссальная работа по проведению многоцентровых клинических исследований по каждому из этих препаратов. Десятки больных с различными заболеваниями из Москвы, Санкт-Петербурга, Архангельска, Казани, Уфы, Астрахани, Курска, Луганска, Перми, Оренбурга и ещё многих и многих городов были включены в эти исследования. И в каждом из этих городов побывал Михаил Григорьевич. Бесконечные многочисленные командировки, уточнение разработанных схем терапии, а иногда и их изменение при первичном анализе результатов и обсуждении с коллегами на местах. Наверное, нет ни одного заведующего кафедрой инфекционных болезней медицинского университета или медицинской академии в нашей стране, который бы не знал, если не лично, то имя Романцова Михаила Григорьевича. А ещё были главные врачи, заведующие отделениями, заведующие поликлиниками и просто практические врачи самых различных лечебных учреждений, с которыми он встречался, обсуждал, спорил. Это был необыкновенно доброжелательный и внимательный человек, всегда доступный для деловых контактов.

Оценка эффективности, безопасности разработанных лекарственных препаратов, их влияние на иммунитет и ещё многое другое — вот те параметры, которые требовали тщательной и скрупулезной оценки отдела координации медико-биологических исследований, который он возглавлял. Результатом работы коллектива НТФФ «ПОЛИСАН», в том числе и Михаила Григорьевича Романцова, явилось то, что препараты циклоферон, и цитофлавин были отмечены премиями Правительства РФ в области науки и техники.

Но был ещё один раздел его профессиональной деятельности, которому он уделял большое внимание с молодых лет — это педагогика. Уже после защиты своей первой кандидатской диссертации он начал совмещать основную работу с работой ассистента на кафедрах инфекционных болезней, сначала МАПО, затем ЛСГМИ им. И. И. Мечникова, на кафедре валеологии Российского педагогического университета им. А. И. Герцена. Это была не просто работа ассистентом, а педагогический поиск в области дидактики высшего медицинского образования. Итогом этой деятельности стала за-

щита в 2000 г. диссертации «Профессиональная подготовка студентов педагогического ВУЗа на интегративной медико-биологической основе» на соискание учёной степени кандидата педагогических наук. Михаил Григорьевич был прекрасным лектором, интересно и увлекательно проводил практические занятия и семинары. Для студентов, клинических ординаторов и аспирантов он был прекрасным учителем, оказывающим помощь и поддержку при проведении исследований, при разборе тяжёлых больных. Последние годы его работы были связаны с кафедрой педиатрии и детской кардиологии СЗГМУ им. И. И. Мечникова. Он был интересный собеседник, щедро делящийся своими знаниями с коллегами, честный и достаточно прямолинейный в своих высказываниях. Не боялся проводить у студентов и слушателей анкетирование для получения объективных данных об усвоении представляемого материала и оценке уровня профессиональных знаний преподавателей.

Под руководством М. Г. Романцова защищено 7 кандидатских диссертаций, он автор более 400 научных статей и 20 руководств для врачей и преподавателей медицинских вузов. Михаил Григорьевич являлся членом диссертационного совета (инфекционные болезни, эпидемиология, медицинская микробиология) СЗГМУ им. И. И. Мечникова, заместителем главного редактора журнала «Фармакотерапевтический альманах», членом редакционного совета журналов «Антибиотики и химиотерапия», «Успехи современного естествознания», «Фундаментальные исследования». Он награжден медалью «За укрепление авторитета российской науки».

Ушёл из жизни замечательный, добрый, интеллигентный человек и талантливый учёный, всем смыслом существования которого было стремление помочь людям дельным советом, да и просто добрым словом. Он спешил делать добро и много успел сделать для своих учеников, товарищей по работе и для всех, кто его окружал.

Светлая память о нём навсегда сохранится в наших сердцах.

*Редколлегия и редакционный совет журнала «Антибиотики и химиотерапия» выражают глубокое соболезнование родным и близким Михаила Григорьевича Романцова и вместе с ними скорбят о его безвременной кончине.*

## Указатель авторов и статей, опубликованных в журнале в 2018 году

- Авдеева Ж. И. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)  
 Агеев В. А. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
 Айрапетова А. Ю. см. Громовых Т. И. и др. 9–10 (3–9)  
 Аксенов В. А. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
 Алдибекова А. А. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)  
 Александрова Т. А. см. Сереброва С. Ю. и др. 9–10 (31–38)  
 Алексеева А. И., Халанский А. С., Федосеева В. В., Гореликов П. Л., Гельперина С. Э. Влияние донора оксида азота на противоопухолевую активность доксорубина в отношении экспериментальной глиобластомы крыс 7–8 (17–21)  
 Алыбаев С. Д. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)  
 Альмяшева Н. Р., Гольшшин А. В., Зиангирова М. Ю., Петрова Д. А., Краснополянская Л. М. Продукция липолитических ферментов ксилотрофными грибами отдела *Basidiomycetes* 1–2 (8–13)  
 Андрейцева О. И. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Андрюков Б. Г., Запорожец Т. С., Беседнова Н. Н. Перспективные стратегии поиска новых средств борьбы с инфекционными заболеваниями 1–2 (44–55)  
 Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Бынина М. П. Бактериальные токсин-антитоксигенные системы и новые стратегии создания антибактериальных препаратов 3–4 (50–59)  
 Андрюков Б. Г. см. Беседнова Н. Н. и др. 7–8 (67–78)  
 Андрюшнина Т. Б. см. Морозова Т. Е. и др. 9–10 (39–47)  
 Асеева И. Л. см. Зырянов С. К. и др. 5–6 (46–51)  
 Аскеров Н. Г. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)
- Бабарина М. Б. см. Соколова В. И. и др. 5–6 (10–15)  
 Баранова А. А. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
 Бацкалевич Н. А. см. Веревищев В. К. и др. 7–8 (47–50)  
 Белов Б. С., Буханова Д. В., Тарасова Г. М. Вакцинация в ревматологии: настоящее и будущее 1–2 (56–64)  
 Белов Б. С. Болезнь Уиппла 3–4 (44–49)  
 Белов Б. С. А-стрептококковые инфекции глотки: диагностика и рациональная антибактериальная терапия 5–6 (68–75)  
 Белов В. Г. см. Парфенов С. А. и др. 1–2 (38–43)  
 Беседнова Н. Н. см. Андрюков Б. Г. и др. 1–2 (44–55)  
 Беседнова Н. Н. см. Андрюков Б. Г. и др. 3–4 (50–59)  
 Беседнова Н. Н., Макаренко И. Д., Федянина Л. Н., Авдеева Ж. И., Крыжановский С. П., Кузнецова Т. А., Запорожец Т. С. Дезоксирибонуклеиновая кислота про- и эукариот в профилактике и терапии инфекционных болезней 5–6 (52–67)  
 Беседнова Н. Н., Смолина Т. П., Андрюков Б. Г., Кузнецова Т. А., Михайлов В. В., Звягинцева Т. Н. Экзополисахариды морских бактерий: перспективы применения в медицине 7–8 (67–78)  
 Беседнова Н. Н. см. Хильченко С. Р. и др. 9–10 (69–79)  
 Блатун Л. А., Складан Г. Е., Терехова Р. П., Прудникова С. А., Крутиков М. Г., Андрейцева О. И., Ян М. Н., Ниткин А. А., Ушаков А. А., Аскеров Н. Г., Митиш В. А., Пасхалова Ю. С., Муньос Сэпэда П. А., Магомедова С. Д., Соков С. Л. Грибковая инфекция в хирургическом стационаре. Системная и местная противогрибковая терапия 3–4 (37–43)  
 Богуш Е. А. см. Богуш Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
 Богуш Е. А. см. Мамичев И. А. и др. 7–8 (79–90)  
 Богуш Т. А., Стенина М. Б., Богуш Е. А., Заркуа В. Т., Калужный С. А., Мамичев И. А., Тюляндина А. С., Тюляндин С. А. Количественные показатели экспрессии ERCC в ткани серозного рака яичников и эффективность I линии химиотерапии с включением препаратов платины 1–2 (24–31)  
 Богуш Т. А. см. Мамичев И. А. и др. 7–8 (79–90)  
 Борисевич Г. В. см. Логинова С. Я. и др. 9–10 (14–18)
- Борисевич С. В. см. Логинова С. Я. и др. 11–12 (3–7)  
 Боровков Е. Ю. см. Парфенов С. А. и др. 1–2 (38–43)  
 Бунин В. Д. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
 Буханова Д. В. см. Белов Б. С. и др. 1–2 (56–64)  
 Бынина М. П. см. Андрюков Б. Г. и др. 3–4 (50–59)  
 Бычкова О. П. см. Лавренов С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Бычкова О. П. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)
- Васильева Е. И. см. Соколова В. И. и др. 5–6 (10–15)  
 Веревищев В. К., Шемякина Е. К., Сабитов А. У., Бацкалевич Н. А. Современная этиотропная терапия гриппа и ОРВИ у взрослых больных с отягощённой преморбидной патологией 7–8 (47–50)  
 Волкова М. О. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)
- Гаврюшина И. А. см. Громовых Т. И. и др. 9–10 (3–9)  
 Гаевская Н. Е. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Гапонов А. М. см. Маркелова Н. Н. и др. 7–8 (41–46)  
 Геворкян Ю. А. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Гейн В. Л. см. Новикова В. В. 9–10 (10–13)  
 Гельперина С. Э. см. Алексеева А. И. и др. 7–8 (17–21)  
 Голубов В. А. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
 Головин С. Н. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Гольшшин А. В. см. Альмяшева Н. Р. и др. 1–2 (8–13)  
 Горбунова И. А. см. Филиппова Е. И. и др. 11–12 (8–11)  
 Гореликов П. Л. см. Алексеева А. И. и др. 7–8 (17–21)  
 Гостев В. В., Калиногорская О. С., Юдин С. М., Дмитренко О. А., Кудрявцева А. В., Сидоренко С. В. Полиморфизм генов, участвующих в сборке клеточной стенки у метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* со сниженной чувствительностью к ванкомицину 7–8 (11–16)  
 Громовых Т. И. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
 Громовых Т. И., Гаврюшина И. А., Садыкова В. С., Фельдман Н. Б., Дмитренко А. С., Айрапетова А. Ю., Луценко С. В. Получение иммобилизованного мицелия базидиомцета *Fomitopsis officinalis* (vill.: fr.) Bond. Et sing. продуцента агарининовой кислоты 9–10 (3–9)  
 Гулий О. И., Караваева О. А., Ларионова О. С., Ларионов С. В., Ловцова Л. Г., Усков К. Ю., Бунин В. Д. Оценка воздействия бактериофагов на микробные клетки методом электрооптического анализа 1–2 (14–23)
- Давыдов М. М. см. Мамичев И. А. и др. 7–8 (79–90)  
 Данилов А. И., Козлов Р. С., Козлов С. Н., Дехнич А. В., Жаркова Л. П. Особенности антимикробной терапии инфекционного эндокардита в Российской Федерации 9–10 (48–52)  
 Дворецкий Л. И. Исторические «видения» Антони Левенгука 11–12 (55–62)  
 Дехнич А. В. см. Данилов А. И. и др. 9–10 (48–52)  
 Дмитренко О. А. см. Гостев В. В. и др. 7–8 (11–16)  
 Дмитренко А. С. см. Громовых Т. И. и др. 9–10 (3–9)
- Егизарян Л. А. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Егорова О. А. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Еременко Н. Н. см. Сереброва С. Ю. и др. 9–10 (31–38)  
 Ерошенко Д. В. см. Полюдова Т. В. и др. 5–6 (3–9)  
 Ефимочкина Н. Р. см. Стеценко В. В. 9–10 (61–68)
- Жаркова Л. П. см. Данилов А. И. и др. 9–10 (48–52)  
 Жукова О. В., Руина О. В., Кононова С. В., Хазов М. В., Романов С. В. DDD- и DU90%-анализ антимикробной терапии внебольничной пневмонии в условиях стационара федерального центра 11–12 (41–44)

Журавлева М. В. см. Лазарева Н. Б. и др. 1–2 (32–37)  
Журавлева М. В. см. Сереброва С. Ю. и др. 9–10 (31–38)

Запорожец Т. С. см. Андриюков Б. Г. и др. 1–2 (44–55)  
Запорожец Т. С. см. Андриюков Б. Г. и др. 3–4 (50–59)  
Запорожец Т. С. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)  
Запорожец Т. С. см. Хильченко С. Р. и др. 9–10 (69–79)  
Заркуа В. Т. см. Богуш Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
Затолочина К. Э. см. Зырянов С. К. и др. 5–6 (46–51)  
Звягинцева Т. Н. см. Беседнова Н. Н. и др. 7–8 (67–78)  
Звягинцева Т. Н. см. Хильченко С. Р. и др. 9–10 (69–79)  
Зиангирова М. Ю. см. Альмяшева Н. Р. и др. 1–2 (8–13)  
Зырянов С. К. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)  
Зырянов С. К., Затолочина К. Э., Асецкая И. Л. Левовфлосацин: анализ информации об осложнениях фармакотерапии отечественной базы данных спонтанных сообщений 5–6 (46–51)

Иванова Е. С. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
Ивжиц М. А. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)  
Ильина Е. Н. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
Иониди П. В. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)  
Исакова Е. Б. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
Исакова Е. Б. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
Исакова И. Б. см. Принцевская С. С. и др. 1–2 (3–7)  
Исмаилова А. О. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)

Казаков А. В., Можожкина Г. Н., Аксенова В. А., Смердин С. В., Попов С. А., Клевно Н. И., Рагимов А. А., Кузнецов О. Е., Козлов В. В. Влияние генетического полиморфизма генов ферментов, ответственных за биотрансформацию противотуберкулёзных препаратов на риск развития гепатотоксических реакций у больных туберкулёзом 5–6 (20–25)  
Калиногорская О. С. см. Гостев В. В. и др. 7–8 (11–16)  
Калюжный С. А. см. Богуш Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
Каминский М. Ю. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
Караваева О. А. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
Карпов И. А., Соловей Н. В. Рациональная этиотропная терапия инфекций верхних дыхательных путей. Проблемы резистентности внебольничных микроорганизмов 9–10 (19–25)  
Каширин В. В. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
Кириопина М. А. см. Липатов К. В. и др. 5–6 (16–19)  
Кит О. И. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
Клевно Н. И. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
Коваленко А. Л. см. Коломиец В. М. и др. 9–10 (26–30)  
Козлов В. В. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
Козлов Р. С. см. Данилов А. И. и др. 9–10 (48–52)  
Козлов С. Н. см. Данилов А. И. и др. 9–10 (48–52)  
Коломиец В. М., Рублева Н. В., Коваленко А. Л., Таликова Е. В. Иммуномодулирующая терапия сопровождения при лечении больных запущенным туберкулёзом 9–10 (26–30)  
Комарова Е. А. см. Липатов К. В. и др. 5–6 (16–19)  
Кононова С. В. см. Жукова О. В. и др. 11–12 (41–44)  
Корниенко М. А. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
Коробов В. П. см. Полудова Т. В. и др. 5–6 (3–9)  
Королев А. М. см. Принцевская С. С. и др. 1–2 (3–7)  
Королев А. М. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
Костина Н. Е. см. Филиппова Е. И. и др. 11–12 (8–11)  
Кочеровец В. И. Антибактериальные антибиотики и бактериальные пробиотики: возможно ли совместить несоевместимое 5–6 (34–42)  
Краснопольская Л. М. см. Альмяшева Н. Р. и др. 1–2 (8–13)  
Крутиков М. Г. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
Крыжановский С. П. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)

Кудрявцева А. В. см. Гостев В. В. и др. 7–8 (11–16)  
Кузнецов В. И. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
Кузнецов О. Е. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
Кузнецова Т. А. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)  
Кузнецова Т. А. см. Беседнова Н. Н. и др. 7–8 (67–78)  
Кузнецова Ю. К. Исследование эффективности препаратов для терапии зоонозного кожного лейшманиоза *in vivo* на лабораторной модели 7–8 (22–28)  
Кулешова С. И. см. Олефир Ю. В. и др. 7–8 (62–66)  
Кульбаева М. М. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)  
Купцов Н. С. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
Курмашев А. Ф. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)  
Курьяков В. Н. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
Куцевалова О. Ю., Кит О. И., Панова Н. И., Розенко Д. А., Якубенко С. В., Геворкян Ю. А., Харагезов Д. А., Мартынов Д. А., Малыгин В. Н., Хиндикийнен А. Ю., Янковская Г. В., Егорова О. А., Каминский М. Ю., Мирошниченко Д. И. Современные тенденции антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области 11–12 (24–30)  
Кучук А. О. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)

Лавренев С. Н., Симонов А. Ю., Панов А. А., Лакатош С. А., Исакова Е. Б., Цвигун Е. А., Бычкова О. П., Татарский В. В., Иванова Е. С., Мирчинк Е. П., Королев А. М., Тренин А. С. Новые антимикробные вещества – гибридные производные малеимидов и трииндолилметанов: синтез и биологическая активность 7–8 (4–10)  
Лавренев С. Н. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
Лазарева И. В., Старкова П. С., Агеев В. А., Волкова М. О., Лебедева М. С., Навацкая А. С., Мясникова Е. Б., Митрошина Г. В., Сидоренко С. В. Оценка распространения ректального носительства генов вирулентности и карбапенемаз у пациентов, поступивших на плановую госпитализацию 11–12 (18–23)  
Лазарева Н. Б., Журавлева М. В., Прокофьев А. Б., Ших Е. В. Потенциальные возможности мониторинга концентрации прокальцитонина при проведении антибактериальной терапии инфекций нижних дыхательных путей 1–2 (32–37)  
Лакатош С. А. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
Ларионов С. В. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
Ларионова О. С. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
Лебедева М. С. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
Липатов К. В., Комарова Е. А., Мирская М. А., Хрупкин В. И., Кириопина М. А. Особенности микробного пейзажа и антимикробной химиотерапии у больных нелактационным маститом 5–6 (16–19)  
Ловцова Л. Г. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
Логинова С. Я., Шукина В. Н., Борисевич Г. В., Суровяткина И. В., Борисевич С. В. Изучение активности противовирусных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Зика в культуре клеток 9–10 (14–18)  
Логинова С. Я., Шукина В. Н., Борисевич С. В. Изучение динамики и уровня накопления интерферона в сыворотке крови лабораторных животных 11–12 (3–7)  
Лузиков Ю. Н. см. Принцевская С. С. и др. 1–2 (3–7)  
Лукина М. В. см. Морозова Т. Е. и др. 9–10 (39–47)  
Луценко С. В., Громоных Т. И., Каширин В. В., Курьяков В. Н., Баранова А. А., Садыкова В. С., Фельдман Н. Б. Исследование *in vitro* противоопухолевой и антимикробной активности препарата пегилированных липосом с Сангвинарином 3–4 (3–7)  
Луценко С. В. см. Громоных Т. И. и др. 9–10 (3–9)  
Любасовская Л. А. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
Ляпина Е. Н. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
Магомедова С. Д. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
Мазин П. В. см. Мазина Н. К. и др. 11–12 (31–40)

Мазина Н. К., Мазин П. В., Редькина Д. В. Влияние циклоферона на эффективность фармакотерапии инфекционных заболеваний широкого спектра у детей и взрослых. Систематический обзор и метаанализ 11–12 (31–40)  
 Мазурков О. Ю. см. Филиппова Е. И. и др. 11–12 (8–11)  
 Мазуркова Н. А. см. Филиппова Е. И. и др. 11–12 (8–11)  
 Макаренко И. Д. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)  
 Малыгин В. Н. см. Принцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Мамичев И. А. см. Богуш Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
 Мамичев И. А., Богуш Т. А., Богуш Е. А., Терентьева Н. С., Полоцкий Б. Е., Давыдов М. М. Белок микротрубочек  $\beta$ -тубулин: строение, экспрессия и функции в нормальных и опухолевых клетках 7–8 (79–90)  
 Манолов А. И. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
 Маркелова Н. Н., Тутельян А. В., Писарев В. М., Гапонов А. М. Некоторые закономерности формирования персистирующих форм клинических изолятов грамотрицательных бактерий 7–8 (41–46)  
 Маркелова Н. Н., Семенова Е. Ф. Возможные пути преодоления антибиотикорезистентности нозокомиальных патогенов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* 11–12 (45–54)  
 Мартынов Д. А. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Мельникова Е. В. см. Чапленко А. А. и др. 9–10 (53–60)  
 Мирошниченко Д. И. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Мирская М. А. см. Липатов К. В. и др. 5–6 (16–19)  
 Мирчинк Е. П. см. Принцевская С. С. и др. 1–2 (3–7)  
 Мирчинк Е. П. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Мирчинк Е. П., Исакова Е. Б., Лавренев С. Н., Симонов А. Ю., Голубродо В. А., Панов А. А., Бычкова О. П., Татарский В. В., Тренин А. С. Изучение активности и токсичности новых антибактериальных агентов на основе производных трииндолметана в экспериментах *in vivo* 11–12 (12–17)  
 Митиш В. А. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Митрошина Г. В. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
 Михайлов В. В. см. Беседнова Н. Н. и др. 7–8 (67–78)  
 Модель Г. Ю. см. Ни О. Г. и др. 7–8 (55–61)  
 Можожкина Г. Н. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
 Морозова Т. Е., Лукина М. В., Андрущишина Т. Б., Чукина М. А. Анализ эффективности, рациональности и безопасности периоперационной профилактики у пациентов хирургического профиля в многопрофильном стационаре 9–10 (38–47)  
 Муньос Сэпда П. А. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Мусагалиева Р. С. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)  
 Мясникова Е. Б. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)

Навацкая А. С. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
 Наркайтис Л. С. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
 Неугодова Н. П. см. Шаповалова О. В. и др. 5–6 (43–45)  
 Ни О. Г., Очаковская И. Н., Шабанова Н. Е., Пенжоян Г. А., Модель Г. Ю., Яковлев С. В. Анкетирование врачей для определения исходного уровня знаний как механизм повышения эффективности образовательных мероприятий в области рациональной антимикробной терапии 7–8 (55–61)  
 Ниткин А. А. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Новикова В. В., Гейн В. Л. Углублённое исследование противогрибковой активности соединений ряда серебряных солей пиразол-3-карбоксамидов 9–10 (10–13)

Олефир Ю. В., Семёнова Е. Н., Кулешова С. И., Саканян Е. И., Процак С. А. Применение турбидиметрического метода анализа для стандартизации и оценки качества антибиотиков группы аминогликозидов и лекарственных препаратов на их основе 7–8 (62–66)  
 Олефир Ю. В. см. Чапленко А. А. и др. 9–10 (53–60)  
 Очаковская И. Н. см. Ни О. Г. и др. 7–8 (55–61)

Павелкина В. Ф., Ускова Ю. Г. Эффективность реамберина в коррекции процессов липопероксидации при гастроинтестинальной форме салмонеллёза 5–6 (26–33)  
 Памяти профессора Романцова Михаила Григорьевича 11–12 (63–64)  
 Панов А. А. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Панов А. А. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
 Панова Н. И. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Парфенов С. А., Боровков Е. Ю., Шагвалиев А. Г., Тучин И. А., Белов В. Г., Парфенов Ю. А. Современные направления профилактики внебольничной пневмонии у военнослужащих, проходящих воинскую службу по призыву 1–2 (38–44)  
 Парфенов Ю. А. см. Парфенов С. А. и др. 1–2 (38–43)  
 Пасхалова Ю. С. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Пасюкова Н. И. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Пенжоян Г. А. см. Ни О. Г. и др. 7–8 (55–61)  
 Перминова Т. А. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
 Петрова Д. А. см. Альмяшева Н. Р. и др. 1–2 (8–13)  
 Писарев В. М. см. Маркелова Н. Н. и др. 7–8 (41–46)  
 Принцевская С. С., Королев А. М., Лузиков Ю. Н., Мирчинк Е. П., Исакова Е. Б., Тевяшова А. Н. Синтез и антибактериальная активность 11-О-(бензоксаборол-аминоалкил-карбамоил) производных макролидного антибиотика азитромицина 1–2 (3–7)  
 Погожова М. П. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Полонская А. В., Корниенко М. А., Манолов А. И., Купцов Н. С., Смирнов Г. Б., Любасовская Л. А., Припутневич Т. В., Шитиков Е. А., Ильина Е. Н. Вариативность генов рекомбиназ и *tesA* стафилококковой хромосомной кассеты *Staphylococcus haemolyticus* 7–8 (33–40)  
 Полоцкий Б. Е. см. Мамичев И. А. и др. 7–8 (79–90)  
 Полюдова Т. В., Ерошенко Д. В., Коробов В. П. Биоплёнки антибиотикорезистентных *Propionibacterium acnes* и их чувствительность к антибактериальным пептидам стафилококков 5–6 (3–9)  
 Попов С. А. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
 Припутневич Т. В. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
 Прокофьев А. Б. см. Лазарева И. В. и др. 1–2 (32–37)  
 Прокофьев А. Б. см. Сереброва С. Ю. и др. 9–10 (31–38)  
 Процак С. А. см. Олефир Ю. В. и др. 7–8 (62–66)  
 Прудникова С. А. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Пуцман Г. А. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)

Рагимов А. А. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
 Рачинская О. А. см. Чапленко А. А. и др. 9–10 (53–60)  
 Редькина Д. В. см. Мазина Н. К. и др. 11–12 (31–40)  
 Рогожин Е. А., Смирнов А. Н. Антибиотический потенциал защитных пептидов семян сорного злака – ежовника обыкновенного (*Echinochloa crusgalli* L.) 3–4 (8–11)  
 Родоман Г. В., Сумеди И. Р., Зырянов С. К., Ивжиц М. А., Курмашев А. Ф., Иониди П. В., Пуцман Г. А., Кучук А. О. Современные маски инфекционного эндокардита 3–4 (18–27)  
 Розенко Д. А. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Романов С. В. см. Жукова О. В. и др. 11–12 (41–44)  
 Романцов М. Г. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
 Рублева Н. В. см. Коломиец В. М. и др. 9–10 (26–30)  
 Руина О. В. см. Жукова О. В. и др. 11–12 (41–44)

Сабитов А. У. см. Веревищikov В. К. и др. 7–8 (47–50)  
 Сагиев З. А., Утепова И. Б., Мусагалиева Р. С., Алыбаев С. Д., Кульбаева М. М., Исмаилова А. О., Алдибекова А. А. Устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов холерного вибриона, выделенных в Казахстане 3–4 (12–17)  
 Садыкова В. С. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
 Садыкова В. С. см. Громовых Т. И. и др. 9–10 (3–9)  
 Саканян Е. И. см. Олефир Ю. В. и др. 7–8 (62–66)  
 Сапожникова Г. А. см. Шаповалова О. В. и др. 5–6 (43–45)



Селянская Н. А. см. Тюрина А. В. и др. 7–8 (29–32)  
 Семёнова Е. Н. см. Олефир Ю. В. и др. 7–8 (62–66)  
 Семенова Е. Ф. см. Маркелова Н. Н. 11–12 (45–54)  
 Сереброва С. Ю., Прокофьев А. Б., Еременко Н. Н., Журавлева М. В., Александрова Т. А. Клинико-фармакологические аспекты резистентности к эрадикационной терапии инфекции *Helicobacter pylori* 9–10 (31–38)  
 Сидоренко С. В. см. Гостев В. В. и др. 7–8 (11–16)  
 Сидоренко С. В. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
 Симонов А. Ю. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Симонов А. Ю. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
 Складан Г. Е. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Смердин С. В. см. Казаков А. В. и др. 5–6 (20–25)  
 Смирнов Г. Б. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
 Смирнова А. Н. см. Рогожин Е. А. 3–4 (8–11)  
 Смолина Т. П. см. Беседнова Н. Н. и др. 7–8 (67–78)  
 Соболева Л. А. см. Шульдяков А. А. и др. 3–4 (28–36)  
 Соков С. Л. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Соколова В. И., Сычев Д. А., Бабарина М. Б., Васильева Е. И. Диабетическая стопа: возможности антибактериальной и антиоксидантной терапии 5–6 (10–15)  
 Соловей Н. В. см. Карпов И. А. 9–10 (19–25)  
 Старкова П. С. см. Лазарева И. В. и др. 11–12 (18–23)  
 Степина М. Б. см. Богущ Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
 Стеценко В. В., Ефимочкина Н. Р. Механизмы формирования антибиотикорезистентности бактерий рода *Campylobacter* 9–10 (61–68)  
 Сумеди И. Р. см. Родоман Г. В. и др. 3–4 (18–27)  
 Суrowяткина И. В. см. Логинова С. Я. и др. 9–10 (14–18)  
 Сычев Д. А. см. Соколова В. И. и др. 5–6 (10–15)

Таликова Е. В. см. Коломиец В. М. и др. 9–10 (26–30)  
 Тарасова Г. М. см. Белов Б. С. и др. 1–2 (56–64)  
 Татарский В. В. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Татарский В. В. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
 Татаурицкова Н. С. Циклоферон в лечении иммунокомпрометированных пациентов с аллергическим ринитом 7–8 (51–54)  
 Тевяшова А. Н. см. Принцевская С. С. и др. 1–2 (3–7)  
 Терентьева Н. С. см. Мамичев И. А. и др. 7–8 (79–90)  
 Терехова Р. П. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Тренин А. С. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)  
 Тренин А. С. см. Мирчинк Е. П. и др. 11–12 (12–17)  
 Тутельян А. В. см. Маркелова Н. Н. и др. 7–8 (41–46)  
 Тучин И. А. см. Парфенов С. А. и др. 1–2 (38–43)  
 Тюляндин С. А. см. Богущ Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
 Тюляндина А. С. см. Богущ Т. А. и др. 1–2 (24–31)  
 Тюрина А. В., Гаевская Н. Е., Селянская Н. А., Егиазарян Л. А., Погужова М. П., Головин С. Н., Пасюкова Н. И. Активность препарата бактериофагов в отношении антибиотикорезистентных штаммов холерных вибрионов *Ei Tor* 7–8 (29–32)

Усков К. Ю. см. Гулий О. И. и др. 1–2 (14–23)  
 Ускова Ю. Г. см. Павелкина В. Ф. 5–6 (26–33)  
 Утепова И. Б. см. Сагиев З. А. и др. 3–4 (12–17)  
 Ушаков А. А. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)

Федянина Л. Н. см. Беседнова Н. Н. и др. 5–6 (52–67)  
 Федосеева В. В. см. Алексеева А. И. и др. 7–8 (17–21)

Фельдман Н. Б. см. Луценко С. В. и др. 3–4 (3–7)  
 Фельдман Н. Б. см. Громовых Т. И. и др. 9–10 (3–9)  
 Филиппова Е. И., Мазурков О. Ю., Горбунова И. А., Костина Н. Е., Мазуркова Н. А. Противовирусные свойства водного и этанольного экстрактов навозника лохматого (*Coprinus comatus*) *in vitro* и *in vivo* в отношении вируса гриппа 11–12 (8–11)

Хазов М. В. см. Жукова О. В. и др. 11–12 (41–44)  
 Халанский А. С. см. Алексеева А. И. и др. 7–8 (17–21)  
 Харагезов Д. А. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Хильченко С. Р., Запорожец Т. С., Звягинцева Т. Н., Шевченко Н. М., Беседнова Н. Н. Фукоиданы бурых водорослей: влияние элементов молекулярной архитектуры на функциональную активность 9–10 (69–79)  
 Хиндикайнен А. Ю. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Хрупкин В. И. см. Липатов К. В. и др. 5–6 (16–19)

Цвигун Е. А. см. Лавренев С. Н. и др. 7–8 (4–10)

Чапленко А. А., Мельникова Е. В., Рачинская О. А., Олефир Ю. В. Оценка активности препаратов, содержащих клеточные линии человека: перспективные подходы и требования регуляторных органов 9–10 (53–60)  
 Чукина М. А. см. Морозова Т. Е. и др. 9–10 (39–47)

Шабанова Н. Е. см. Ни О. Г. и др. 7–8 (55–61)  
 Шагвалиев А. Г. см. Парфенов С. А. и др. 1–2 (38–43)  
 Шаповалова О. В., Неугодова Н. П., Сапожникова Г. А. Выбор метода определения бактериальных эндотоксинов 5–6 (43–45)  
 Шевченко Н. М. см. Хильченко С. Р. и др. 9–10 (69–79)  
 Шемякина Е. К. Н. А. см. Вереvщиков В. К. и др. 7–8 (47–50)  
 Шитиков Е. А. см. Полонская А. В. и др. 7–8 (33–40)  
 Ших Е. В. см. Лазарева И. В. и др. 1–2 (32–37)  
 Шульдяков А. А., Ляпина Е. П., Соболева Л. А., Романцов М. Г., Перминова Т. А., Кузнецов В. И., Наркайтис Л. С. Использование индукторов интерферона в клинике инфекционных болезней 3–4 (28–36)

Шукина В. Н. см. Логинова С. Я. и др. 9–10 (14–18)  
 Шукина В. Н. см. Логинова С. Я. и др. 11–12 (3–7)

Юдин С. М. см. Гостев В. В. и др. 7–8 (11–16)

Яковлев С. В. см. Ни О. Г. и др. 7–8 (55–61)  
 Якубенко С. В. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)  
 Ян М. Н. см. Блатун Л. А. и др. 3–4 (37–43)  
 Янковская Г. В. см. Куцевалова О. Ю. и др. 11–12 (24–30)



**УДОБНО  
ДЛЯ ВРАЧЕЙ!**



## Универсальный противовирусный препарат

- широкий спектр действия
- высокий профиль безопасности
- прямое противовирусное действие
- индукция эндогенного интерферона
- большой опыт применения



Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой 150 мг, N 10, 20, 50.  
P No01049/02 от 12.12.2007 раствор для в/в и в/м введения 125 мг/мл, 5 ампул по 2 мл.  
P No01049/03 от 28.08.2007 линимент 5%, 5 мл, 30 мл P No01049/01 от 05.03.2010.

ООО «НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ФИРМА «ПОЛИСАН»  
INFO@POLYSAN.RU WWW.POLYSAN.RU

РОССИЯ, 192102, Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ,  
УЛ. САЛОВА, Д. 72, КОР. 2, ЛИТ. А,  
ТЕЛ./ФАКС: +7 (812) 710-82-25

 Интеллект на защите  
здоровья  
**polysan**