

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 62



1-2'2017

Научно-практический журнал



- а) Антибактериальный препарат с широким спектром действия и высокой биодоступностью
- б) Хорошая переносимость, не имеет ярко выраженных побочных действий.
- в) Препарат выбора при лечении инфекций мочевыводящих путей.

ОФЛО®

(офлоксацин)

раствор для инфузий 2 мг/мл

НИ ЦИСТИТА, НИ ПРОСТАТИТА



* А.А. Хрянин, О.В. Решетников

«Перспективы клинического применения офлоксацина в гинекологии и урологии».

Журнал «Антибиотики и химиотерапия» N 11-12.

Рег. уд. П N013434/01



ООО «ЮНИК ФАРМАСЬЮТИКАЛ ЛАБОРАТОРИЗ»

127994, Москва, ул. Тверская, д. 18, корп. 1, каб. 609, тел.: (495) 642-82-34, (495) 642-82-35

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

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77

Факс: 8-499-611-42-38

E-mail: gncajournal@yandex.ru

А. 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 2016

Типография:

ООО «Литера»

Дата выхода: февраль 2017

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 62

1—2'2017

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

Член-корр РАМН, проф., д. м. н. Белоусов Ю. Б.

Проф., д. м. н. Белобородов В. А.

Проф. Говорун В. М.

Проф. Гомберг М. А.

Д. б. н. Даниленко В. Н.

Проф. Климко Н. Н.

Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.

Проф., д. м. н. Никитин А. В.

Проф., д. б. н. Полин А. Н.

Проф., д. х. н. Преображенская М. Н.

Проф. Руднов В. А.

Проф. Тишков В. Н.

Проф., д. б. н. Фирсов 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.

Бибикова М. В.

Васильев А. Н.

Волжанин В. М.

Дмитриева Н. В.

Долгова Г. В.

Захарова Ю. А.

Зуева Л. П.

Ильина Е. Н.

Клясова Г. А.

Ленёва И. А.

Митрохин С. Д.

Романцов М. Г.

Сычев Д. А.

Тец В. В.

Цыбанев А. А.

Ших Е. В.

**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

Тренин А. С., Лавренов С. Н., Мирчинк Е. П.,
Исакова Е. Б., Бычкова О. П., Симонов А. Ю.,
Лакатош С. А., Цвигун Е. А.
Разработка препаратов на основе
трис(1-алкилиндол-3-ил)метана с целью преодоления
лекарственной устойчивости возбудителей
Булгакова В. Г., Орлова Т. И., Полин А. Н.
Факторы, действующие на синтез клеточной стенки
Staphylococcus aureus, и устойчивость к актиномицину D
Ефременкова О. В., Габриэлян Н. И., Маланичева И. А.,
Ефименко Т. А., Сумарукова И. Г., Глухова А. А.,
Бойкова Ю. В., Рогожин Е. А., Королев А. М.,
Коршун В. А., Драбкина И. В.
Антимикробные свойства амикумацина А
Селянская Н. А., Егиазарян Л. А., Головин С. Н.,
Потиевский Э. Г., Веркина Л. М., Железняк Н. Г.
Активность пектина в отношении биоплёнок
холерных вибрионов

В помощь практикующему врачу

Попов А. Ф., Симакова А. И.,
Дмитренко К. А., Щелканов М. Ю.
Повышение противогриппозной эффективности
Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидол®)
путём сочетанного применения с Кагоцелом®
Данилов А. И., Козлов Р. С., Козлов С. Н., Дехнич А. В.
Практика ведения пациентов с инфекционным
эндокардитом в Российской Федерации
Сиренко Н. В., Алексеенко С. И.,
Цурикова Г. П., Волкова М. О.
Паратонзиллярные абсцессы у детей.
Клинико-микробиологические методы исследования

Обзоры

Хрянин А. А., Решетников О. В.
Перспективы клинического применения офлоксацина
в гинекологии и урологии
Сереброва С. Ю., Прокофьев А. Б.,
Журавлева М. В., Городецкая Г. Н.,
Еременко Н. Н., Смоляручук Е. А., Кургузова Д. О.
Эрадикация *H. pylori*: оценка риска и возможности
профилактики межлекарственных взаимодействий

Original Papers

- 3 Trenin A. S., Lavrenov S. N., Mirchink E. P.,
Isakova E. B., Bychkova O. P., Simonov A. Y.,
Lakatosh S. A., Tsvigun E. A.
Compounds Based on Tris(1-alkylindol-3-yl)methan
for Overcoming Drug Resistance
in Pathogens
- 10 Bulgakova V. G., Orlova T. I., Polin A. N.
The Factors that affect *Staphylococcus aureus* Cell
Wall Synthesis and Resistance to Actinomycin D
- 16 Efremenkova O. V., Gabrielyan N. I., Malanicheva I. A.,
Efimenko T. A., Sumarukova I. G., Gluhova A. A.,
Boykova Yu. V., Rogozhin E. A., Korolev A. M.,
Korshun V. A., Drabkina I. V.
Antibacterial Properties of Amicoumycin A
- 20 Selyanskaya N. A., Yegiazaryan L. A., Golovin S. N.,
Potiyevskiy E. G., Verkina L. M., Zheleznyak N. G.
Pectin Activity in Respect
Choleric Vibron Biofilms

Guidelines for Practitioners

- 25 Popov A. F., Simakova A. I.,
Dmitrenko K. A., Shchelkanov M. Yu.
Increased Anti-influenza Efficacy
of Oseltamivir (Tamiflu®) and Umifenovir (Arbidol®)
by Combined Use with Kagocel®
- 30 Danilov A. I., Kozlov R. S., Kozlov S. N., Dekhnic A. V.
Management of Patients with Infectious
in Russian Federation
- 35 Sirenko N. V., Alekseyenko S. I.,
Tsurikova G. P., Volkova M. O.
Peritonsillar Abscess in Children. Clinical and Microbiological
Methods of Investigation

Reviews

- 40 Khryanin A. A., Reshetnikov O. V.
Prospects of Clinical Use of Ofloxacin
in Gynecology and Urology
- 44 Eremanko N. N., Smolyarchuk E. A., Kurguzova D. O.
Eradication of *H. pylori*: Risk Assessment and Possible
Prevention of Drug-Drug Interactions

По страницам журналов 52 Abstracts

* 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.

Разработка препаратов на основе трис(1-алкилиндол-3-ил)метана с целью преодоления лекарственной устойчивости возбудителей

А. С. ТРЕНИН*, С. Н. ЛАВРЕНОВ, Е. П. МИРЧИНК, Е. Б. ИСАКОВА, О. П. БЫЧКОВА,
А. Ю. СИМОНОВ, С. А. ЛАКАТОШ, Е. А. ЦВИГУН

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва

Compounds Based on Tris(1-alkylindol-3-yl)methan for Overcoming Drug Resistance in Pathogens

A. S. TRENIN, S. N. LAVRENOV, E. P. MIRCHINK, E. B. ISAKOVA, O. P. BYCHKOVA,
A. Y. SIMONOV, S. A. LAKATOSH, E. A. TSVIGUN

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

Путём химического синтеза получены соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия — производные трис(1-алкилиндол-3-ил)метана, обладающие высокой антибактериальной и противогрибковой активностью. По своей активности в отношении грамположительных бактерий полученные соли практически не уступали левофлоксацину, а по активности в отношении дрожжей *Candida albicans* и грибов *Aspergillus niger* амфотерицину В. У ряда производных выявлена умеренная активность в отношении грамотрицательных бактерий. Антимикробная активность производных зависела в первую очередь от длины алкильных радикалов, практически не зависела от степени их разветвлённости и оказывалась максимальной при длине радикалов в четыре — пять атомов углерода. Производные трис(1-алкилиндол-3-ил)метана проявили чрезвычайно высокую активность (МПК 0,13—1,0 мкг/мл) как в отношении микроорганизмов, чувствительных к антибиотикам, так и в отношении штаммов, резистентных к лекарственным препаратам, в том числе в отношении клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью. Наиболее активные соединения проявили активность *in vivo* в моделях стафилококкового и кандидозного сепсиса у мышей. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности создания на основе трис(1-алкилиндол-3-ил)метана новых препаратов, способных к преодолению лекарственной устойчивости возбудителей.

Ключевые слова: антибактериальные и противогрибковые антибиотики, производные трис(1-алкилиндол-3-ил)метана, соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия, аналоги турбомицина А, множественная лекарственная устойчивость, антимикробная активность *in vitro* и *in vivo*, модель стафилококкового и кандидозного сепсиса у мышей.

Tris(1-alkylindol-3-yl)methyl salts that are tris(1-alkylindol-3-yl)methan derivatives with high antibacterial and antifungal activity were obtained through chemical synthesis. These salts were practically not inferior to levofloxacin in their activity against Gram-positive bacteria and were almost as good as amphotericin B against yeast *Candida albicans* yeast or *Aspergillus niger* fungi. Several derivatives demonstrated moderate activity against Gram-negative bacteria. Antimicrobial activity of derivatives depended primarily on the length of their alkyl radicals, was maximal when radicals had four — five carbon atoms and practically did not practically depend on radical branching. Tris(1-alkylindol-3-yl)methan derivatives revealed an extremely high activity (MIC 0.13—1.0 µg/ml) against bacteria that are sensitive to antibiotics and resistant strains, including multidrug-resistant clinical isolates. The most active compounds showed activity *in vivo* in staphylococcal and candida sepsis models in mice. These results testify to the prospects of the development of new drugs on the basis of tris(1-alkylindol-3-yl)methan capable to overcome drug resistance in pathogens.

Keywords: antibacterial and antifungal antibiotics, tris(1-alkylindol-3-yl)methan derivatives, tris(1-alkylindol-3-yl)methyl salts, turbomycin A analogues, antimicrobial activity *in vitro* and *in vivo*, multi drug resistance, staphylococcal and candida sepsis models in mice.

Введение

В связи с необходимостью создания препаратов, преодолевающих лекарственную устойчивость возбудителей инфекционных заболеваний,

особое внимание исследователей обращено к новым классам химических соединений [1—3].

Разработанные нами ранее методы синтеза симметричных трис(1-алкилиндол-3-ил)метанов с их последующим окислением позволили получить соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия [4], обладающие как высокой цитотоксичностью в отношении опухолевых клеток, так и значительной антимикробной активностью в отношении бакте-

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: 119021 Москва, Большая Пироговская, 11. НИИНА им. Г. Ф. Гаузе. E-mail: as-trenin@mail.ru

риальных и грибных тест-культур [5]. Являясь аналогами природного антибиотика турбомицина А, впервые выделенного в качестве продукта микробного метаболизма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [6] и получаемого впоследствии с помощью метагеномного подхода при клонировании генетического материала, содержавшегося в образцах почвы [7–9], соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия, получаемые в НИИНА им. Г. Ф. Гаузе путём химического синтеза, значительно превосходят исходный антибиотик как по спектру, так и по уровню своей биологической активности [5]. Изучение соединений этой группы, выявление присущих им закономерностей «структура–активность» и, соответственно, определение перспективных направлений дальнейшей химической модификации могут способствовать созданию новых лекарственных препаратов, в том числе преодолевающих лекарственную устойчивость.

С этой целью нами проведена дальнейшая химическая модификация соединений указанной группы. Полученные соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия были испытаны в отношении широкого набора бактериальных тест-культур, резистентных к применяемым в настоящее время химиотерапевтическим препаратам. Ряд соединений проявили высокую активность. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования соединений группы трис(1-алкилиндол-3-ил)метана для создания препаратов, преодолевающих лекарственную устойчивость.

Материал и методы

Получение и очистка солей трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия, реактивы и материалы. Методы получения и очистки солей трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия описаны ранее [4, 5]. Тестированию подвергали растворы препаратов производных трисиндолилметилия в диметилсульфоксиде (ДМСО). Препаратами сравнения для оценки антимикробного действия тестируемых препаратов служили левофлоксацин («Белмедпрепараты РУП», Беларусь) и амфотерицин В («Sigma», США). 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 антибиотиков, 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. Клинические изоляты — *Staphylococcus aureus* 10, *Staphylococcus aureus* 3798, *Staphylococcus epidermidis* 533, *Staphylococcus haemolyticus* 602, *Enterococcus faecalis* 560, *Enterococcus faecium* 569; коллекционные культуры — *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus aureus* ATCC 700699, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae*

ATCC 13883, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 14053, *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Питательные среды для бактериальных штаммов: бульон и агар Мюллера–Хинтона готовили из сухих сред (Mueller Hinton broth and Mueller Hinton agar, Acumedia, Baltimore) и стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин. Для культивирования *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis* использовали готовую сухую среду — Триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). При культивировании *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* использовали готовую сухую среду — Колумбийский агар (Columbia Agar Base, BBL). Среда стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин.

Для культивирования дрожжей применяли агар Сабуро (пептон — 10 г, глюкоза — 40 г, агар — 20 г, дистиллированная вода — 1 л, pH 6,0), при культивировании мицелиальных грибов использовали картофельно-глюкозный агар (картофель — 200 г, глюкоза — 20 г, агар — 15 г, дистиллированная вода — 1 л, pH 5,5–6,0), которые готовили из соответствующих ингредиентов и стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при 110°C, при 0,5 атм.

Необходимая для постановки опыта с грибами среда RPMI 1640 с L-глутамином, без бикарбоната натрия, была приготовлена из готовой 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, USA) и доведения кислотности 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).

Культуры бактерий выращивали на плотных питательных средах (триптиказо-соевый или Колумбийский агар) в течение 24 ч и хранили в виде скошенных столбиков при 4°C. Долгосрочное хранение бактериальных штаммов проводили при температуре -80°C в микропробирках, содержащих соответствующие готовые питательные среды, используемые для хранения микробных культур.

Культуры дрожжей *C. albicans* ATCC 14053 и грибов *A. niger* ATCC 16404 выращивали и хранили на плотных питательных средах (картофельный агар) в виде скошенных столбиков, залитых 50% раствором глицерина, при -70°C. Для краткосрочного хранения культуры помещали на агаровые скошенные столбики при -4°C. Дрожжи перед использованием в опыте выращивали на агаре Сабуро в течение 24 ч при 35°C для получения свежей культуры. Грибы перед использованием в опыте выращивали на картофельном агаре в течение 7 дней при 35°C для получения максимальной споруляции.

Определение антимикробной активности тестируемых соединений *in vitro*. Определение антибактериальной активности производили путём определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде Мюллера–Хинтона с использованием микрометода и 96-луночных стерильных планшетов [10]. Определение МПК испытуемых соединений в отношении культур дрожжей и мицелиальных грибов проводили методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде в соответствии с требованиями руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [11], а также с требованиями Американского национального комитета клинических лабораторных стандартов [12, 13].

Определение антибактериальной активности *in vitro*. Для экспериментов по определению антибактериальной активности тестируемых соединений готовили инокулюм бактериальных культур, для чего использовали чистую суточную культуру грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, выращенных на соответствующих плотных питательных средах. В стерильном изотоническом растворе NaCl готовили взвесь микроорганизмов, доводя плотность инокулюма до 0,5

по стандарту МакФарланда ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Затем полученный инокулят разводили до концентрации 5×10^5 КОЕ/мл бульоном Мюллера–Хинтона и использовали в течение 15 мин после приготовления. Чистоту бактериальных штаммов контролировали путём посева на селективные среды и последующего микроскопирования [10].

Исходные растворы испытуемых соединений готовили в ДМСО в концентрации 1000 мкг/мл; полученный раствор затем разводили стерильной водой до концентрации 128 мкг/мл.

При постановке эксперимента в лунки каждого планшета вносили по 100 мкл бульона Мюллера–Хинтона; в первую лунку вносили испытуемое соединение в концентрации 128 мкг/мл в объёме 100 мкл и последовательным двукратным разведением доводили его концентрацию до 0,25 мкг/мл. Затем в каждую лунку вносили по 100 мкл заранее приготовленного инокулюма, что приводило к разведению концентрации изучаемых соединений в два раза. Каждый препарат в эксперименте титровали дважды. В качестве контроля включали лунки, не содержащие тестируемых веществ (контроль роста культуры). Кроме того, ставился контроль чистоты питательных сред и растворителей. Планшеты инкубировали в термостате при 36°C в течение 24 ч.

МПК определяли как минимальную концентрацию препарата, полностью предотвращающую рост тест-организма.

Определение противогрибковой активности *in vitro*. Для экспериментов по определению антифунгальной активности тестируемых соединений использовали культуру дрожжей *C. albicans* ATCC 14053 и культуру грибов *A. niger* ATCC 16404. Перед использованием в опыте дрожжи выращивали на агаре Сабуро при 35°C в течение 24 ч, а грибы — на картофельном агаре при 35°C в течение 7 дней. Непосредственно перед постановкой эксперимента по выявлению активности изучаемых препаратов готовили посевную суспензию (инокулят) тест-организмов.

Для приготовления инокулята использовали суспензию клеток дрожжей и суспензию спор грибов в стерильном физиологическом растворе (0,85 % NaCl), доводя её до определённой плотности. Оптическую плотность исходной суспензии дрожжей контролировали спектрофотометрически, добиваясь $D=0,11$ при длине волны 530 нм. Такую суспензию дрожжевых клеток разводили 1:1000 стандартной средой (RPMI 1640) для получения суспензии инокулята, содержащего двукратную, по сравнению с опытом, концентрацию клеток. Конечная концентрация дрожжевых клеток в опыте составляла $1\text{--}5 \times 10^3$ клеток/мл.

Суспензию спор грибов подводили до оптической плотности 0,09–0,11 и разводили стандартной средой (RPMI 1640) в 100 раз. Конечная концентрация спор грибов в опыте составляла $0,4\text{--}5 \times 10^4$ клеток/мл. Количество клеток в инокуляте проверяли путём посева на агар Сабуро и подсчёта выросших колоний.

Тестируемые вещества растворяли в ДМСО с начальной концентрацией 2000 мкг/мл и в том же растворителе готовили серии двукратных разведений от 2000 до 1,5 мкг/мл. Затем полученные растворы в ДМСО разводили в 50 раз в стандартной используемой для опыта среде RPMI 1640. При постановке опыта (т.е. при смешивании с инокулятом тест-микроорганизмов, приводившему к дальнейшему двукратному разведению) конечная концентрация растворителя снижалась до 1%. Все растворы тестируемых препаратов готовили непосредственно перед использованием. Препаратом сравнения служил амфотерицин В (Sigma, USA).

Эксперименты проводили в стерильных 96-луночных плоскодонных планшетах. Для этого в лунки каждого планшета вносили сначала по 100 мкл растворов серийных разведений тестируемых препаратов (среда RPMI 1640, содержание ДМСО–2%), а затем по 100 мкл раствора инокулята тест-культуры. Конечная концентрация препаратов в опыте после внесения микробных инокулятов составляла от 20 до 0,15 мкг/мл при концентрации растворителя (ДМСО) 1%. Каждый препарат в эксперименте присутствовал не менее, чем в трёх повторях. В

панель эксперимента в качестве контроля включали лунки, не содержащие тестируемых препаратов или растворителя.

Планшеты инкубировали при 35°C . Оценку роста культур проводили визуально. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) противогрибковых препаратов считывали через 24 ч культивирования для *C. albicans* и 48 ч культивирования для *A. niger*. МПК определяли как минимальную концентрацию препарата, полностью предотвращающую рост тест-организма.

Определение антимикробной активности тестируемых соединений *in vivo*. Определение активности соединений *in vivo* проводили с использованием модели микробного сепсиса у мышей, заражённых либо культурой золотистого стафилококка, либо культурой дрожжей *C. albicans*.

Модель стафилококкового сепсиса мышей. Мышей колонии SHK массой 18–20 г, полученных из Центрального питомника РАМН «Крюково», инфицировали внутривенно культурой *S. aureus* №10 (клинический изолят). Учёт гибели мышей проводили ежедневно в течение 10 дней. Первоначально определяли летальную дозу (LD_{100}) стафилококка, необходимую для гибели всех животных данной линии мышей при внутривенном пути заражения. Затем с помощью стафилококка, взятого в летальной дозе, определяли дозу препарата, способствующую выживанию половины животных (ED_{50}). Для этого мышей разделяли на несколько групп по 10 животных в каждой и через 1 ч после заражения животным, заражённым летальной дозой стафилококка, перорально вводили испытуемый препарат в различных дозах и кратности введения. Одну группу мышей, заражённых летальной дозой стафилококка, оставляли без лечения (контрольная группа). Учёт гибели животных проводили ежедневно в течение 10 дней. ED_{50} испытуемого препарата определяли по гибели животных, используя метод Баренса (накопления частот) [14].

Модель кандидозного сепсиса мышей. Использовали метод, описанный ранее [15]. Мышей колонии Balb/c массой 20–22 г, полученных из Центрального питомника РАМН «Крюково», содержали в виварии Института на стандартном рационе брикетированных кормов со свободным доступом к питьевой воде. После двухнедельного карантина здоровые животные использовались в экспериментальной работе. В качестве инфекционного агента использовали дрожжевую культуру *C. albicans* ATCC 14053. Растворы испытуемого препарата готовили *ex tempore*.

Мышей рассаживали в клетки по 4 шт. и заражали внутривенно культурой *C. albicans* (0,1 мл) в дозе 1,0 млн КОЕ на мышь. Через 30 мин после заражения мышам проводили первое внутривенное введение испытуемого препарата в соответствующей дозе и кратности в объёме 0,2 мл (скорость введения 0,2 мл/30 с).

В опыте присутствовала группа не лечённых, заражённых *C. albicans* животных. Также присутствовала группа «плацебо», т.е. интактных не заражённых животных, которым внутривенно (в том же объёме что и лечебные препараты) вводили 0,2 мл физиологического раствора.

На 4-й день опыта мышей умерщвляли путём шейной дислокации. Затем в стерильных условиях животных из каждой группы вскрывали, брали почки, взвешивали, растирали в фарфоровых ступках со стерильным корундом, делали разведения полученных суспензий и высевали на чашки Петри с агаром Сабуро. Инкубацию проводили 24 ч при температуре 35°C , после чего подсчитывали выросшие колонии *C. albicans* и проводили пересчёт их количества на 1 г ткани почек. Полученные данные после математической обработки вносили в таблицу.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием компьютерных программ Statgraf и Microsoft Excel, рассчитывали средние арифметические значения, доверительные интервалы и стандартное отклонение. Достоверность различий между средними величинами оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Таблица 1. Структура производных трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия 1a — h

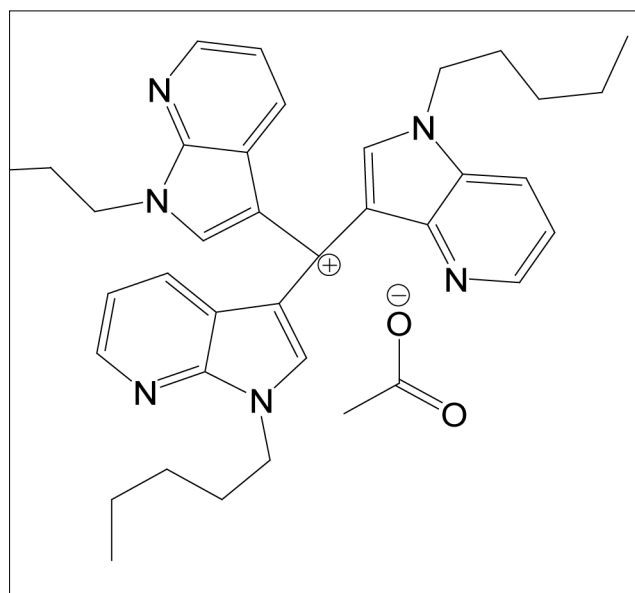
$X^- = \text{MeSO}_3^-$ Для 1e и 1h:
 $X^- = \text{Cl}^-$

Соединение	R	Название заместителя	М.м
1a	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	<i>n</i> -пропил	486,7
1b	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	<i>n</i> -бутил	528,8
1c	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	втор-бутил	528,8
1d	$-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	<i>n</i> -пентил	665,9
1e	$-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	<i>n</i> -пентил	606,3
1f	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	изоамил	665,9
1g	$-\text{CH}_2-$	бензил	725,9
1h	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{Cl}^-$	<i>N</i> -диметиламинопропил гидрохлорид	618,9

Результаты и обсуждение

Ранее соединения трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия показали высокую антимикробную активность, главным образом, в отношении грамположительных бактерий, грибов, а также выраженную цитотоксическую активность в отношении линий опухолевых клеток [5]. Активность соединений сильно зависела от длины алкильной цепи в заместителе (радикал R) в трииндолилметильных группировках и возрастала с увеличением числа атомов углерода в алкильных цепях до четырех — пяти. Поскольку дальнейшее удлинение радикала сопровождалось уменьшением и резким падением биологической активности производных, в проводимых нами дальнейших химических модификациях была поставлена цель — использовать относительно небольшие радикалы, содержащие не более шести атомов углерода. В отличие от синтезированных ранее производных вновь синтезированные соединения обладали, в основном, разветвлёнными радикалами, или, вместо индольных, имели 7-азаиндольные циклы (табл. 1, рисунок). Ранее отдельные производные трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия проявили себя в тест-системах, широко используемых нами для отбора противоопухолевых антибиотиков [16, 17].

Было целесообразно оценить антимикробную активность новых производных, в том числе их активность в отношении бактериальных штам-



Структура производного 1i

мов, обладающих резистентностью к антибиотикам, сравнить с активностью других ранее синтезированных соединений и определить действие производных (как новых, так и полученных прежде) на штаммы, обладающие множественной лекарственной устойчивостью. Кроме того было целесообразно оценить действие наиболее активных соединений в экспериментах *in vivo*.

Таблица 2. Антимикробная активность производных трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия 1a — g

Соединение	МПК, мкг/мл													
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>S.aureus</i> (GISA) 3798	<i>S.aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)	<i>S.aureus</i> ATCC 700699	<i>S.epi- dermidis</i> 533	<i>S.haemo- liticus</i> 602	<i>E.faeca- lis</i> 560 (GRE)	<i>E.fae- cium</i> 569 (GRE)	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>K.pneu- moniae</i> ATCC 13883	<i>S.chole- rasuis</i> ATCC 14028	<i>P.aeru- ginosa</i> ATCC 27853	<i>C.albi- cans</i> ATCC 14053	<i>A.niger</i> ATCC 16404
Контроль	0,25 (Лф)	32,0 (Лф)	0,25 (Лф)	16,0 (Лф)	0,5 (Лф)	0,5 (Лф)	0,5 (Лф)	1,0 (Лф)	0,06 (Лф)	0,25 (Лф)	0,13 (Лф)	1,0 (Лф)	1,0 (АмВ)	1,0 (АмВ)
1a	—	0,5	—	—	0,25	0,5	1,0	1,0	8,0	—	16,0	32,0	1,0	2,0
1b	0,13	0,5	0,13	1,0	0,25	0,5	0,5	0,5	4,0	4,0	16,0	4,0	1,0	1,0
1c	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,25	—	0,25	8,0	16,0	16,0	8,0	1,0	2,0
1d	0,25	1,0	0,25	0,5	1,0	1,0	2,0	2,0	8,0	8,0	4,0	8,0	1,0	1,0
1e	0,25	0,25	1,0	0,5	0,13	0,5	0,13	0,13	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	1,0	1,0
1f	0,13	0,13	0,13	>64,0	0,13	0,13	0,13	0,5	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	1,0	1,0
1g	1,0	2,0	0,25	1,0	1,0	1,0	2,0	1,0	>64,0	>64,0	>64,0	>64,0	2,0	2,0

Примечание. МПК — минимальная подавляющая концентрация; Лф — левофлоксацин (для бактерий); АмВ — амфотерицин В (для грибов).

Антимикробная активность производных трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия была изучена в отношении коллекционных штаммов и клинических изолятов грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также в отношении коллекционных штаммов грибов (табл. 2). Препаратами сравнения для оценки антибактериальной и противогрибковой активности испытуемых соединений служили антибактериальный фторхинолоновый антибиотик третьего поколения левофлоксацин и полиеновый противогрибковый антибиотик амфотерицин В.

Анализ антимикробной активности проводился как в отношении штаммов, полностью чувствительных к существующим антибиотикам (*S.aureus* ATCC 25923), так и штаммов, обладающих резистентностью к различным препаратам. Среди последних были культуры, устойчивые как к отдельным препаратам, например, *S.epidermidis* 533, резистентный только к гентамицину, так и штаммы, обладающие устойчивостью к нескольким антибиотикам одновременно. Например, коллекционная культура *S.aureus* ATCC 43300 обладает устойчивостью к пенициллинам и цефалоспорином и является, таким образом, метициллинорезистентным штаммом золотистого стафилококка (MRSA). Клинический изолят *S.aureus* 3798 проявляет резистентность не только к пенициллинам и цефалоспорином, но также к целому ряду других антибиотиков. Кроме того, он демонстрирует промежуточную чувствительность к гликопептидным антибиотикам (группа GISA). Подобно штамму *S.aureus* ATCC 700699, он устойчив также к фторхинолоновому антибиотику ципрофлоксацину.

Полирезистентные штаммы энтерококков *E.faecalis* 560 и *E.faecium* 569 обладают устойчивостью к цефалоспорином, гентамицину, а также к ванкомицину, т.е являются гликопептидорезистентными энтерококками (GRE).

Кроме того, в качестве тест-культур были использованы полирезистентные штаммы грамотрицательных бактерий *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 13883, *S.choleraesuis* ATCC 14028, *P.aeruginosa* ATCC 27853, а также коллекционные культуры дрожжей *C.albicans* ATCC 14053 и грибов *A.niger* ATCC 16404.

Все приведённые в табл. 2 производные обладают выраженной активностью в отношении грамположительных бактерий и грибов — дрожжевой культуры *C.albicans* ATCC 14053 и грибной культуры *A.niger* ATCC 16404. По действию на грибы они практически не уступают амфотерицину В.

Ряд производных (1b — 1d) активны не только в отношении грамположительных, но также в отношении грамотрицательных бактерий, правда в этом отношении они значительно уступают левофлоксацину.

Важно отметить, что представленные производные 1a — 1g чрезвычайно активны в отношении бактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью.

Активность двух солей n-пентильных производных трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия — 1d и 1e немного различается: метилсульфонатная соль 1d проявляет несколько меньшую активность по сравнению с хлоридом в действии на грамположительные бактерии, но вместе с тем, большую в действии на грамотрицательные бактерии, хотя, в целом, с учётом относительно невысокой активности в отношении грамотрицательных бактерий, указанные различия, по-видимому, не следует признавать существенными.

Производные с разветвлёнными радикалами — втор-бутильное (1c) и изоамильное (1f) практически не уступают соответствующим производным 1b и 1e, имеющим прямые алкильные радикалы с аналогичным числом атомов углерода.

N-диметил аминопропильное производное 1h (см. табл. 1), имеющее в своей структуре также

разветвлённые радикалы, было полностью неактивным, что, возможно, объясняется как введением в состав радикалов атомов азота, так и общим удлинением радикалов, затрудняющим вращение индольных колец относительно оси (hub) и, таким образом, преобладанием конформаций, не способных к эффективному взаимодействию с внутриклеточной мишенью.

Лишенным антимикробной активности оказалось также производное **1i** (рисунок), имеющее п-пентильные радикалы, характерные для самых активных производных, но, вместе с тем, обладающее серьёзным изменением в структуре индольных колец, состоящим в замещении одного из атомов углерода на атом азота в структуре каждого кольца. Утрата активности у таких производных свидетельствует о значительной роли индольных циклов в общей структуре производных трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия и их необходимости для максимального проявления биологической активности рассматриваемой группы соединений.

Два соединения — п-бутильное (**1b**) и п-пентильное (**1e**) производные, проявившие наибольшую активность в экспериментах *in vitro*, были испытаны в модельных экспериментах на животных при внутривенном введении мышам.

При стафилококковом сепсисе мышей оба соединения способствовали снижению смертности животных на 20%. Соединение **1b** показало свою эффективность при однократном введении в дозах 4,5 и 5,5 мг/кг, а соединение **1e** было наиболее эффективным при 5-кратном введении в дозе 0,5 мг/кг.

Испытание соединения **1e** в модели кандидозного сепсиса мышей показало, что при его 4-кратном введении в дозе 0,25, 0,5 и 1,0 мкг/кг наблюдается достоверное снижение количества клеток возбудителя *C.albicans* в почечной ткани заражённых животных. Наблюдаемый эффект имел

дозозависимый характер и был максимальным при введении препарата в дозе 1 мг/кг в течение 4 суток.

Таким образом, испытание солей трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия показало наличие у них антимикробного эффекта *in vivo*.

Выводы

1. Путём химического синтеза получены соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия — производные трис(1-алкилиндол-3-ил)метана, обладающие высокой антимикробной активностью и по своему действию в отношении грамположительных бактерий практически не уступающие левофлоксацину, а по противогрибковой активности — амфотерицину В. Отдельные производные обладают умеренной активностью в отношении грамотрицательных бактерий.

2. Антимикробная активность производных зависит от длины алкильных радикалов и практически не зависит от степени их разветвлённости.

3. Наиболее активные соединения с длиной алкильных радикалов в четыре и пять атомов проявили себя в моделях стафилококкового и кандидозного сепсиса у мышей, подтверждая наличие у них антимикробного действия *in vivo*.

4. Полученные производные чрезвычайно высокоактивны в отношении бактериальных штаммов, резистентных к антибиотикам, в том числе в отношении клинических изолятов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, что свидетельствует о перспективности соединений на основе трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия в создании препаратов, способных к преодолению лекарственной устойчивости.

Благодарности.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Тренин А.С. Методология поиска новых антибиотиков: состояние и перспективы. *Антибиотики и химиотерапия* 2015; 60: 7–8: 34–46. / Trenin A.S. Metodologiya poiska novykh antibiotikov: sostoyanie i perspektivy. *Antibiotiki i khimioter* 2015; 60: 7–8: 34–46. [in Russian]
2. Shallicross L.J., Davies S.C. The World Health Assembly resolution on antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69: 11: 2883–2885.
3. Sunazuka T., Hirose T., Omura S. Efficient total synthesis of novel bioactive microbial metabolites. *Acc Chem Res* 2008; 41: 2: 302–314.
4. 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. *Bioorg Med Chem* 2010; 18: 18: 6905–6913.
5. Степанова Е.В., Штиль А.А., Лавренов С.Н. и др. Соли трис(1-алкилиндол-3-ил)метилия — новый класс противоопухолевых соединений. *Известия Академии наук. Серия хим* 2010; 12: 1–9. / Stepanova E.V., Shil' A.A., Lavrenov S.N. i dr. Soli tris(1-alkilindol-3-il)metilija — novyj klass protivopukholevykh soedinenij. *Izvestija Akademii nauk. Serija khim* 2010; 12: 1–9. [in Russian]
6. Budzikiwicz H., Eckau H., Ehrenberg M. Bis (3-indolyl)-3Hindolyidenmethan, ein von Saccharomyces cerevisiae Gebildeter Farbstoff. *Tetrahedron Lett* 1972; 36: 3807–3810.
7. Gillespie D.E., Brady S.F., Bettermann A.D. et al. Isolation of antibiotics turbomycin A and B from a metagenomic library of soil microbial DNA. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 9: 4301–4306.

8. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004; 68: 4: 669–685.
9. Brady S.F., Simmons L., Kim J.H., Schmidt E.W. Metagenomic approaches to natural products from free-living and symbiotic organisms. *Nat Prod Rep* 2009; 26: 11: 1488–1503.
10. Рекомендации Национального Комитета Клинических Лабораторных Стандартов США (NCCLS). NCCLS Reference Method for Broth Dilution Antibacterial Susceptibility Testing, USA 2000. / Rekomendacii Nacional'nogo Komiteta Klinicheskikh Laboratornykh Standartov SSHA (NCCLS). NCCLS Reference Method for Broth Dilution Antibacterial Susceptibility Testing, USA 2000. [in Russian]
11. Кубанова А.А., Степанова Ж.В., Гуськова Т.А., Пушкина Т.В., Крылова Л.Ю., Шилова И.Б., Тренин А.С. Методические указания по изучению противогрибковой активности фармакологических веществ. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012; 944. / Kubanova A.A., Stepanova Zh.V., Gus'kova T.A., Pushkina T.V., Krylova L.Ju., Shilova I.B., Trenin A.S. Metodicheskie ukazaniya po izucheniju protivogribkovoij aktivnosti farmakologicheskikh veshhestv. V kn.: Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Chast' 1. / Pod red. A.N. Mironova. M.: Grif i K, 2012; 944. [in Russian]
12. Clinical and laboratory standards institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. In Third International Supplement CLSI M27-S3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania. 2013.

13. Clinical and laboratory standards institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. In approved standart. 2nd ed CLSI M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania. 2008.
14. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: Медгиз, 1963; 45—49. / *Belen'kij M.L. Jelementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo jeffekta. Leningrad: Medgiz, 1963; 45—49. [in Russian]*
15. Brautaset T., Sletta H., Nedal A., et al. Improved antifungal polyene macrolides via engineering of the nystatin biosynthetic genes in *Streptomyces noursei*. *Chem Biol* 2008 Nov 24; 15: 11: 1198—1206.
16. Тренин А.С. Микробная модель *Halobacterium salinarum* для поиска ингибиторов биосинтеза стеролов. *Антибиотики и химиотер* 2013; 58: 5—6: 3—10. / *Trenin A.S. Mikrobnaja model' Halobacterium salinarum dlja poiska ingibitorov biosinteza sterolov. Antibiotiki i khimioter* 2013; 58: 5—6: 3—10. [in Russian]
17. Тренин А.С., Цвигун Е.А., Бычкова О.П., Лавренов С.Н. Микробная модель *Halobacterium salinarum* в отборе синтетических аналогов антибиотика турбомуцина А, обладающих противоопухолевым действием. *Антибиотики и химиотер* 2013; 58: 9—10: 3—7. / *Trenin A.S., Tsvigun E.A., Bychkova O.P., Lavrenov S.N. Mikrobnaja model' Halobacterium salinarum v otbore sinteticheskikh analogov antibiotika turbomicina A, obladajushhikh protivopukholevym dejstviem. Antibiotiki i khimioter* 2013; 58: 9—10: 3—7. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

Лавренов Сергей Николаевич — к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА», Москва

Мирчинк Елена Павловна — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА», Москва

Исакова Елена Борисовна — научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА», Москва

Бычкова Ольга Петровна — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории Разработки методов поиска биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА», Москва

Симонов Александр Юрьевич — к.х.н., научный сотрудник лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА»

Лакатош Сергей Александрович — к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА», Москва

Цвигун Елена Анатольевна — научный сотрудник лаборатории Разработки методов поиска биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА», Москва

Факторы, действующие на синтез клеточной стенки *Staphylococcus aureus*, и устойчивость к актиномицину D

В. Г. БУЛГАКОВА, Т. И. ОРЛОВА, А. Н. ПОЛИН

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

The Factors That Affect *Staphylococcus Aureus* Cell Wall Synthesis and Resistance to Actinomycin D

V. G. BULGAKOVA, T. I. ORLOVA, A. N. POLIN

Lomonosov Moscow State University, Moscow

Клетки штамма *Staphylococcus aureus* R80, устойчивого к актиномицину D, обладают клеточной стенкой, утолщённой за счёт дополнительного синтеза пептидогликана. Внесение в среду D-серина или D-треонина, модифицирующих предшественники пептидогликана значительно снижает устойчивость штамма R80 к актиномицину D. Субингибиторные концентрации антибиотика туникамицина — эффективного ингибитора синтеза стеночных тейхоевых кислот *S. aureus*, не влияющих на рост микроорганизма, также вызывают значительное увеличение чувствительности штамма R80 к актиномицину D. Изменения, вызываемые в композиции пептидогликана D-аминокислотами, а также ингибирование синтеза стеночных тейхоевых кислот повышает, по-видимому, проницаемость клеточной стенки у устойчивого штамма *S. aureus* R80 для актиномицина D.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, устойчивость, актиномицин D, туникамицин.

The cells of the strain *S. aureus* R80 strain, resistant to actinomycin D, possess a cell wall, thickened as a result of additional synthesis of peptidoglycan. Addition of D-serine or D-threonine to the environment modify the precursors of peptidoglycan and significantly decreases the strain R80 strain resistance to actinomycin D. Subinhibitory concentrations of an antibiotic tunicamycin — effective inhibitor of synthesis of wall teichoic acids *S. aureus* — do not affect the growth of microorganism but produce a significant increase of sensitivity of the strain R80 strain to actinomycin D. The modification of the composition of peptidoglycan by D-aminoacids as well as the inhibition of the synthesis of wall teichoic acids are likely to increase permeability of a cell wall of the resistant strain *S. aureus* R80 strain for actinomycin D.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, resistance, actinomycin D, tunicamycin.

Развитие устойчивости грамположительных бактерий к некоторым антибиотикам сопровождается утолщениями и уплотнением клеточных стенок микроорганизмов. Значительное утолщение клеточной стенки обнаруживается у клеток *Staphylococcus aureus*, устойчивых к ванкомицину [1—3], тейкопланину [4], амикацину [5], актиномицину D [6] и грамицидину S [7]. Утолщённая клеточная стенка препятствует проникновению антибиотика к мишени его действия, при этом часто наблюдается снижение связывания препарата клеткой [3, 8, 9].

Утолщение клеточной стенки *S. aureus* обусловлено активированием процесса синтеза пептидогликана, при этом в пептидогликане обнаруживается ряд структурных изменений. Устойчивость *S. aureus* к гликопептидным антибиотикам определяется не только утолщением клеточной стенки, но и заменой в мурамопептиде С-концевого ди-

пептида D-аланил-D-аланина на дипептид D-аланил-D-лактат или D-аланил-D-серин. Модифицирование пептидогликана препятствует связыванию антибиотика с клеткой [10—12].

Показана возможность воздействия на процесс биосинтеза предшественников пептидогликана и, соответственно, на структуру этого компонента различных факторов [13—14]. При этом может происходить значительное снижение антибиотикоустойчивости. Экзогенный глицин приводит к замещению D-аланина в С-концевых мурамопептидах пептидогликана *S. aureus* на глицин — при росте на среде с глицином стафилококк практически теряет устойчивость к метициллину [15, 16].

При росте на средах с D-аминокислотами происходит замещение этими соединениями D-аланина в предшественниках пептидогликана [14, 15], при этом резко снижается устойчивость к метициллину [15].

В то же время, при утолщении клеточной стенки *S. aureus*, связанным с развитием устойчивости к липопептидному антибиотику даптоми-

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: 119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12. Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова

цину, не происходит существенных изменений в количестве или структуре пептидогликана, но наблюдается значительное увеличение синтеза второго основного компонента стенки — стеночных тейхоевых кислот. Одновременно возрастает уровень D-аланилирования этих соединений [17, 18].

Подавление синтеза стеночных тейхоевых кислот снижает устойчивость метициллиноустойчивых стафилококков к β -лактамам, происходит «восстановление» чувствительности к этим антибиотикам [19–22].

Ранее нами было показано утолщение клеточных стенок *S. aureus* при развитии устойчивости к актиномицину D [6]. Внесение в среду глицина значительно снижало устойчивость к актиномицину D адаптированного к этому антибиотику штамма *S. aureus* R80 [23].

В данной работе исследовали влияние факторов, воздействующих на синтез компонентов клеточной стенки *S. aureus* (D-аминокислот и ингибитора синтеза стеночных тейхоевых кислот), на устойчивость этого микроорганизма к актиномицину D.

Материал и методы

В работе использовали штамм *Staphylococcus aureus* 209P и штамм *S. aureus* R80 с устойчивостью к актиномицину D. Устойчивый к этому антибиотику штамм стафилококка получали путём последовательных пересевов штамма 209P на среде с возрастающими концентрациями актиномицина. Штамм стабильно сохраняет устойчивость при культивировании на среде без антибиотика. Исследования проводили с использованием мясо-пептонного бульона (МПБ) (бульон Хоттингера производства НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН или НИЦФ С-Петербург) и мясо-пептонного агара (МПА), приготовленного с использованием этих МПБ. Рост культур на МПБ оценивали по оптической плотности культуральной жидкости после инкубации при 37°C в течение 18 ч.

Минимальные подавляющие рост стафилококка концентрации (МПК) актиномицина определяли путём дробного титрования на жидкой и агаризованной средах.

Для изучения влияния D-серина и D-треонина (препараты Sigma) на рост культур в среду добавляли эти аминокислоты до концентрации 0,1 М.

Связывание актиномицина клетками стафилококка определяли по [24]. Актиномицин экстрагировали из центрифугатов суспензий клеток, инкубировавшихся с антибиотиком, или из контрольных растворов препарата этилацетатом. Экстракты обезвоживали безводным сульфатом натрия и измеряли поглощение экстракта при 445 нм на приборе Specol.

Содержание актиномицина в экстрактах рассчитывали по кривым, построенным для стандартных растворов антибиотика.

Препараты актиномицина D были получены микробиологическим синтезом, выделены и очищены в лаборатории антибиотиков биологического факультета МГУ. Использовали препараты туникамицина фирмы MP Biomedicals, LLC,

Франция. В качестве исходного использовали раствор туникамицина в ДМСО.

Результаты и обсуждение

При развитии устойчивости стафилококка к актиномицину D происходило значительное утолщение клеточных стенок за счёт активного синтеза пептидогликана [6]. Содержание мурамовой кислоты — специфического компонента пептидогликана, позволяющего оценить относительное содержание пептидогликана в исследуемом материале, составляло 3,1 мкмоль на 100 мг сухой биомассы исходного штамма стафилококка и 12 мкмоль на 100 мг сухой биомассы штамма R80 [23].

Добавление глицина в среду культивирования устойчивого к этому антибиотику штамма *S. aureus* R80, приводящее к замещению C-концевого D-аланина на глицин, вызывало снижение уровня устойчивости к актиномицину D на 60–70% [23].

Среди факторов, влияющих на синтез предшественников пептидогликана *S. aureus* и модифицирующих пептидогликан, отмечены некоторые D-аминокислоты. При росте культуры в присутствии D-аминокислоты образуются предшественники пептидогликана, в которых C-концевые D-аланиновые остатки замещены остатками D-аминокислоты [14, 16].

Определяли влияние аминокислот D-серина и D-треонина на устойчивость к актиномицину штамма *S. aureus* R80 при росте на жидкой (МПБ) и плотной (МПА) средах.

Особенностью действия актиномицина на стафилококк является более высокая чувствительность этого микроорганизма к антибиотику на плотной среде по сравнению с жидкой средой. Подавление роста *S. aureus* на МПА происходит при более низких концентрациях антибиотика, чем при росте на МПБ (табл. 1). Однако проведение исследований с использованием жидкой среды позволяет более точно определить уровень устойчивости к актиномицину при тех или иных воздействиях на растущую культуру.

Для оценки влияния D-аминокислот на уровень чувствительности штаммов *S. aureus* к актиномицину была предварительно определена степень воздействия самих препаратов на рост культур на МПБ (табл. 2). При содержании в среде 0,05–0,1 М исследуемой D-аминокислоты заметного снижения роста культур не происходило, некоторое снижение роста наблюдалось лишь при концентрации препаратов 0,2 М. На рост чувствительного и ус-

Таблица 1. Минимальные подавляющие рост стафилококка концентрации актиномицина на плотной и жидкой средах (мкг/мл)

Штаммы <i>S. aureus</i>	МПК, мкг/мл	
	МПА	МПБ
Исходный чувствительный штамм	0,25–0,30	0,70–0,80
Штамм R80 устойчивый к актиномицину	30–40	60–80

Таблица 2. Влияние D-аминокислот на устойчивость штамма *S.aureus* R80 к актиномицину D на плотной среде

Характер роста <i>S.aureus</i> R80 на МПА	Концентрация актиномицина, мкг/мл		
	без добавок	с добавлением D-серина	с добавлением D-треонина
Хороший рост	15-20	7,5	10
Некоторое угнетение роста	25-30	10	15
Слабый рост	35-40	12,5—15	20
Отсутствие роста	>45	>15	25—30

Таблица 3. Влияние D-серина или D-треонина на связывание актиномицина D клетками стафилококка

Штаммы	Концентрация актиномицина, мкг/мл	Связывание актиномицина, мкг/10 мг клеток	Связывание актиномицина клетками штамма R80 по сравнению со связыванием антибиотика чувствительными клетками, %
Чувствительный штамм 209P	5	9,4	—
	10	21,2	—
	15	30,2	—
Устойчивый штамм R80 — среда без добавления D-аминокислот	5	4,0	42
	10	11,7	55
	15	15,7	52
Устойчивый штамм R80 — среда с D-серином	5	6,7	71
	10	15,9	75
	15	24,4	81
Устойчивый штамм R80 — среда с D-треонином	5	7,5	80
	10	16,4	77
	15	25,2	83

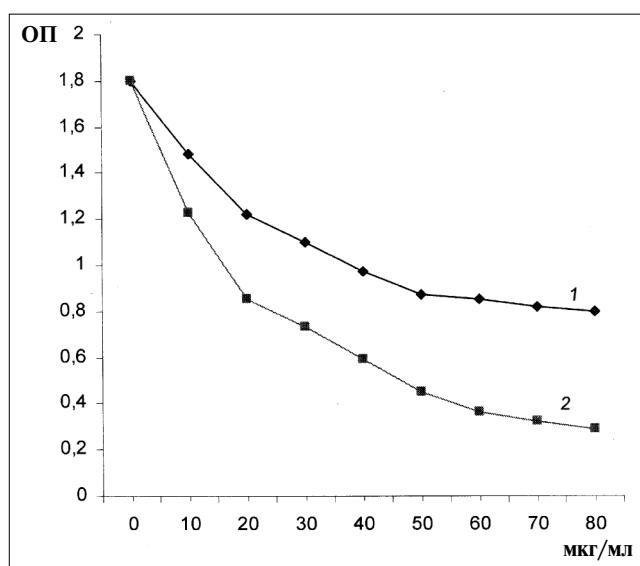


Рис. 1. Влияние D-серина на устойчивость *S.aureus* R80 к актиномицину.

По оси абсцисс — концентрация актиномицина, мкг/мл; по оси ординат — оптическая плотность (ОП) культур. 1 — среда без D-серина; 2 — среда с D-серином.

стойчивого штаммов стафилококка на МПА D-аминокислоты в концентрациях 0,05—0,2 М заметного воздействия не оказывали.

Определение действия экзогенных D-аминокислот на устойчивость штамма R80 к актиномицину проводили при внесении в среду этих веществ в концентрации 0,1 М.

При росте на МПБ, содержащем 0,1 М D-серина или D-треонина, устойчивость штамма R80, адаптированного к этому антибиотику, значительно

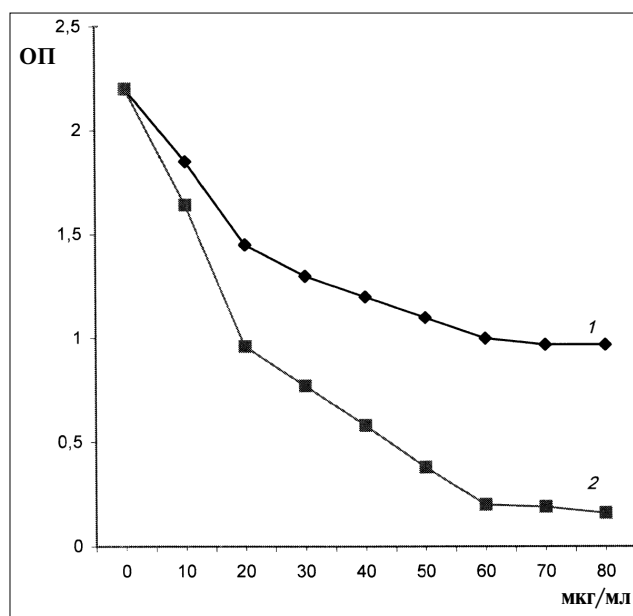


Рис. 2. Влияние D-треонина на устойчивость *S.aureus* R80 к актиномицину.

По оси абсцисс — концентрация актиномицина, мкг/мл; по оси ординат — оптическая плотность (ОП) культур. 1 — среда без D-треонина; 2 — среда с D-треонином

но уменьшается. 50% снижение роста штамма R80 в отсутствие D-аминокислот происходило при концентрации актиномицина 50—70 мкг/мл, при наличии в среде D-серина или D-треонина — при 18—20 мкг/мл (рис. 1, 2).

Заметное снижение уровня устойчивости штамма R80 к актиномицину происходило и при внесении D-серина или D-треонина в агаризованную среду (см. табл. 2).

Развитие устойчивости *S.aureus* к актиномицину сопровождается значительным (до 50% и более) уменьшением способности клеток связывать этот антибиотик [24]. Снижение устойчивости при росте штамма R80 на среде с глицином коррелирует с увеличением способности клеток связывать антибиотик [23].

Аналогичные результаты были получены при выращивании устойчивого штамма стафилококка на среде с D-серином или с D-треонином. При концентрациях антибиотика 5–15 мкг/мл клетки *S.aureus* R80 связывали примерно на 50% меньше находящегося в среде актиномицина D, чем чувствительные клетки. Однако клетки устойчивого штамма, росшие на среде с D-серином или D-треонином и обнаружившие возрастание чувствительности к актиномицину, связывали 70–80% находящегося в растворе антибиотика (табл. 3).

Механизм действия актиномицина определяется формированием комплекса антибиотик-ДНК. Ингибирование роста микроорганизма реализуется лишь при проникновении антибиотика в клетку к мишени его действия — ДНК. Таким образом, уровень устойчивости к актиномицину прямо зависит от способности клеток поглощать антибиотик, определяющейся строением и структурой клеточной стенки. Модификация пептидогликана глицином или D-аминокислотами (замена концевых D-аланина на одно из этих соединений), видимо, способствует поглощению препарата клетками.

Возможно, на увеличение проницаемости клеточной стенки стафилококка для актиномицина D влияют изменения в композиции пептидогликана в присутствии глицина или D-аминокислот — в этом случае пептидогликан содержит уменьшенное количество олигопептидов, снижено также количество сшивок в пептидогликане [13–16].

Ранее было показано [14–16], что при росте стафилококка на среде с достаточно высокой концентрацией глицина или некоторых D-аминокислот происходит резкое снижение устойчивости не только к метициллину, но и к другим β -лактамам. Это, однако, не связано с изменением способности клеток поглощать антибиотик из среды.

Устойчивость *S.aureus* к метициллину определяется наличием гена *mecA*, кодирующего пенициллинсвязывающий белок 2A (ПСБ2А) — фермент, синтезирующий пептидогликан и обладающий очень низкой аффинностью к β -лактамам по сравнению с другими пептидогликан-синтезирующими ферментами. Стафилококк, содержащий ген *mecA*, осуществляет синтез пептидогликана и при высоких концентрациях β -лактамов, ингибирующих другие ферменты синтеза пептидогликана, и, соответственно, высокоустойчив к метициллину и другим β -лактамам. При росте на среде с глицином или D-аминокислотами происходит биосинтез модифицированных предшественников пептидоглика-

на, являющихся, предположительно, «плохими» субстратами для ПСБ2А [15, 16]. В результате ПСБ2А не может функционировать нормально, синтезируя пептидогликан и обеспечивая рост при высоких концентрациях метициллина, а все другие пептидогликан-синтезирующие ПСБ инактивируются антибиотиком [25].

Для проявления устойчивости стафилококка к некоторым антибиотикам большое значение имеет увеличение содержания в клеточной стенке второго основного компонента — стеночных тейхоевых кислот (СТК), а также сама возможность синтеза этого компонента стенки устойчивым штаммом.

Клетки штаммов стафилококка, устойчивых к липопептиду даптомицину, содержали значительно большее количество СТК, чем клетки чувствительных штаммов. При этом был увеличен уровень алалирования СТК устойчивых клеток [17, 18].

Было показано, что соединения, специфически ингибирующие синтез СТК, проявляют активность в отношении устойчивых к метициллину стафилококков (MRSA) [26, 27].

Ингибиторы синтеза СТК при концентрациях, значительно меньших, чем МПК, практически устраняют устойчивость MRSA к метициллину и β -лактамам [21, 22, 26, 27].

Ранее при сравнительном анализе компонентов клеточных стенок чувствительного и устойчивого к актиномицину D штаммов *S.aureus* нами было показано, что стенки этих штаммов не различаются ни по содержанию в них СТК, ни по уровню алалирования этого компонента стенки [28].

Для исследования влияния ингибирования синтеза СТК на уровень устойчивости штамма R80 к актиномицину D использовали антибиотик туникамицин.

Туникамицин — липопептидный антибиотик, эффективный ингибитор синтеза СТК. Антибиотик селективно подавляет первый этап пути образования СТК путём блокирования трансмембранного белка TarO. При этом ингибирование синтеза СТК происходит при концентрациях препарата значительно более низких (примерно на два порядка), чем минимальные подавляющие рост *S.aureus* концентрации этого антибиотика. Ингибирование синтеза СТК резко увеличивает чувствительность MRSA к метициллину и другим β -лактамам, не влияя заметно на рост культур [21].

В наших экспериментах подавление роста на МПБ культур как чувствительного, так и устойчивого к актиномицину D штаммов стафилококка происходило при концентрациях туникамицина порядка 20 мкг/мл. При определении устойчивости к актиномицину штамма R80 в среду добавляли туникамицин до концентрации 0,5 мкг/мл, практически не влияющей на рост культуры.

Происходящее при этом полное подавление синтеза СТК [21] значительно снижало устойчи-

вость штамма R80 к актиномицину (рис. 3). Концентрация актиномицина, вызывающая 50% ингибирование роста штамма R80, уменьшалась с 50–70 мкг/мл до 20 мкг/мл.

Снижение туникамицином уровня устойчивости штамма R80 к актиномицину, по-видимому, связано, как и в случае воздействия на клетки D-аминокислот, с изменениями в структуре ПГ, способствующими проникновению антибиотика к мишени.

Исследования по сенсibilизации устойчивых стафилококков с использованием туникамицина и других ингибиторов синтеза СТК проводились преимущественно с культурами MRSA. При этом отмечено снижение устойчивости исключительно к β -лактамам антибиотикам.

В наших опытах наблюдалось увеличение активности в отношении *S.aureus* актиномицина, относящегося к совершенно другому классу антибиотиков. Также было показано [29], что в присутствии туникамицина происходит возрастание в 2–4 раза активности против *S.aureus* липопептидного антибиотика ариломицина.

Ингибирование синтеза СТК практически не влияет на рост стафилококка, однако отмечены происходящие при этом определённые изменения в процессе синтеза ПГ — нарушение координации клеточного деления и сборки

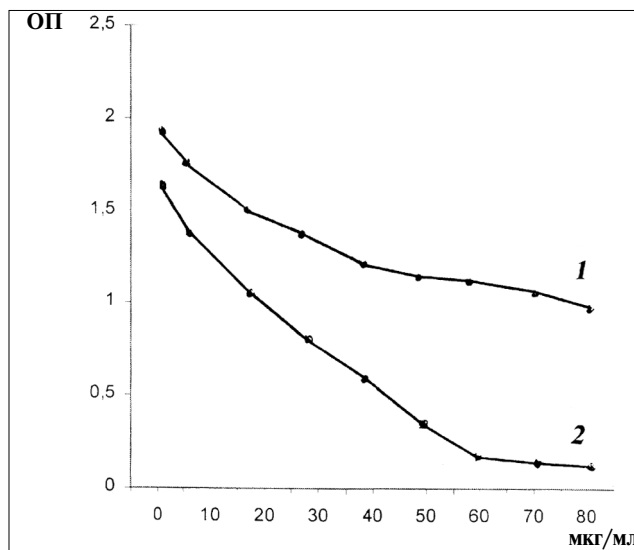


Рис. 3. Влияние туникамицина на устойчивость *S.aureus* R80 к актиномицину.

По оси абсцисс — концентрация актиномицина, мкг/мл; по оси ординат — оптическая плотность (ОП) культур. 1 — среда без туникамицина; 2 — среда с туникамицином

структуры ПГ [26]. Результаты исследований, проведённых с ингибиторами синтеза СТК свидетельствуют о функциональной связи между синтезом СТК и ПГ [21, 26].

ЛИТЕРАТУРА

- Reipert A., Ehrlert K., Kast T., Bierbaum G. Morphological and genetic differences in two isogenic *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibilities to vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2: 568–576.
- Cui L., Ma X., Sato K. et al. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1: 5–14.
- Cui L., Iwamoto A., Lian J.-Q. et al. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2: 428–438.
- McCallum N., Karauzum H., Getzmann R. et al. In vivo survival of teicoplanin-resistant *Staphylococcus aureus* and fitness cost of teicoplanin Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 7: 2352–2360.
- Yuan W., Hu Q., Cheng H. et al. Cell wall thickening is associated with adaptive resistance to amikacin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 5: 1089–1096.
- Орлова Т.И., Булгакова В.Г., Полин А.Н. Изучение компонентов клеточной стенки *Staphylococcus aureus*, устойчивого к актиномицину. *Антибиотики и химиотерапия* 2004; 49: 4: 11–15. / Orlova T.I., Bulgakova V.G., Polin A.N. Izuchenie komponentov kletочноj stenki *Staphylococcus aureus*, ustojchivogo k aktinomitsinu. *Antibiotiki i khimioter* 2004; 49: 4: 11–15. [in Russian]
- Орлова Т.И., Булгакова В.Г., Полин А.Н. Изучение компонентов клеточной стенки *Staphylococcus aureus*, устойчивого к грамицидину S. *Антибиотики и химиотерапия* 2003; 48: 1: 13–17. / Orlova T.I., Bulgakova V.G., Polin A.N. Izuchenie komponentov kletочноj stenki *Staphylococcus aureus*, ustojchivogo k gramicidinu S. *Antibiotiki i khimioter* 2003; 48: 1: 13–17. [in Russian]
- Полин А.Н., Булгакова В.Г., Орлова Т.И., Грушина В.А. Устойчивость к актиномицину D грамицидинустойчивых штаммов стафилококка. *Антибиотики и химиотерапия* 1996; 41: 7–8; 13–17. / Polin A.N., Bulgakova V.G., Orlova T.I., Grushina V.A. Ustojchivost' k aktinomitsinu D gramicidinustojchivykh shtammov stafilokokka. *Antibiotiki i khimioter* 1996; 41: 7–8; 13–17. [in Russian]
- Lambert P.A. Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in gram-positive bacteria and mycobacteria. *J Appl microbial* 2002; 92: Suppl: 46–54.
- Reynolds P.E., Courvalin P. Vancomycin resistance to enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-alanyl-D-serine. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1: 21–25.
- Mainardi J.L., Villet R., Bugg T.D. et al. Evolution of peptidoglycan biosynthesis under the selective pressure of antibiotics in gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2008; 32: 2: 386–408.
- Binda E., Marinelli F., Marcone J.L. Old and new glycopeptide antibiotics: action and resistance. *Antibiotics (Basel)* 2014; 3: 4: 572–594.
- Schleifer K.H., Hammes W., Kandler O. Effect of exogenous and endogenous factors on the primary structure of bacterial peptidoglycan. *Adv Microbiol Physiol* 1976; 13: 245–292.
- Trippen B., Hammes W., Schleifer K.H., Kandler O. Mode of action of D-amino acids on the biosynthesis of peptidoglycan. *Arch Microbiol* 1976; 109: 3: 247–261.
- De Jonge B.L.M., Chang Y.-S., Xu N., Gage D. Effect of exogenous glycine on peptidoglycan composition and resistance in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 6: 1498–1503.
- De Jonge B.L.M., Gage D., Xu N. The carboxyl terminus of peptidoglycan stem peptides is a determinant for methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 10: 3151–3155.
- Bertsche U., Weidenmaier C., Kuehner D. et al. Correlation of daptomycin resistance in a clinical *Staphylococcus aureus* strain with increased cell wall teichoic acid production and D-alanylation. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 8: 3922–3928.
- Bayer A.S., Schneider T., Sahl H.G. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: role of the cell membrane and cell wall. *Ann NY Acad Sci* 2013; 1277: 139–158.
- Swoboda J.G., Meredith T.C., Campbell J. et al. Discovery of a small molecule that blocks wall teichoic acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. *ACS Chem Biol* 2009; 4: 10: 875–883.
- Suzuki T., Swoboda J.G., Campbell J. et al. In vitro antimicrobial activity of wall teichoic acid biosynthesis inhibitors against *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 2: 767–774.
- Campbell J., Singh A.K., Santa Maria J.P. et al. Synthetic lethal compound combinations reveal a fundamental connection between wall teichoic acid and peptidoglycan biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. *ACS Chem Biol* 2011; 6: 1: 106–116.
- Wang H., Gill C.J., Lee S.H. et al. Discovery of wall teichoic acid inhibitors as potential anti-MRSA β -lactam combination agents. *Chem Biol* 2013; 20: 2: 272–284.
- Булгакова В.Г., Орлова Т.И., Грушина В.А., Полин А.Н. Влияние экзогенного глицина на устойчивость к актиномицину D штамма

- Staphylococcus aureus*, адаптированного к этому антибиотику. *Антибиотики и химиотерапия* 2008; 52: 11–12: 11–16. / *Bulgakova V.G., Orlova T.I., Grushina V.A., Polin A.N.* Vliyanie jekzogenogo glicina na ustojchivost' k aktinomicinu D shtamma *Staphylococcus aureus*, adaptirovannogo k jetomu antibiotiku. *Antibiotiki i khimioter* 2008; 52: 11–12: 11–16. [in Russian]
24. *Булгакова В.Г., Орлова Т.И., Грушина В.А., Полин А.Н.* Изучение штамма *Staphylococcus aureus*, устойчивого к актиномицину D. *Антибиотики и химиотерапия* 2000; 45: 8: 6–11. / *Bulgakova V.G., Orlova T.I., Grushina V.A., Polin A.N.* Izuchenie shtamma *Staphylococcus aureus*, ustojchivogo k aktinomicinu D. *Antibiotiki i khimioter* 2000; 45: 8: 6–11. [in Russian]
 25. *de Lencastre H., de Jonge B.L., Matthews P.R., Tomasz A.* Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33: 1: 7–24.
 26. *Sewell E.W.C., Brown E.D.* Taking aim at wall teichoic acid synthesis: new biology and new leads for antibiotics. *J Antibiot* 2014; 67: 43–51.
 27. *Farha M.A., Leung A., Sewell E.W. et al.* Inhibition of WTA synthesis blocks the cooperative action PBPs and sensitizes MRSA to β -lactams. *ACS Chem Biol* 2013; 8: 1: 226–233.
 28. *Орлова Т.И., Булгакова В.Г., Грушина В.А., Полин А.Н.* Компоненты клеточных стенок *Staphylococcus aureus* с двойной устойчивостью — к грамицидину S и актиномицину D. *Антибиотики и химиотерапия* 2007; 52: 3: 3–6. / *Orlova T.I., Bulgakova V.G., Grushina V.A., Polin A.N.* Komponenty kletochnyh stenok *Staphylococcus aureus* s dvojnoj ustojchivost'ju — k gramicidinu S i aktinomicinu D. *Antibiotiki i khimioter* 2007; 52: 3: 3–6. [in Russian]
 29. *Craney A., Romesberg F.E.* A putative cro-like repressor contributes to arylomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 6: 3066–3074.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Булгакова Вера Георгиевна — к.б.н., старший научный сотрудник; старший научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета МГУ, Москва

Орлова Тамара Ивановна — д.м.н., старший научный сотрудник; старший научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета МГУ, Москва

Полин Анатолий Николаевич — д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета МГУ, Москва

Антимикробные свойства амикумацина А

О. В. ЕФРЕМЕНКОВА^{1*}, Н. И. ГАБРИЭЛЯН², И. А. МАЛАНИЧЕВА¹, Т. А. ЕФИМЕНКО¹, И. Г. СУМАРУКОВА¹,
А. А. ГЛУХОВА¹, Ю. В. БОЙКОВА¹, Е. А. РОГОЖИН¹, А. М. КОРОЛЕВ¹, В. А. КОРШУН¹, И. В. ДРАБКИНА²

¹ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

² Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова Минздрава России, Москва

Antibacterial Properties of Amicoumycin A

O. V. EFREMENKOVA^{1*}, N. I. GABRIELIAN², I. A. MALANICHEVA¹, T. A. EFIMENKO¹, I. G. SUMARUKOVA¹,
A. A. GLUKHOVA¹, YU. V. BOYKOVA¹, E. A. ROGOZHIN¹, A. M. KOROLEV¹, V. A. KORSHUN¹, I. V. DRABKINA²

¹ Gause Institute of Antibiotics, Moscow

² Academician V. I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

Изучена *in vitro* активность антибиотика амикумацина А в отношении 22 коллекционных тест-штаммов и 24 клинических изолятов бактерий и грибов. Показано, что амикумацин А обладает широким антимикробным спектром действия. Установлены минимальные подавляющие концентрации (МПК) амикумацина А в отношении метициллинорезистентного золотистого стафилококка (MRSA) и устойчивого к ванкомицину (VR) тест-штамма *Leuconostoc mesenteroides*, составляющие 0,06 мкг/диск. При изучении клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью амикумацин А проявлял активность в отношении штаммов *S.aureus*, *S.epidermidis*, *C.krusei*, *Cr.neoformis* и *Prototheca spp.*

Ключевые слова: амикумацин А, патогенные микроорганизмы, устойчивость к антибиотикам, MRSA.

The *in vitro* activity of the antibiotic amikumacin A against 22 collective test strains and 24 clinical isolates of bacteria and fungi was studied. It is shown that amikoumycin A has a broad antimicrobial spectrum of activity. The minimum inhibitory concentration (MIC) of amikoumycin A against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and resistant to glycopeptide antibiotics of vancomycin group (VR) test strain *Leuconostoc mesenteroides* of 0.06 µg/disk were established. In the study of multidrug-resistant clinical isolates, amikumacin A exhibited activity against *S.aureus*, *S.epidermidis*, *C.krusei*, *Cr.neoformis* and *Prototheca spp.* strains.

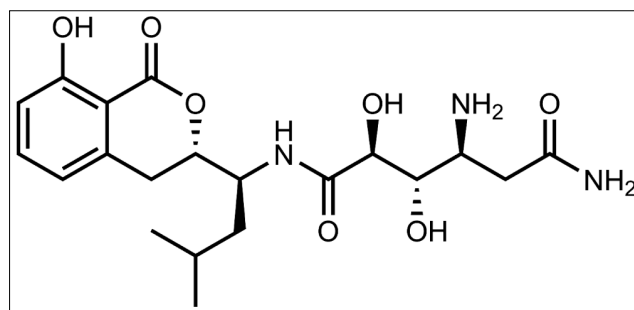
Keywords: amikoumycin A, antibiotic resistance, MRSA, pathogens.

Введение

В последние годы по мере распространения резистентности у болезнетворных бактерий к лекарственным препаратам всё актуальнее становится изыскание и введение в медицинскую практику антибиотиков, активных в отношении таких бактерий [1, 2]. В ходе поиска новых перспективных соединений нами был выделен из почвы штамм *B.pumilus* ИНА 01087 — продуцент антибиотика, активного в отношении тест-штамма метициллинорезистентного золотистого стафилококка (MRSA). Было установлено, что этот антибиотик является амикумацином А, относящимся к классу дигидроизокумаринов (рисунок) [3, 4].

Амикумацин А впервые был описан в 1981 г. в качестве средства для лечения язвы желудка и снятия отёков, но также было отмечено и его антибактериальное действие [5]. В последующий период показано, что амикумацин обладает ак-

тивностью в отношении возбудителя язвы желудка *Helicobacter pylori*, а также ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, патогенных и фитопатогенных грибов, простейших и онкогенных клеток, но эти данные носят разрозненный и иногда противоречивый характер [6]. Также была установлена его активность в отношении MRSA, вызывающих нозокомиальные инфекции, которые не поддаются антибиотикотерапии [7]. По механизму действия, заключающемуся в специфическом



Амикумацин А.

© Коллектив авторов, 2016

*Адрес для корреспонденции: Москва 119021, ул. Б. Пироговская, 11. ФГБНУ «НИИНА». E-mail: ovefr@yandex.ru

ингибировании функционирования рибосомы, амикумацин А отличается от других антибиотиков, используемых в медицине, что подтверждает перспективность его дальнейшего изучения с целью применения в отношении патогенных бактерий, устойчивых к современным антибиотикам медицинского назначения [8].

Цель настоящей работы — определение *in vitro* антимикробного спектра амикумацина А в отношении коллекционных тест-штаммов и активности в отношении клинических изолятов патогенных микроорганизмов.

Материал и методы

Объект исследования. Антибиотик амикумацин А был получен из культуральной жидкости штамма *Bacillus pumilus* INA 01087, выделенного нами ранее из почвы [3, 4].

Штаммы микроорганизмов. В качестве тест-штаммов для определения антимикробной активности использовали 22 коллекционных тест-штамма (табл. 1). 24 клинических изолята получены от пациентов Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова в 2016 году (табл. 2). Идентификацию клинических изолятов и определение их чувствительности к антибиотикам проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе для идентификации микроорганизмов Siemens MicroScan Walk Away — 96 Plus System (США). Чувствительность определяли в отношении следующих антибиотиков: антибактериальных — азтреонама (АТМ), амикацина (АН), амоксициллина/клавулановой кислоты (АмС), ампициллина (АМ), ампициллина/сульбактама (SAM), ванкомицина (Va), гентамицина (GM), даптомицина (DM), имипенема (IPM), клиндамицина (CC), левофлоксацина (LVX), линезолида (LZD), меропенема (MEM), моксифлоксацина (MXF), оксациллина (OX), пиперациллина (PIP), пиперациллина/тазобактама (TZP), рифампицина (RA), синергида (SR), тетрациклина (Te), тигециклина (TGC), тобрамицина (NN),

триметоприма/сульфаметоксазола (SXT), хлорамфеникола (С), цефазолина (CZ), цефепима (FEP), цефокситина (FOX), цефотаксима (CTX), цефтазидима (CAZ), цефтриаксона (CRO), цефуроксима (СХМ), ципрофлоксацина (CIP), эритромицина (Е), эртапенема (ЕТР); противогрибковых — амфотерицина В (Am), итраконазола (Itr), кетоконазола (Ket), миконазола (Mc), флуконазола (Flc), флуорцитозина (Flr).

Определение антимикробной активности. Антимикробную активность амикумацина А определяли методом диффузии в агар с применением дисков. На поверхность агаровой среды №2 Гаузе с высевным газонем тест-штаммов или клинических изолятов помещали бумажные диски диаметром 6 мм с нанесённым амикумацином А. После инкубирования в течение 20 ч определяли зоны задержки роста микроорганизмов. Для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) на диски наносили амикумацин А в максимальной концентрации 32 мкг/диск с последующим двукратным серийным разведением до концентрации 0,03 мкг/диск. Для определения чувствительности/резистентности клинических изолятов использовали диски, содержащие 32 мкг амикумацина А.

Результаты и обсуждение

На первом этапе были установлены величины МПК амикумацина А в отношении коллекционных тест-штаммов (табл. 1). Из табл. 1 следует, что амикумацин А активен в отношении большинства грамположительных бактерий, в том числе в отношении штамма *L.mesenteroides* VKPM B-4177 с высоким уровнем устойчивости к гликопептидному антибиотику ванкомицину (VR) — МПК 400 мкг/мл и метициллинорезистентного штамма *S.aureus* INA 00761 (MRSA) с устойчивостью к бета-лактамам антибиотикам (>32 мкг/мл), для которых МПК амикумацина составляла 0,06 мкг/мл. Также следует отметить, что один из двух тест-штаммов *M.smegmatis* 155 mc²

Таблица 1. Активность амикумацина А в отношении коллекционных тест-штаммов

Тест-штаммы	МПК амикумацина А, мкг/диск
Грамположительные бактерии	
<i>Bacillus mycoides</i> 537	>32
<i>B.pumilus</i> NCTC 8241	>32
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	4,0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> VKPM B-4177 (VR)	0,06
<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340	0,25
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 155 mc ²	2,0
<i>M.smegmatis</i> VKPM Ac 1339	>32
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	0,12
<i>S.aureus</i> INA 00761 (MRSA)	0,06
Грамотрицательные бактерии	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2,0
<i>Comamonas terrigena</i> VKPM B-7571	>32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>32
Грибы	
<i>Aspergillus niger</i> INA 00760	>32
<i>A.niger</i> ATCC 9642	>32
<i>A.niger</i> ATCC 16404	>32
<i>A.ochraceus</i> INA 01112	>32
<i>Candida albicans</i> ATCC 14052	>32
<i>Chaetomium</i> sp. INA 01114	>32
<i>Cryptococcus lumiculus</i> ATCC 3949	>32
<i>Fusarium oxysporum</i> VKPM F 140	>32
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> RIA 259	8,0
<i>Trichoderma viride</i> INA 01111	>32

Таблица 2. Активность амикумадина А в отношении клинических изолятов патогенных бактерий*

Микроорганизмы	Диаметр зоны подавления роста, мм
Грамположительные бактерии	
<i>Staphylococcus aureus</i> 2476	15
<i>S.epidermidis</i> 2432	18
<i>S.epidermidis</i> 2480	19
<i>S.epidermidis</i> 2624	19
<i>S.epidermidis</i> 2688	17
Грамотрицательные бактерии	
<i>Acinetobacter baumannii</i> 1630	0
<i>A.baumannii</i> 1839	0
<i>A.baumannii</i> 2050	0
<i>A.baumannii</i> 2455	0
<i>A.baumannii</i> 2617	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1878	0
<i>K.pneumoniae</i> 2080	0
<i>K.pneumoniae</i> 2266	0
<i>K.pneumoniae</i> 2427	0
<i>K.pneumoniae</i> 2663	0
Грибы	
<i>Candida albicans</i> 1610	0
<i>C.albicans</i> 2122	0
<i>C.albicans</i> 2356	0
<i>C.catenulate</i> 1507	0
<i>C.krusei</i> 247	10
<i>Cryptococcus neoformis</i> 245	33
<i>C.parapsilosis</i> 1380	0
Водоросли	
<i>Prototheca</i> sp. 1376	32
<i>Prototheca</i> sp. 2109	0

Примечание. * — использовались диски, содержащие 32 мкг амикумадина А.

чувствителен к амикумацину А, что позволяет предположить, что амикумадин А может проявлять активность в отношении представителей другого вида микобактерий, а именно возбудителя туберкулеза *M.tuberculosis*. Из грамотрицательных бактерий к амикумацину чувствителен тест-штамм *E.coli* ATCC 25922. Из 10 грибных штаммов чувствительность установлена только у пекарных дрожжей *S.cerevisiae* RIA 259 с относительно высокой МПК — 8 мкг/диск.

Таким образом, амикумадин А способен проявлять активность в отношении представителей всех трёх исследованных групп микроорганизмов: грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов.

На следующем этапе определяли активность амикумадина А в отношении клинических изолятов патогенных микроорганизмов (табл. 2). Штаммы эпидермальных стафилококков (*S.epidermidis* 2480, 2624, 2688) устойчивы к 13 и штамм *S.epidermidis* 2432 — к 14 антибиотикам, а штамм золотистого стафилококка *S.aureus* 2476 устойчив только к одному антибиотику (С) из 20 антибиотиков медицинского назначения (AmC, SAM, CZ, CRO, С, CC, Dap, E, GM, IPM, LVX, LZD, MEM, MXF, OX, RA, Syn, Te, SXT, Va). Все перечисленные штаммы чувствительны к амикумацину А.

Грамотрицательные бактерии двух видов, приведённые в табл. 2, обладают множественной лекарственной устойчивостью ко всем исследованным антибиотикам: штаммы *A.baumannii* устойчивы к 15 антибиотикам из 15 (AN, SAM, FEP, CTX, CAZ, CRO, CIP, GM, IMP, LVX, MEM, PIP, Te, NN, SXT) и только штамм 1839 обладает промежуточной чувствительностью к SAM; штаммы *K.pneumoniae* из 24 антибиотиков чувствительны к TGC (штаммы 2266, 2427, 2663) или обладают промежуточной чувствительностью к нему (штаммы 1878 и 2080); один штамм (2266) чувствителен к CAZ из 24 антибиотиков (AN, AmC, SAM, AM, ATM, CZ, FEP, CTX, FOX, CAZ, CRO, CXM, CIP, ETP, GM, IPM, LVX, MEM, TZP, PIP, Te, TGC, NN, SXT). В отношении указанных клинических изолятов амикумадин А не активен.

Из 7 клинических изолятов представителей рода *Candida* амикумадин А был активен в отношении 2 штаммов: *C.krusei* 247 и *Cr.neoformis* 245, из которых первый штамм устойчив к шести противогрибковым антибиотикам (Am, Mc, Ket, Flc, Flr, Itr), второй — только к Mc.

В нашем распоряжении было 2 клинических изолята возбудителя опасного заболевания прототеккоза — бесхлорофильной одноклеточной водоросли *Prototheca* sp. Прототеккоз лечат противогрибковыми антибиотиками. Штамм 1376 был чувствителен к Mc, Am, Ket, Flc и к амикумацину А.

Заключение

Из-за распространения патогенных микроорганизмов, устойчивых к современным антибиотикам, требуются разработка и внедрение в медицинскую практику новых эффективных препаратов. В ходе изыскания антибиотиков, активных в отношении устойчивых тест-штаммов, а именно *S.aureus* INA 00761 (MRSA) и *L.mesenteroides* VKPM B-4177 (VR), нами был выделен штамм-продуцент ранее описанного антибиотика амикумадина А. Результаты проведённого исследования свидетельствуют, что амикумадин А обладает широким спектром действия, охватывающим грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также грибы. При анализе активности амикумадина А в отношении клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью установлена чувствительность к нему ряда клинических штаммов *S.aureus*, *S.epidermidis*, *C.krusei*, *Cr.neoformis* и *Prototheca* sp., устойчивых к антибиотикам медицинского назначения. На основании полученных результатов можно рассматривать амикумадин А перспективным антибиотиком для дальнейшего исследования с целью определения токсичности и эффективности *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance. 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
2. Butler M.S., Blaskovich M.A., Cooper M.A. Antibiotics in the clinical pipeline in 2013. *J Antibiot* 2013; 66: 10: 571—591.
3. Ефименко Т.А., Маланicheva И.А., Зенкова В.А., Королев А.М., Остерман И.А., Сергиев П.В., Ефременкова О.В. Изыскание антибиотиков, эффективных в отношении бактерий с лекарственной устойчивостью, на примере *Bacillus pumilus* — продуцента антибиотика амикумацина А. *Вестник Оренбургского университета* 2014; 13: 27—31, 150—151. / Efimenko T.A., Malanicheva I.A., Zenkova V.A., Korolev A.M., Osterman I.A., Sergiev P.V., Efremenkova O.V. Izyskanie antibiotikov, jeffektivnykh v otnoshenii bakterij s lekarstvennoj ustojchivost'ju, na primere *Bacillus pumilus* — producenta antibiotika amikumacina A. *Vestnik Orenburgskogo universiteta* 2014; 13: 27—31, 150—151. [in Russian]
4. Маланicheva И.А., Ефименко Т.А., Зенкова В.А., Королев А.М., Остерман И.А., Сергиев П.В., Ефременков О.В. Бактерии рода *Bacillus* — продуценты антибиотиков, преодолевающих лекарственную устойчивость болезнетворных микроорганизмов. *Известия УНЦ РАН* 2015; 4 (1): 98—101. / Malanicheva I.A., Efimenko T.A., Zenkova V.A., Korolev A.M., Osterman I.A., Sergiev P.V., Efremenkova O.V. Bakterii roda *Bacillus* — producenty antibiotikov, preodolevajushih lekarstvennuyu ustojchivost' boleznetvornyx mikroorganizmov. *Izvestija UNC RAN* 2015; 4 (1): 98—101. [in Russian]
5. Itoh J., Omoto S., Shomura T., Nishizawa N., Miyado S., Yuda Y., Shibata U. Amicoumacin-A, a new antibiotic with antiinflammatory and antiulcer activity. *J Antibiot* 1981; 34: 611—613.
6. Tyurin A.P., Efimenko T.A., Prokhorenko I.A., Rogozhin E.A., Malanicheva I.A., Zenkova V.A., Efremenkova O.V., Korshun V.A. Amicoumacins and related compounds: chemistry and biology. 2016; принята к печати.
7. Lama A., Pané-Farré J., Chon T., Wiersma A. M., Sit C. S., Vederas J. C., Hecker M., Nakano M. M. Response of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to amicoumacin A. *PLoS One* 2013; 7: e34037.
8. Polikanov Y.S., Osterman I.A., Szal T., Tashlitsky V.N., Serebryakova M.V., Kusochev P., Bulkley D., Malanicheva I.A., Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Konevega A.L., Shaw K.J., Bogdanov A.A., Rodnina M.V., Dontsova O.A., Mankin A.S., Steitz T.A., Sergiev P.V. Amicoumacin A inhibits translation by stabilizing mRNA interaction with the ribosome. *Mol Cell* 2014; 56: 531—540.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ефременкова О.В. — руководитель сектора, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Габриэлян Н.И. — заведующая отделом, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, Москва

Маланicheva И.А. — с.н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Ефименко Т.А. — н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Сумарукова И.Г. — н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Глухова А.А. — н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Бойкова Ю.В. — н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Рогожин Е.А. — н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Королев А.М. — в.н.с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Коршун В.А. — зав. лаборатории, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Драбкина И.В. — врач-бактериолог, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, Москва

Активность пектина в отношении биоплёнок холерных вибрионов

Н. А. СЕЛЯНСКАЯ¹, Л. А. ЕГИАЗАРЯН¹, С. Н. ГОЛОВИН¹,
Э. Г. ПОТИЕВСКИЙ², Л. М. ВЕРКИНА¹, Н. Г. ЖЕЛЕЗНЯК¹

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

² Омская Государственная медицинская академия, Омск

Pectin Activity in Respect of Choleric Vibrio Biofilms

N. A. SELYANSKAYA¹, L. A. YEGIAZARYAN¹, S. N. GOLOVIN¹,
E. G. POTIYEVSKIY², L. M. VERKINA¹, N. G. ZHELEZNYAK¹

¹ Rostov on Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don

² Omsk State Medical Academy, Omsk

Рост антибиотикорезистентности холерных вибрионов обуславливает интерес к группе веществ растительной природы, обладающих антимикробной активностью. Целью настоящей работы стало изучение антибактериальных свойств пектина в отношении *Vibrio cholerae* и образованных им биоплёнок. 1,0—5,0% раствор пектина вызывал гибель холерных вибрионов различных серогрупп, как антибиотикочувствительных, так и обладающих множественной антибиотикорезистентностью, при воздействии всего в течение 1 ч. Биоплёнки оказались несколько более устойчивыми к действию 1,0% пектина и проявили высокую чувствительность к 2,0—5,0% раствору пектина, который также препятствовал формированию биопленок. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии показано, что в результате действия 5,0% раствора пектина в течение 1 ч наблюдается выраженная деструкция матрикса с полным разрушением клеток холерных вибрионов. Проведённое исследование свидетельствует о перспективности использования пектинов в лечении и профилактике заболеваний, вызванных *V.cholerae*.

Ключевые слова: пектин, холерные вибрионы, биоплёнка.

The growth of antibiotic resistance of cholera vibrios causes interest in a group of substances of plant origin possessing antimicrobial activity. The purpose of this work was to study the antibacterial properties of pectin in relation to *Vibrio cholerae* and biofilms formed by it. A 1.0—5.0% solution of pectin caused death of cholera vibrios of various serogroups, both antibiotic-sensitive and possessing multiple antibiotic resistance, when exposed for a total of 1 hour. Biofilms were slightly more resistant to 1.0% pectin and showed high sensitivity to 2.0—5.0% solution of pectin, which also prevented the formation of biofilms. With the help of transmission electron microscopy it was shown that as a result of the action of 5.0% pectin solution within 1 hour a pronounced destruction of the matrix with complete destruction of cholera vibrio cells was observed. The study shows the promise of using pectins in the treatment and prevention of diseases caused by *V.cholerae*.

Keywords: pectin, *Vibrio cholerae*, biofilm.

В настоящее время наблюдается рост антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний, в том числе холерных вибрионов. Анализ антибиотикограмм клинических штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в последние годы в различных регионах мира, свидетельствует о наличии у этих бактерий устойчивости к полимиксину, триметоприму/сульфаметоксазолу, фуразолидону, стрептомицину, гентамицину, спектиномицину, тетрациклинам, хлорамфениколу, ампициллину, цефтриаксону, налидиксовой кислоте и фторхинолонам [1—6]. Кроме того, холерные вибрионы способны формировать

микробные сообщества — биопленки, в составе которых устойчивость бактерий к используемым антибиотикам в 10—100 раз выше, чем у планктонных клеток [7]. Поэтому антибактериальная терапия становится неэффективной, что обуславливает растущий интерес отечественных и зарубежных учёных к группе веществ растительной природы, обладающих антимикробной активностью в отношении холерных вибрионов и образованных ими биоплёнок, с целью изучения возможности применения их для профилактики и лечения холеры [8, 9].

В ряде работ [10—12] доказано антибактериальное действие на микроорганизмы, вызывающие кишечные инфекции, включая холерные вибрионы, пектина, представляющего собой естественный полимер — D-галактурановой кис-

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 344002 Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, Ростовский-на-Дону противочумный институт.
E mail: ppdn@inbox.ru

лоты и являющегося естественным компонентом всех зелёных растений планеты.

Целью настоящей работы стало изучение антибактериальных свойств пектина в отношении холерных вибрионов и образованных ими биоплёнок.

Материал и методы

В работе использовали штаммы, полученные из Музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора: *V.cholerae* El Tor 5879, 18826, 18904, 19613; *V.cholerae* O139 16077; *V.cholerae* non O1/ non O139 19190. Все штаммы, за исключением контрольного антибиотикочувствительного штамма *V.cholerae* El Tor 5879, обладали множественной антибиотикорезистентностью.

В исследованиях использовались 0,25—0,5—1,0—2,0—5,0% водные растворы пектина.

Для определения действия пектина на *V.cholerae* готовили взвесь 16—18-часовых агаровых культур (10^4 — 10^9 микр. кл./мл) по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича (ОСО-42-25-59-86 П) в соответствующем растворе пектина. Взвесь инкубировали в термостате при 37°C в течение 1, 2, 3 и 24 ч с последующим высевом на агар Мартена для выявления жизнеспособности вибрионов.

Для определения действия пектина на образовавшиеся сообщества биопленки холерных вибрионов получали способом, описанным в предыдущих работах [13], во флаконах с 30 мл стерильной водопроводной воды, при комнатной температуре, используя в качестве твердого субстрата пластинки из пищевого пластика (0,5×1,5 см). Суспензию холерных вибрионов добавляли в конечной концентрации $n \times 10^4$ микр. кл./мл по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича (ОСО-42-25-59-86 П). На третьи сутки культивирования пластинки с образовавшимися биоплёнками после трёхкратного промывания в физиологическом растворе переносили в пенициллиновые флаконы, содержащие пектин в концентрациях 0,25—0,5—1,0—2,0—5,0% на 1—3—24 ч. Затем делали отпечатки биоплёнок и высевали 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (рН 7,7), учитывая результат по наличию или отсутствию роста холерных вибрионов.

Для определения влияния пектина на формирование биоплёнок, пластиковые пластинки помещали в пенициллиновые флаконы, содержащие 0,25—5,0% раствор пектина и взвесь 10^4 микр. кл./мл холерных вибрионов каждого штамма. Через 1—3 суток выращивания в термостате (37°C) делали отпечатки биоплёнок и высевали по 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (рН 7,7). Результат учитывали через 24 часа по наличию или отсутствию роста холерных вибрионов.

Визуализацию действия пектина на биопленки *V.cholerae* El Tor осуществляли просвечивающим электронным микроскопом Jeol JEM-1011, получая изображения при помощи CCD-rfvtbs Olympus-SIS Veleta.

Для обработки образцов на электронном микроскопе был разработан комбинированный метод культивирования биопленок и дальнейшей их пробоподготовки, при котором минимально нарушается структура самой биопленки и максимально возможно визуализируются основные её компоненты: внеклеточный матрикс и микробные клетки со свойствами им особенностями.

Биоплёнки выращивали непосредственно на медных сетках для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) с формаровой пленкой-подложкой, смонтированных на предметных стеклах.

Приготовление пленок-подложек, монтаж опорных сеток и фиксацию их на предметные стекла проводили при условиях работы с ПБА I-II группы патогенности в стерильных условиях в боксе микробиологической безопасности 2-го

класса. Стекло после специальной стерилизации с плёнкой под углом 30° погружали в кристаллизатор с налитой до образования выпуклого мениска дистиллированной водой. При этом плёнка отделяется от стекла и остается на поверхности воды. На плавающую плёнку помещали опорные сеточки в количестве 4—5 штук. Таким образом, мы получали субстрат для формирования биоплёнок.

По достижении необходимой степени зрелости биопленки субстрат переносили в пенициллиновые флаконы с 5,0% раствором пектина на 1 ч.

Для окраски полученного образца применяли схему, позволяющую проводить одновременную фиксацию образца с его обеззараживанием (глутаровый альдегид, тетраоксид осмия), контрастирование (тетраоксид осмия) и визуализацию матрикса биоплёнки (рутениевый красный, тетраоксид осмия). При использовании этого метода на первом этапе образуется связь между катионом рутениевого красного и анионными группами кислых полисахаридов, а при последующей обработке тетраоксидом осмия в окислительно-восстановительной реакции, катализируемой рутениевым красным, низшие окислы осмия осаждаются на окисленном субстрате. После высыхания опорные сетки с образцами отделяли пинцетом от предметного стекла, помещали в держатель и исследовали методом ТЭМ.

Результаты исследования

Воздействие 0,25% раствора пектина на вибрионы в концентрациях $n \times 10^4$ — 10^5 микр. кл./мл в течение 1—2 ч не приводило к их гибели, за исключением штамма *V.cholerae* O139 16077 ($n \times 10^4$ микр. кл./мл). Через 3 ч экспозиции данный раствор пектина оказался эффективен в отношении *V.cholerae* El Tor 5879, 18826 и *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 в концентрации $n \times 10^4$ микр. кл./мл, *V.cholerae* O139 16077 в концентрациях $n \times 10^5$ — 10^8 микр. кл./мл. Клетки *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 в концентрациях $n \times 10^5$ — 10^6 микр. кл./мл погибали лишь через 24-часовой экспозиции с 0,25% раствором пектина (табл. 1).

При воздействии 0,5% раствора пектина в течение 1 ч на агаре Мартена отсутствовал рост *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 во всех концентрациях, *V.cholerae* El Tor 5879 и 18826 в концентрациях $n \times 10^4$ — 10^5 микр. кл./мл, а *V.cholerae* O139 16077 — $n \times 10^4$ — 10^8 микр. кл./мл. Через 2—24 ч действия 0,5% раствора пектина наблюдалось угнетение роста штаммов *V.cholerae* El Tor 5879, 18826 в концентрациях $n \times 10^4$ — 10^7 микр. кл./мл. Указанный раствор пектина оказался не эффективным в отношении данных штаммов в концентрации $n \times 10^8$ — 10^9 микр. кл./мл, а *V.cholerae* O139 16077 в концентрации $n \times 10^9$ микр. кл./мл даже при 24-часовой экспозиции (табл. 1).

В присутствии 1,0—5,0% раствора пектина холерные вибрионы исследованных штаммов во всех концентрациях утрачивали жизнеспособность уже через 1 ч воздействия (см. табл. 1).

Таким образом, 1,0—5,0% раствор пектина вызывает гибель холерных вибрионов различных серогрупп, как антибиотикочувствительных, так и обладающих множественной антибиотикорезистентностью, при воздействии всего в течение

Таблица 1. Чувствительность холерных вибрионов к пектину

Штаммы <i>V.cholerae</i>	Концентрация <i>V.cholerae</i> , микр. кл./мл	Концентрация раствора пектина, %											
		0,25				0,5				1,0—5,0			
		Экспозиция, ч											
		1	2	3	24	1	2	3	24	1	2	3	24
El Tor 5879	n×10 ⁴	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁵	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁶	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁷	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁸	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
El Tor 18826	n×10 ⁹	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
	n×10 ⁴	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁵	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁶	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁷	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
O139 16077	n×10 ⁸	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
	n×10 ⁹	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
	n×10 ⁴	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁵	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁶	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
non O1/ non O139 19190	n×10 ⁷	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁸	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁹	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
	n×10 ⁴	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁵	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁶	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁷	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁸	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	n×10 ⁹	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3. R — устойчивость; S — чувствительность.

Таблица 2. Влияние пектина на образование биоплёнок холерными вибрионами

Штаммы <i>V. cholerae</i>	Концентрация раствора пектина, %									
	0,25		0,5		1,0		2,0		5,0	
	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б
El Tor 5879	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S
El Tor 19613	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S
O139 16077	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S
non O1/ non O139 19190	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S

Примечание. П — планктон; Б — биоплёнка.

1 часа. По данным литературы, механизм анти-микробного действия пектинов связан с их способностью закислять реакционную среду, вызывая кислотное повреждение структур и белков бактериальной клетки. Дополнительно к этому могут протекать и другие процессы, например омыление этерифицированных карбоксильных групп с образованием соли (натриевой, калиевой, кальциевой и др.) и микроколичеств метилового спирта, безвредных для макроорганизма, но губительных для микроорганизмов [11]. В макроорганизме пектины способны избирательно стимулировать рост доминантной антагонистической кишечной микрофлоры (пребиотический эффект), активировать врожденный иммунитет хозяина, а также обладают детоксикационными свойствами [11, 12, 14].

Интересные данные получены при изучении влияния пектина на образование биоплёнок холерными вибрионами. В отпечатках биоплёнок

штаммов *V.cholerae* El Tor 5879, 19613, *V.cholerae* O139 16077, *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 при воздействии 2,0–5,0% раствора пектина на третьи сутки, отсутствовал рост холерных вибрионов на агаре Мартена. Однако 0,25–1,0% раствор пектина не препятствовал образованию биоплёнок этими штаммами (табл. 2).

Пектины, обладая высокими гелеобразующими свойствами, обусловленными гидрофильностью галактуроновых кислот, обволакивают бактерии, нарушая тем самым их адгезию — начальный этап процесса образования биоплёнок [11]. Проведённое S. Wang с соавт. [15] исследование показало, что показатель адгезии для *V.cholerae* достоверно снижался в присутствии пектинового олигосахарида до 16,1%. По мнению некоторых исследователей, использование веществ, способных препятствовать адгезии возбудителей, является перспективным направлением борьбы с биоплёнками [16].

Таблица 3. Действие пектина на биоплёнки холерных вибрионов

Штаммы <i>V.cholerae</i>	Концентрация раствора пектина, %																										
	0,25						0,5						1,0						2,0-5,0								
	Экспозиция, ч																										
	1		3		24		1		3		24		1		3		24		1		3		24				
	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б	П	Б			
El Tor 5879	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R		S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S
El Tor 18826	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R		S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S
El Tor 19613	R	R	R	R	R	R		R	R	S	R	S	R		S	R	S	R	S	S		S	S	S	S	S	S
El Tor 18904	R	R	R	R	S	R		S	R	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S
O139 16077	R	R	R	R	S	R		R	R	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S
non O1/ non O139 19190	R	R	S	R	S	R		S	R	S	R	S	S		S	S	S	S	S	S		S	S	S	S	S	S

При изучении влияния пектина на зрелые биоплёнки 6 штаммов *V.cholerae* были получены следующие результаты (табл. 3).

К 0,25% раствору пектина проявляли чувствительность лишь планктонные культуры *V.cholerae* El Tor 18904, *V.cholerae* O139 16077 (экспозиция 24 ч) и *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 (экспозиция 3 ч).

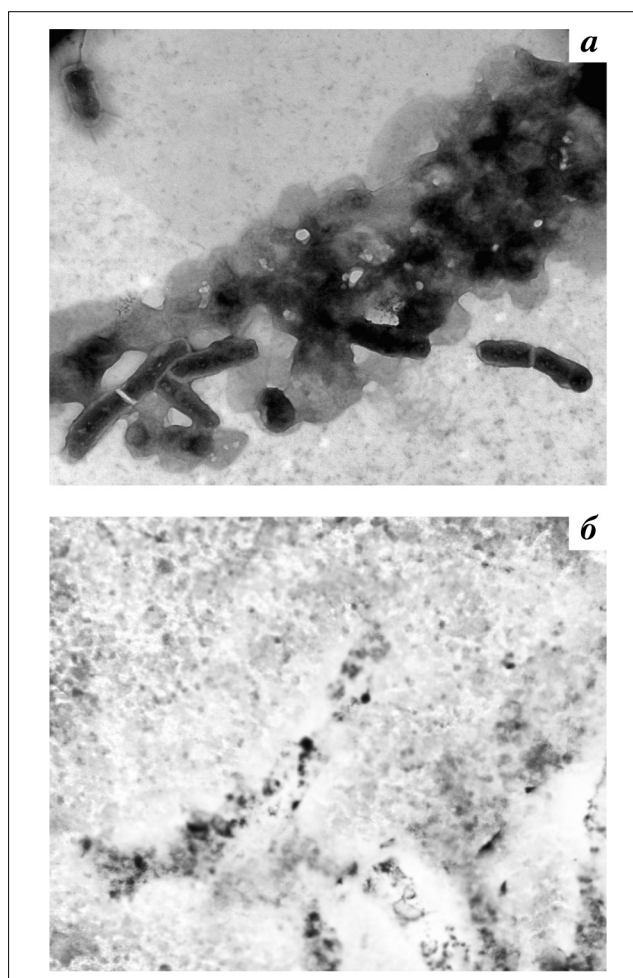
В присутствии 0,5% раствора пектина наступала гибель биоплёнок штаммов *V.cholerae* El Tor 18904 и *V.cholerae* O139 16077 через 3 ч, а *V.cholerae* non O1/ non O139 19190 — через 24 ч. Планктонные культуры этих штаммов утрачивали жизнеспособность через 1–3 ч.

На агаре Мартена отсутствовал рост вибрионов и планктонной и биоплёночной форм всех штаммов *V.cholerae* через 1 ч экспозиции с 1,0–5,0% раствором пектина, за исключением биоплёнок штамма *V.cholerae* El Tor 19613, которые оказались устойчивы к действию 1,0% раствора пектина в течение 1–3 ч (см. табл. 3).

Известно, что биоплёночные культуры более устойчивы к повреждающим факторам внешней среды, чем планктонные [17]. В нашем исследовании биоплёнки *V.cholerae* также оказались несколько более устойчивы к действию пектина в сравнении планктонными клетками. Однако пектин в концентрациях 2,0–5,0% продемонстрировал высокую антибактериальную активность в отношении биоплёночных форм холерных вибрионов.

С помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) нам удалось визуализировать результат воздействия 5,0 % раствора пектина (1 ч) на биоплёнки *V.cholerae* El Tor 5879 (рисунок).

В контроле без воздействия пектина видна биопленка, состоящая из групп бактерий, адгезированных к поверхности и окруженных густым аморфным веществом с многочисленными тяжами — внеклеточным экзополисахаридным матриксом (см. рисунок, а). В результате воздействия 5,0% раствора пектина (1 ч) выявлена выраженная деструкция матрикса с полным разрушением клеток холерных вибрионов (см. рисунок, б).

Биопленки *V.cholerae* El Tor 5879.

Третьи сутки, трансмиссионная электронная микроскопия, контрастирование рутениевым красным и тетраоксидом осмия, ув. ×30 000. а — без воздействия пектина (контроль); б — воздействие 5,0% раствора пектина в течение 1 ч.

Заключение

В настоящее время активно ведется разработка препаратов, активных в отношении биоплёнок холерных вибрионов. Так, исследования учёных позволили открыть вещества, ингибирующие кворум-сенсинг этих бактерий, разруша-

юющие биоплёнки *V.cholerae* и нарушающие их образование [18]. В нашем исследовании показано, что пектин в 2,0–5,0% концентрациях обладает высокой антибактериальной активностью как в отношении планктонных, так и биоплёночных форм холерных вибрионов, в том

числе обладающих множественной антибиотикорезистентностью, а также препятствует образованию биоплёнок. Подобные исследования способны открыть новые возможности снижения числа инфекций, обусловленных холерными вибрионами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжко И.В., Дудина Н.А., Ломов Ю.М., Шутько А.Г., Цураева Р.И., Анисимов Б.И. Антибактериальная активность 22 препаратов в отношении штаммов холерного вибриона O1 и O139 серогрупп, выделенных от людей в период с 1927 по 2005 гг. *Антибиотики и химиотерапия* 2005; 8–9: 38–42. / Ryzhko I.V., Dudina N.A., Lomov Ju.M., Shut'ko A.G., Curaeva R.I., Anisimov B.I. Antibakterial'naja aktivnost' 22 preparatov v otnoshenii shtammov holernogo vibriona O1 i O139 serogrupp, vydelennyh ot ljudej v period s 1927 po 2005 gg. *Antibiotiki i khimioter* 2005; 8–9: 38–42. [in Russian]
2. Селянская Н.А., Веркина Л.М., Березняк Н.А., Тумова С.В., Железняк Н.Г., Архангельская И.В. Сравнительная оценка антибиотикорезистентности штаммов *V. cholerae* non O1 / non O139, выделенных от людей в Ростовской области в разные годы. *Эпидемиол инфекц бол* 2015; 3: 32–35. / Seljanskaja N.A., Verkina L.M., Bereznyak N.A., Titova S.V., Zheleznyak N.G., Arhangel'skaja I.V. Sravnitel'naja ocenka antibiotikorezistentnosti shtammov *V. cholerae* non O1 / non O139, vydelennyh ot ljudej v Rostovskoj oblasti v raznye gody. *Jepidemiol infekc bol* 2015; 3: 32–35. [in Russian]
3. Balaji K., Okonjo P.A., Thenmozhi R., Karutha Pandian S. Virulence and Multidrug Resistance Patterns of *Vibrio cholerae* O1 Isolates from Diarrheal Outbreaks of South India During 2006–2009. *Microb Drug Resist* 2013; 19 (3): 198–203.
4. Kutar B.M., Rajpara N., Upadhyay H., Ramamurthy T., Bhardwaj A.K. Clinical isolates of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa of 2009 from Kolkata, India: preponderance of SXT element and presence of Haitian ctxB variant. *PLoS One* 2013; 8 (2): 5647.
5. Pal B.B., Khuntia H.K., Samal S.K., Kerketta A.S., Kar S.K., Karmakar M., Pattnaik B. Large outbreak of cholera caused by El Tor variant *Vibrio cholerae* O1 in the eastern coast of Odisha, India during 2009. *Epidemiol Infect* 2014; 141 (12): 2560–2567.
6. Jain M., Kumar P., Goel A.K. Emergence of Tetracycline Resistant *Vibrio cholerae* O1 Biotype EL tor Serotype Ogawa with Classical ctxB Gene from a Cholera Outbreak in Odisha, Eastern India. *J Pathog* 2016.
7. Кирилова О.Д., Селянская Н.А., Тумова С.В., Веркина Л.М. Чувствительность биопленок холерных вибрионов к антибактериальным препаратам. Инфекция и иммунитет. Материалы III Санкт-Петербургского международного экологического форума. С.-Пб.: 2014; 85. / Kirilova O.D., Seljanskaja N.A., Titova S.V., Verkina L.M. Chuvstvitel'nost' bioplenok holernyh vibriinov k antibakterial'nym preparatam. Infekcija i immunitet. Materialy III Sankt-Peterburgskogo mezhdunarodnogo jekologicheskogo foruma. S.-Pb.: 2014; 85. [in Russian]
8. Маркина О.В., Максименко Е.В., Маркин Н.В., Селянская Н.А., Шелухович А.И., Мазрухо А.Б., Борисенко Н.И. Изучение состава экстрактов растений, обладающих антимикробным эффектом в отношении *Vibrio cholerae* El Tor, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Журн микробиол* 2016; 1: 63–66. / Markina O.V., Maksimenko E.V., Markin N.V., Seljanskaja N.A., Shelohovich A.I., Mazruho A.B., Borisenko N.I. Izuchenie sostava ekstraktoev rastenij, obladajushhijh antimikrobnym jeffektom v otnoshenii *Vibrio cholerae* El Tor, s pomoshh'ju vysokoeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii. *Zhurn mikrobiol* 2016; 1: 63–66. [in Russian]
9. Kim H.I., Kim J.A., Choi E.J., Harris J.B., Jeong S.Y., Son S.J., Kim Y., Shin O.S. In vitro and in vivo antimicrobial efficacy of natural plant-derived compounds against *Vibrio cholerae* of O1 El Tor Inaba serotype. *Biosci Biotechnol Biochem* 2014; 79 (3): 475–83.
10. Потиевский Э.Г., Новиков А.И. Медицинские аспекты применения пектина. М.: Медицинская книга. 2002; 96. / Potievskij Je.G., Novikov A.I. Medicinskie aspekty primenenija pektina. M.: Medicinskaja kniga. 2002; 96. [in Russian]
11. Лазарева Е.Б., Меньшиков Д.Д. Опыт и перспективы использования пектинов в лечебной практике. *Антибиотики и химиотерапия* 1999; 44: 2: 37–40. / Lazareva E.B., Men'shikov D.D. Opyt i perspektivy ispol'zovanija pektinov v lechebnoj praktike. *Antibiotiki i khimioter* 1999; 44: 2: 37–40. [in Russian]
12. Потиевский Э.Г., Дроздов В.Н., Краснова В.И., Орлов М.Д., Макиенко Ю.Н., Белан Ю.Б., Горлачева Т.В., Лобова Ю.Ф., Галимуллина Н.Н., Бешевец Н.Н. Применение пектина в комплексной терапии острых кишечных инфекций у детей раннего возраста. *Детские инфекц* 2012; 11: 4: 64–67. / Potievskij Je.G., Drozdov V.N., Krasnova V.I., Orlov M.D., Makienko Ju.N., Belan Ju.B., Gorlacheva T.V., Lobova Ju.F., Galimullina N.N., Beshevec N.N. Primenenie pektina v kompleksnoj terapii ostryh kishhechnyh infekcij u detej rannego vozrasta. *Detskie infekc* 2012; 11: 4: 64–67. [in Russian]
13. Тумова С.В., Кушнарева Е.В. Оценка способности холерных вибрионов к образованию биопленок *in vitro* с помощью нового методического подхода. *Фундаментал исслед* 2014; 10: 375–379. / Titova S.V., Kushnareva E.V. Ocenka sposobnosti holernyh vibriinov k obrazovaniju bioplenok *in vitro* s pomoshh'ju novogo metodicheskogo podhoda. *Fundamental issled* 2014; 10: 375–379. [in Russian]
14. Inngjerdingen K.T., Langerud B.K., Rasmussen H., Olsen T.K., Austarheim I., Grønhaug T.E., Aaberge I.S., Diallo D., Paulsen B.S., Michaelsen T.E. Pectic polysaccharides isolated from Malian medicinal plants protect against *Streptococcus pneumoniae* in a mouse pneumococcal infection model. *Scand J Immunol* 2013; 77 (5): 372–388.
15. Wang S., Wang J., Mou H., Luo B., Jiang X. Inhibition of adhesion of intestinal pathogens (*Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, and *Salmonella Typhimurium*) by common oligosaccharides. *Foodborne Pathog Dis* 2015; 12 (4): 360–365.
16. Голуб А.В. Бактериальные биоплёнки — новая цель терапии? *Клин микробиол антимикроб химиотерапия* 2012; 14: 1: 23–29. / Golub A.V. Bakterial'nye biopljonki — novaja cel' terapii? *Klin mikrobiol antimikrob khimioter* 2012; 14: 1: 23–29. [in Russian]
17. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. *Журн микробиол* 2011; 3: 99–109. / Romanova Ju.M., Gincburg A.L. Bakterial'nye biopljonki kak estestvennaja forma sushhestvovaniya bakterij v okruzhajushhej srede i organizme hozjaina. *Zhurn mikrobiol* 2011; 3: 99–109. [in Russian]
18. Augustine N., Goel A.K., Sivakumar K.C., Ajay Kumar R., Thomas S. Resveratrol — a potential inhibitor of biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Phytomedicine* 2014; 21 (3): 286–289.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Селянская Надежда Александровна — к.м.н., ст.н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Егиазарян Лиана Альбертовна — м.н.с. лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Головин Сергей Николаевич — лаборант лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Потиевский Эмиль Григорьевич — к.м.н., Омская Государственная медицинская академия, Ростов-на-Дону

Веркина Людмила Михайловна — к.м.н., зав. лабораторией биологической безопасности и лечения ООИ, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Железняк Наталья Георгиевна — лаборант лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Повышение противогриппозной эффективности Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидола®) путём сочетанного применения с Кагоцелом®

А. Ф. ПОПОВ¹, А. И. СИМАКОВА¹, К. А. ДМИТRENKO¹, М. Ю. ЩЕЛКАНОВ^{2,3}

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток

² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

³ Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения, Владивосток

Increased Anti-influenza Efficacy of Oseltamivir (Tamiflu®) and Umifenovir (Arbidol®) by Combined Use with Kagocel®

A. F. POPOV¹, A. I. SIMAKOVA¹, K. A. DMITRENKO¹, M. YU. SHCHELKANOV²

¹ Pacific State Medical University, Vladivostok

² Far Eastern Federal University, Vladivostok

³ The Biological and Soil Institute of the Far Eastern Branch, Vladivostok

Проведено открытое проспективное сравнительное исследование эффективности монотерапии гриппа противовирусным препаратом в сравнении с комбинированной терапией двух противовирусных препаратов с разным механизмом действия (в рамках зарегистрированных для препаратов показаний к их медицинскому применению) у 200 больных гриппом А (H1N1) pdm09. У всех больных клинический диагноз был подтверждён индикацией вируса в назофарингеальных смывах методом полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени. Все пациенты случайным образом были разделены на 4 группы по 50 человек, были равнозначны по срокам поступления в стационар, возрасту, полу и срокам лечения от начала заболевания. Группа 1 получала монотерапию Умифеновиром по 800 мг/сут в 4 приёма на протяжении 5 дней; группа 2 — монотерапию Осельтамивиром по 150 мг/сут в два приёма в течение 5 дней; группа 3 — Умифеновир по описанной схеме в сочетании с Кагоцелом по 72 мг/сут в 3 приёма первые 2 дня и 36 мг/сут в 3 приёма в последующие 2 дня; группа 4 — Осельтамивир по описанной схеме в сочетании с Кагоцелом по 72 мг/сут в 3 приёма первые 2 дня и 36 мг/сут в 3 приёма в последующие 2 дня. Критериями клинической эффективности противовирусной терапии были сроки нормализации температуры, уменьшения интоксикации, катаральных симптомов, частоты основных клинических проявлений и частоты развития осложнений — после окончания лечения по сравнению с состоянием до его начала. При оценке длительности симптоматики конечной точкой считали отсутствие проявлений симптомов болезни в течение 24 ч. Исследование показало, что сочетание этиотропных препаратов Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидола®) с противовирусным средством Кагоцел® позволяет существенно повысить терапевтическую эффективность по сравнению с соответствующей монотерапией, что выражается в снижении частоты проявления основных клинических показателей, сокращении продолжительности клинических симптомов и уменьшении частоты развития осложнений. Отмечена хорошая переносимость лечения пациентами.

Ключевые слова: грипп, химиотерапия, сочетанная терапия, этиотропный препарат, индуктор интерферонов, Осельтамивир, Умифеновир, Кагоцел.

An open prospective comparative study of the efficacy of influenza monotherapy with antiviral drug versus combination therapy of two antiviral drugs with different mechanisms of action (within the limits of registered medical use for the drug) was performed in 200 patients with influenza A (H1N1) pdm09. In all patients, the clinical diagnosis was confirmed by the indication of the virus in nasopharyngeal washings by polymerase chain reaction with pre-reverse transcription (RT-PCR) in real time. All patients were randomly divided into 4 groups of 50 people, they were equivalent in terms of admission to hospital, age, sex, and the length of treatment from the onset of the disease. Group 1 received monotherapy with Umifenovir 800 mg/day in 4 divided doses for 5 days; Group 2 — monotherapy with Oseltamivir 150 mg/day in two doses for 5 days; Group 3 — Umifenovir according to the described scheme in combination with Kagocel 72 mg/day in 3 doses for the first 2 days and 36 mg/day in 3 doses in the following 2 days; Group 4 — Oseltamivir according to the described scheme in combination with Kagocel 72 mg/day in 3 doses for the first 2 days and 36 mg/day in 3 doses in the following 2 days. Criteria for the clinical efficacy of antiviral therapy were the time of temperature normalization, decrease of intoxication, catarrhal symptoms, frequency of the main clinical manifestations, and the frequency of complications development after the end of treatment in comparison with the state before it began. In assessing the duration of the symptomatology, the end point was the absence of symptoms of the disease within 24 hours. The study showed that the combination of etiotropic drugs Oseltamivir (Tamiflu®) and Umifenovir (Arbidol®) with the antiviral agent Kagocel® makes it possible to significantly improve the therapeutic efficacy compared with the corresponding monotherapy, which is expressed by a decrease in the frequency of manifestation of the main clinical indicators, a reduction in the duration of clinical symptoms, and a decrease in the frequency of complications. Good tolerability of treatment by patients was noted.

Keywords: influenza, chemotherapy, combined therapy, etiotropic drug, interferon inductor, Oseltamivir, Umifenovir, Kagocel.

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: Попов Александр Фёдорович,
690002 Владивосток, ул. Острякова, д. 2, ТГМУ

Введение

Грипп (заболевание, этиологически связанное с представителями *Influenza virus A, B и C* из семейства *Orthomyxoviridae*) и другие острые респираторные инфекции вирусной этиологии являются наиболее массовыми социально-значимыми заболеваниями. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), несмотря на массовую вакцинацию против гриппа в развитых странах, только тяжёлыми формами гриппа в мире ежегодно заболевают 3—5 млн человек. Заболеваемость гриппом и другими ОРВИ в РФ оценочно составляет 20—40 млн человек в год, из них 40—60% — дети. Гриппозная инфекция играет важную роль в обострении хронических заболеваний и развитии осложнений, нередко являющихся причиной смерти больных: показано, что наличие хронических сердечно-сосудистых или лёгочных заболеваний повышает риск летального исхода при гриппе в десятки раз [1—7].

Противогриппозные препараты являются необходимым элементом системы контроля эпидемического процесса по ряду причин. Во-первых, охват населения вакцинацией не является достаточным даже в развитых странах. Во-вторых, вакцины не защищают от заражения — они снижают риск возникновения тяжёлых форм заболевания, осложнений и летального исхода, поэтому не могут полностью исключить заболеваемость гриппом. В-третьих, эпидемический процесс может вызываться различными вариантами вирусов гриппа, и штаммовый состав современных трёх- или четырёхкомпонентных вакцин, который обновляется ВОЗ дважды в год (один раз для Северного, один — для Южного полушария), не может гарантированно соответствовать актуальным эпидемическим штаммам. В-четвёртых, под действием коллективного иммунитета происходит селекция эскейп-мутантов вируса («генетический дрейф»), так что к концу эпидсезона вирусы гриппа могут заметно отличаться от своих предшественников в начале того же эпидсезона. В-пятых, в результате генетической реассортации и адаптации вируса гриппа А птичьего происхождения к клеткам млекопитающих возможно появление вирусных вариантов совершенно новых субтипов с пандемическим потенциалом, разработка вакцин против которых потребует определённого времени — не менее двух-трёх месяцев, во время которых химиотерапия будет единственным средством сдерживания распространения заболевания [1, 4, 6, 8].

Этиотропные препараты являются основой противовирусной химиотерапии. Однако их широкое внедрение в клиническую практику чревато постепенной селекцией резистентных вирусных штаммов. Поэтому, какие бы эффективные химиотерапевтические схемы ни были доступны

в настоящее время, необходимо проводить постоянные исследования по поиску новых и оптимизации использования существующих химиопрепаратов [4, 6—12]. По мнению некоторых специалистов [5], одним из возможных способов преодоления резистентности является комбинированное применение противовирусных препаратов с различными механизмами действия. Преимущество над монотерапией в этом случае может заключаться не только в синергизме действия, но и в сложности формирования генетического барьера для возникновения резистентности, которая в этом случае требует наличия множественных мутаций в генетической структуре вируса.

Настоящее исследование посвящено сравнительной оценке терапевтической эффективности Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидола®) при монотерапии и в комбинации с Кагоцелом®.

Материал и методы

Пациенты. Включённые в исследование пациенты, находившиеся на лечении в Краевой клинической больнице № 2 г. Владивостока в период с декабря 2013 г. по март 2016 г. Из 200 человек в возрасте от 21 до 60 лет ($26,5 \pm 4,6$ лет), 100 человек (50%) составляли мужчины ($21—60$ лет; $31,2 \pm 4,2$ лет) 100 человек (50%) — женщины ($23—60$ лет; $34,3 \pm 4,3$ лет). Больные гриппом беременные женщины в исследование не включались. У всех пациентов отсутствовала вакцинация против гриппа, имелся клинический диагноз «Грипп, среднетяжёлая форма». Наличие инфекции гриппа А было подтверждено с помощью обследования назофарингеальных смывов методом полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени. Пациенты госпитализировались в различные сроки от начала болезни: от нескольких часов до 3 суток.

Химиопрепараты. Умифеновир (Арбидол®) применяли в форме таблеток 100 мг («Фармстандарт», Россия) при монотерапии по следующей схеме: 200 мг 4 раза / сут в течение 5 сут. Осельтамивир (Тамифлю®) применяли в форме капсул 75 мг («Ф. Хоффман-Ля Рош Лтд», Швейцария) при монотерапии по следующей схеме: 75 мг 2 раза в сутки в течение 5 сут. Кагоцел® (не имеет МНН, только торговое наименование) применяли в форме таблеток 12 мг («Ниармедик Фарма», Россия) только в сочетании с Умифеновиром или Осельтамивиром (см. выше) по схеме: 24 мг 3 раза / сут в течение первых суток, 12 мг 3 раза в сутки в течение последующих суток.

Дизайн исследования эффективности противовирусных препаратов: проспективное открытое сравнительное. Все пациенты были после подписания формы Информированного согласия на участие в исследовании случайным образом разделены на 4 группы по 50 человек. Группа 1 (30 мужчин, 20 женщин; возраст $28,1 \pm 2,7$ лет; сроки госпитализации от начала заболевания $2,0 \pm 0,5$ сут) получила монотерапию Умифеновиром; группа 2 (23 мужчины, 27 женщин; $29,2 \pm 3,1$ лет; $2,7 \pm 0,8$ сут) — монотерапию Осельтамивиром; группа 3 (26 мужчин, 24 женщины; $23,6 \pm 2,9$ лет; сроки — $1,9 \pm 0,6$ сут.) — комбинированную терапию Умифеновиром и Кагоцелом®; группа 4 (21 мужчина, 29 женщин; $26,8 \pm 3,0$ лет; сроки — $1,7 \pm 0,6$ сут) — терапию Осельтамивиром и Кагоцелом®. Группу контроля не формировали по этическим соображениям.

Критерии клинической эффективности противовирусных препаратов: сроки нормализации температуры, уменьшение интоксикации, катаральных симптомов, частоты основных

клинических проявлений и частоты развития осложнений после окончания лечения по сравнению с состоянием до начала лечения. При оценке длительности симптомов конечной точкой считали их отсутствие в течение 24 ч.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием методов эмпирического (вычисление средних значений и среднеквадратических отклонений) и параметрического (*t*-критерий Стьюдента) подходов [13] с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 («StatSoft», США).

Результаты исследования

Течение гриппа во всех группах пациентов характеризовалось типичными клиническими проявлениями [3–7]. Клиника характеризовалась острым началом (100%), быстрым подъёмом температуры до субфебрильных (34,5%) или фебрильных (65,5%) значений. В острый период заболевания до начала лечения у больных регистрировали симптомы общей интоксикации: слабость (100%), головная боль (70%), миалгия (61%), снижение аппетита (54%), реже регистрировали боли в глазных яблоках (9%). С первого–второго дня болезни у большинства больных имели место катаральные симптомы: насморк (89%), кашель (72%), боли в горле (44%). Картина периферической крови в разгар болезни характеризовалась нормоцито-

зом (71%), реже отмечались лейкопения (15,5%) и лейкоцитоз (13,5%). Клинические показатели до начала лечения во всех четырёх группах пациентов были сопоставимы.

Побочных эффектов в процессе применения химиотерапии во всех группах пациентов выявлено не было. Снижение частоты клинических проявлений гриппа после окончания лечения представлено в табл. 1, продолжительность основных симптомов заболевания — в табл. 2, частота возникновения осложнений — в табл. 3.

Обсуждение результатов

Каждая стадия жизненного цикла вируса гриппа А может стать мишенью для действия противовирусных химиопрепаратов. Однако под действием селективного прессинга со стороны химиопрепарата вирусная популяция постепенно обогащается резистентными вирусными вариантами, и этот эффект проявляется на всех уровнях системной организации — от отдельной инфицированной клетки до крупных человеческих популяций [1, 2, 4–6, 9–12, 14–16]. Последний эффект является наиболее нежелательным, поскольку резко снижает возможности химиоте-

Таблица 1. Частота клинических проявлений гриппа (в %) до начала и после окончания химиотерапии*

Синдром	Симптом	Группы до начала лечения				Группы после окончания лечения			
		1-я	2-я	3-я	4-я	1-я	2-я	3-я	4-я
Температура	Субфебрильная (37,0–37,9°C)	36	32	34	36	4	—	—	—
	Фебрильная (38,0°C и выше)	64	68	66	64	—	—	—	—
Общая интоксикация	Слабость	100	100	100	100	8	2	—	2
	Головная боль	60	72	80	68	—	—	—	—
	Боль в глазных яблоках	10	14	6	6	4	2	—	4
	Миалгия	62	76	76	30	—	4	—	—
	Снижение аппетита	54	64	50	48	8	2	2	2
Симптоматика	Кашель	72	86	70	60	6	4	—	2
	Насморк	96	86	80	94	4	—	—	—
	Боль в горле	50	42	36	48	—	4	—	—

Примечание. Здесь и в табл. 3: * Пациенты группы 1 получали монотерапию Умифеновиром; группы 2 — монотерапию Осельтамивиром; группы 3 — сочетанную терапию Умифеновиром и Кагоцелом®; группы 4 — сочетанную терапию Осельтамивиром и Кагоцелом®. В каждой группе было по 50 пациентов.

Таблица 2. Продолжительность клинических проявлений гриппа в зависимости от проводимой противовирусной терапии

Показатель	Продолжительность*, сут			
	группа 1	группа 2	группа 3	группа 4
Лихорадка	6,0±0,9	3,3±0,6	2,0±0,6	1,9±0,5
Общая интоксикация	5,2±0,5	4,0±0,5	3,0±0,6	2,3±0,6
Катаральный синдром	8,2±0,8	5,8±0,6	3,3±0,7	3,3±0,5

Примечание. * Формат представления данных: среднее значение ± математическое ожидание дисперсии.

Таблица 3. Частота возникновения осложнений при гриппе в зависимости от проводимой противовирусной терапии

Осложнение	Встречаемость, %			
	группа 1	группа 2	группа 3	группа 4
Пневмония	10	6	0	2
Миокардит	2	0	0	0
Синусит	8	6	2	2

рапии как инструмента контроля эпидемического процесса. В целях снижения интенсивности формирования резистентных вирусных штаммов рекомендуется использовать сочетания этиотропных химиопрепаратов с различным механизмом действия или же комбинацию этиотропного и иммуномодулирующего препарата [4—6, 14].

Умифеновир (Арбидол®) первоначально рассматривался как иммуностимулятор, повышающий активность фагоцитов и нормализующий абсолютные и относительные показатели иммунокомпетентных клеток [17, 18]. Именно в этом качестве Арбидол® был введен в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств» Распоряжением Правительства Российской Федерации от 30.12.2009 № 2135 р. Однако в последнее десятилетие накопились экспериментальные данные о том, что Умифеновир обладает прямым ингибирующим действием на репродукцию вируса гриппа А, нарушая процесс слияния мембран вириона и эндосомы, и тем самым ингибируя проникновение нуклеопротеида в цитоплазму клетки-мишени [4, 6, 14, 19—22].

Осельтамивир (Тамифлю®) является ингибитором вирусной нейраминидазы, тетрамеры которой формируют пепломеры на поверхности вириона и основная функция которых заключается в ферментативном отщеплении терминального остатка нейраминовой кислоты от гликанов, способных выступать в качестве рецепторов для вирусного гемагглютинаина. Последнее необходимо для открепления от «ложных клеточных рецепторов» и почкования дочерних вирионов от инфицированной клетки [4, 6, 14, 23, 24].

Кагоцел — противовирусный препарат, основным механизмом действия которого является способность индуцировать в организме продукцию собственных интерферонов. Активное вещество Кагоцел — сополимер госсипола с карбоксиметилцеллюлозой (госсипол — природный полифенол, получаемый из хлопчатника), он имеет способность стимулировать продукцию интерферона-альфа и интерферона-бета, обладающих высокой противовирусной активностью [6, 15, 25—28].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что Умифеновир обладает меньшей терапевтической эффективностью в отношении вируса гриппа А по сравнению с Осельтамивиром: длительность лихорадки (см. табл. 2) и частота развития пневмоний (см. табл. 3) в группе 1 статисти-

чески достоверно превышает эти показатели для группы 2 ($p < 0,05$ и $p < 0,05$, соответственно). В период реконвалесценции в первой группе в сравнении с группой 2 чаще сохранялись такие симптомы, как субфебрильная температура, снижение аппетита, ринит ($p < 0,05$; $p < 0,05$; $p < 0,05$, соответственно).

Введение в терапевтическую схему индуктора интерферонов препарата Кагоцел® по сравнению с соответствующей монотерапией Осельтамивиром и Умифеновиром позволяет сократить длительность лихорадки (см. табл. 2) (для групп 1 и 3 $p < 0,0005$; для групп 2 и 4 $p < 0,005$), общей интоксикации (для групп 1 и 3 — $p < 0,05$; для групп 2 и 4 — $p < 0,05$) и катарального синдрома: для групп 1 и 3 — $p < 0,05$; для групп 2 и 4 — $p < 0,05$, снизить частоту возникновения пневмоний ($p < 0,05$) и синуситов ($p < 0,05$). Также применение комбинированной терапии позволило снизить частоту сохранения в период реконвалесценции таких симптомов, как слабость: для групп 1 и 3 — $p < 0,05$; для групп 2 и 4 — $p < 0,05$, снижение аппетита (для групп 1 и 3 — $p < 0,05$), кашель: для групп 1 и 3 — $p < 0,05$; для групп 2 и 4 — $p < 0,05$.

Наиболее выраженным синергичное действие Кагоцела® было отмечено при его сочетании с Умифеновиром (группа 3 в табл. 1—3). При этом, практически все показатели группы 3 оказались сопоставимы (неотличимы статистически достоверно) от аналогичных показателей группы 4 (см. табл. 1—3), получавшей комбинированную терапию Осельтамивиром и Кагоцелом®.

Таким образом, сочетание этиотропных препаратов Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидола®) с Кагоцелом® позволяет существенно повысить терапевтическую эффективность по сравнению с соответствующей монотерапией, что выражается в снижении частоты основных клинических показателей, сокращении продолжительности клинических симптомов и уменьшении частоты развития осложнений.

Следует отметить хорошую переносимость проводимой терапии больными. Не были зарегистрированы нежелательные явления, со стороны лабораторных показателей негативные изменения также не отмечены.

Источники финансирования работы: ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»

ЛИТЕРАТУРА

1. Малеев В.В. «Новые» респираторные инфекции. Инфекционные болезни 2005; 3 (4): 5—7. / Maleev V.V. «Novye» respiratornye infekcii. Infekcionnye bolezni 2005; 3 (4): 5—7. [in Russian]
2. Шелканов М.Ю., Федякина И.Т., Прошина Е.С., Пономаренко Р.А., Львов Д.Н., Чумаков В.М. и др. Таксономическая структура Orthomyxoviridae: современное состояние и ближайшие перспективы. Вестник РАМН 2011; 5: 12—19. / Shelkanov M.Ju., Fedjakina I.T., Proshina E.S., Ponomarenko R.A., Lvov D.N., Chumakov V.M. i dr. Taksonomicheskaja struktura Orthomyxoviridae: sovremennoe sosto-

janie i blizhajshie perspektivy. Vestnik RAMN 2011; 5: 12—19. [in Russian]

3. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Шелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В., Самохвалов Е.И. и др. Пандемический грипп в России: отличительные особенности клинического течения и отсутствие ранней этиотропной терапии как фактор риска развития тяжёлых форм заболевания. Тер архив 2011; 83 (9): 48—53. / Kolobuhina L.V., Merkulova L.N., Shhelkanov M.Ju., Burceva E.I., Lavrishheva V.V., Samohvalov E.I. i dr. Pandemicheskij gripp v Rossii: otlichitel'nye osobennosti klinicheskogo techenija i otsutstvie rannej jetiotropnoj terapii kak faktor riska razvitija tjazholyh form zabolevanija. Ter arhiv 2011; 83 (9): 48—53. [in Russian]

4. Шелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез. Леч врач 2011; 10: 33—38. / *Shelkanov M.Ju., Kolobuhina L.V., L'vov D.K.* Gripp: istorija, klinika, patogenez. Lch vrach 2011; 10: 33—38. [in Russian]
5. Малеев В.В., Селькова Е.П., Простяков И.В., Осипова И.А. Фармако-эпидемиологическое исследование течения гриппа и других ОРВИ в сезоне 2010/2011 гг. Инфекц бол 2012; 10 (3): 15—23. / *Maleev V.V., Sel'kova E.P., Prostjakov I.V., Osipova I.A.* Farmakoeipidemiologicheskoe issledovanie techenija grippa i drugih ORVI v sezone 2010/2011 gg. Infekc bol 2012; 10 (3): 15—23. [in Russian]
6. Львов Д.К., ред. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: МИА; 2013. / *L'vov D.K., red.* Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infekcii cheloveka i zhivotnyh. M.: MIA; 2013. [in Russian]
7. Попов А.Ф., Симакова А.И., Дмитренко К.А. Клиника гриппа, вызванная разными серотипами вируса. Эпидемиол инфекц бол 2015; 6: 39—43. / *Popov A.F., Simakova A.I., Dmitrenko K.A.* Klinika grippa, vyzvannaja raznymi serotipami virusa. Jepidemiol infekc bol 2015; 6: 39—43. [in Russian]
8. Шелканов М.Ю., Львов Д.К. Генотипическая структура рода Influenza A virus. Вестник РАМН 2011; 5: 19—23. / *Shelkanov M.Ju., L'vov D.K.* Genotipicheskaja struktura roda Influenza A virus. Vestnik RAMN 2011; 5: 19—23. / *Shelkanov M.Ju., L'vov D.K.* Genotipicheskaja struktura roda Influenza A virus. Vestnik RAMN 2011; 5: 19—23. [in Russian]
9. Шибнев В.А., Гараев Т.М., Финогонова М.П., Шевченко Е.С., Бурцева Е.И. Новые производные адамантана, способные преодолеть резистентность вируса гриппа А (H1N1) pdm09 и А (H3N2) к «ремантадину». Бюлл экспер биол мед 2012; 153 (2): 200—202. / *Shibnev V.A., Garaev T.M., Finogenova M.P., Shevchenko E.S., Burceva E.I.* Novye proizvodnye adamantana, sposobnye preodolet' rezistentnost' virusa grippa A (H1N1) pdm09 i A (H3N2) k «remantadinu». Bjull jekspier biol med 2012; 153 (2): 200—202. [in Russian]
10. Шелканов М.Ю., Шибнев В.А., Финогонова М.П., Федякина И.Т., Гараев Т.М., Маркова Н.В., Кирилов И.М. Противовирусная активность производных адамантана в отношении вируса гриппа А (H1N1) pdm2009 на модели *in vivo*. Вopr вирусол 2014; 59 (2): 37—40. / *Shelkanov M.Ju., Shibnev V.A., Finogenova M.P., Fedjakina I.T., Garaev T.M., Markova N.V., Kirilov I.M.* Protivovirusnaja aktivnost' proizvodnyh adamantana v otnoshenii virusa grippa A (H1N1) pdm2009 na modeli *in vivo*. Vopr virusol 2014; 59 (2): 37—40. [in Russian]
11. Li T.C., Chan M.C., Lee N. Clinical Implications of Antiviral Resistance in Influenza. Viruses 2015; 7 (9): 4929—4944.
12. Naesens L., Stevaert A., Vanderlinden E. Antiviral therapies on the horizon for influenza. Curr Opin Pharmacol 2016; 30: 106—115.
13. Феллер В. Введение в теорию вероятностей и её приложения. В 2-х т. М.: Мир; 1984. / *Feller V.* Vvedenie v teoriju verojatnostej i ejo prilozhenija. V 2-h t. M.: Mir; 1984. [in Russian]
14. Зарубаев В.В., Анфимов П.М., Штро А.А., Гаришнина А.В., Мелешкина И.А., Мелешкина И.А. и др. Вopr вирусол 2012; 57 (6): 30—36. / *Zarubaev V.V., Anfimov P.M., Shtro A.A., Garshinina A.V., Meleshkina I.A., Meleshkina I.A. i dr.* Vopr virusol 2012; 57 (6): 30—36. [in Russian]
15. Шелканов М.Ю., Попов А.Ф., Симакова А.И., Зенин И.В., Прошина Е.С., Кирилов И.М. и др. Патогенез гриппа: механизмы модуляции белками возбудителя. Журн инфектол 2015; 7 (2): 31—46. / *Shelkanov M.Ju., Popov A.F., Simakova A.I., Zenin I.V., Proshina E.S., Kirillov I.M. i dr.* Patogenez grippa: mehanizmy moduljacji belkami vzbuditelja. Zhurn infektol 2015; 7 (2): 31—46. [in Russian]
16. Tanner E.J., Kirkegaard K.A., Weinberger L.S. Exploiting genetic interference for antiviral therapy. PLoS Genet 2016; 12 (5): e1005986.
17. Глушков Р.Г., Гуськова Т.А., Крылова Л.Ю., Николаева И.С. Механизмы иммуномодулирующего действия арбидола. Вестник РАМН 1999; 3: 36—40. / *Glushkov R.G., Gus'kova T.A., Krylova L.Ju., Nikolaeva I.S.* Mehanizmy immunomodulirujushhego dejstvija arbidola. Vestnik RAMN 1999; 3: 36—40. [in Russian]
18. Семененко Т.А., Селькова Е.П., Готвянская Т.П., Гайдаренко А.Д., Полежаева Н.А., Евсеева Л.Ф., Николаева О.Г. Показатели иммунного статуса при специфической и неспецифической профилактики гриппа у лиц пожилого возраста. ЖМЭИ 2005; 6: 24—28. / *Semenenko T.A., Sel'kova E.P., Gotvjanskaja T.P., Gajdarenko A.D., Polezhaeva N.A., Evseeva L.F., Nikolaeva O.G.* Pokazateli immunnogo statusa pri specificheskoj i nespecificheskoj profilaktike grippa u lic pozhilogo vozrasta. ZhMJeI 2005; 6: 24—28. [in Russian]
19. Boriskin Y., Leneva I., Pecheur E., Polyak S. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. Current Med Chem 2008; 15: 997—1005.
20. Leneva I.A., Russell R.J., Boriskin Y.S., Hay A.J. Characteristics of arbidol-resistant mutants of influenza virus: implications for the mechanism of anti-influenza action of arbidol. Antiviral Res 2009; 81 (2): 132—140.
21. Teissier E., Zandomeneghi G., Loquet A., Lavillette D., Laverne J.P., Montserret R. et al. Mechanism of inhibition of enveloped virus membrane fusion by the antiviral drug arbidol. PLoS One 2011; 6 (1): e15874.
22. Blaising J., Levy P.L., Polyak S.J., Stanifer M., Boulant S., Pecheur E.I. Arbidol inhibits viral entry by interfering with clathrin-dependent trafficking. Antiviral Res 2013; 100 (1): 215—219.
23. Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Шелканов М.Ю. Осельтамивир (Тамифлу™): возможность высокоэффективного лечения гриппа. Русс мед журн 2008; 16 (2): 69—73. / *Burceva E.I., Kolobuhina L.V., Merkulova L.N., Shelkanov M.Ju.* Osel'tamivir (Tamiflu™): vozmozhnost' vysokoeffektivnogo lechenija grippa. Russ med zhurn 2008; 16 (2): 69—73. [in Russian]
24. Jefferson T., Jones M.A., Doshi P., Del Mar C.B., Hama R., Thompson M.J. et al. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults and children. Cochrane Database Syst Rev 2014; 4: CD008965.
25. Еришов Ф.И., Киселев О.И. Вирусы гриппа и система интерферона. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: Медицина; 2005. / *Ershov F.I., Kiselev O.I.* Virusy grippa i sistema interferona. Interferony i ih induktory (ot molekul do lekarstv). M.: Medicina; 2005. [in Russian]
26. Вартамян Р.В., Сергеева Э.М., Чешик С.Г. Оценка терапевтической эффективности препарата Кагоцел® у детей младшего и дошкольного возраста с острыми респираторными вирусными инфекциями. Дет инфекц 2011; 10 (1): 36—41. / *Vartanjan R.V., Sergeeva E.M., Cheshik S.G.* Ocenka terapevticheskoj jeffektivnosti preparata Kagocel® u detej mladshogo i doskol'nogo vozrasta s ostrymi respiratornymi virusnymi infekcijami. Det infekc 2011; 10 (1): 36—41. [in Russian]
27. Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Малышев Н.А., Шелканов М.Ю., Исаева Е.И., Шестакова О.М. и др. Применение местной интерферонотерапии в комплексном лечении гриппа, осложнённого ангиной / В сб.: Еришов Ф.И., Наровлянский А.Н., ред. Интерферон-2011. М.: 2012; 174—181. / *Kolobuhina L.V., Merkulova L.N., Malyshev N.A., Shelkanov M.Ju., Isaeva E.I., Shestakova O.M. i dr.* Primenenie mestnoj interferonoterapii v kompleksnom lechenii grippa, oslozhnjonnogo anginoj / V sb.: Ershov F.I., Narovljanskij A.N., red. Interferon-2011. M.: 2012; 174—181. [in Russian]
28. Berry C.M. Understanding Interferon Subtype Therapy for Viral Infections: Harnessing the Power of the Innate Immune System. Cytokine Growth Factor Rev 2016; 31: 83—90.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Попов Александр Фёдорович — д.м.н., профессор; профессор кафедры инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета, Владивосток

Симакова Анна Ивановна — д.м.н., доцент; заведующая кафедрой инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета, Владивосток

Дмитренко Ксения Александровна — ассистент кафедры инфекционных болезней Тихоокеанского государственного медицинского университета, Владивосток

Шелканов Михаил Юрьевич — д.б.н., доцент; заведующий лабораторией экологии микроорганизмов Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия; заведующий лабораторией вирусологии Биолого-почвенного института Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток

Практика ведения пациентов с инфекционным эндокардитом в Российской Федерации

А. И. ДАНИЛОВ*, Р. С. КОЗЛОВ, С. Н. КОЗЛОВ, А. В. ДЕХНИЧ

Смоленский государственный медицинский университет Минздрава России, Смоленск

The Practice of Managing the Patients with Infective Endocarditis in the Russian Federation

A. I. DANILOV, R. S. KOZLOV, S. N. KOZLOV, A. V. DEKHNICH

Smolensk State Medical University, Smolensk

Представлены данные многоцентрового исследования этиологии, антибиотикочувствительности и фармакоэпидемиологии инфекционного эндокардита в 10 регионах России. Цель настоящего исследования — проанализировать диагностику и антибактериальную терапию пациентов с инфекционным эндокардитом. В исследование включались пациенты обоего пола всех возрастных групп с определённым и вероятным инфекционным эндокардитом. Проанализировано 406 (в проспективной части — 166, в ретроспективной — 240) случаев инфекционного эндокардита. Этиологически значимый возбудитель был выделен в 144 (35,5%) случаях. В этиологии преобладали грам(+) кокки (90,3%), чаще всего — *S. aureus* (46,5% всех выделенных возбудителей). При стартовой антибактериальной терапии наиболее часто назначались аминогликозиды — в 22,8% и парентеральные цефалоспорины III поколения — в 22,1% случаев. При смене антибактериальной терапии более часто назначались гликопептиды — в 18,6% случаев.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, этиологическая структура, бактериологическое исследование крови, антибактериальная терапия.

The data of a multicenter study of the etiology, antibiotic susceptibility, and pharmacoepidemiology of infective endocarditis in 10 regions of Russia is presented. The aim of the study was to analyse the diagnostication and antibacterial therapy in patients with infectious endocarditis. Patients of both sexes and all age groups with a definite and probable infective endocarditis were enrolled in the study. 406 cases of infectious endocarditis were analysed (106 prospective and 240 retrospective). The etiologically valid pathogen was isolated from 144 cases (35.5%). Grampositive cocci (90.3%), mainly *S. aureus* (46.5% of the all the isolates) prevailed. In the starting antibacterial therapy the most frequent drugs were aminoglycosides (22.8%) and the 3rd generation parenteral cephalosporins (22.1%). With the change of antibacterial therapy, glycopeptides were more often prescribed — 18.6% of cases.

Keywords: infectious endocarditis, etiological pattern, bacteriological blood analysis, antibacterial therapy.

Введение

Заболеваемость инфекционным эндокардитом (ИЭ) составляет 3—10 случаев на 100 тыс человек в год. Несмотря на совершенствование методик диагностики и терапии, летальность при ИЭ остается достаточно высокой, составляя 15—20% [1—3]. Характерной особенностью современного ИЭ является значительная гетерогенность, которая заключается в широком спектре клинических проявлений, зависящих от предрасполагающих факторов, этиологического агента и наличия местных и общих осложнений.

В структуре возбудителей ИЭ ведущую роль традиционно играют грамположительные микроорганизмы [1, 4]. В течение последних десятилетий увеличилось количество основных факторов риска данной нозологии. Существенную роль

стали играть внутривенная наркомания, кардиохирургические операции, инвазивные медицинские манипуляции (длительная катетеризация вен, гемодиализ и др.). Для обеспечения эффективности лечения ИЭ в РФ необходимо знать реальную структуру возбудителей данной нозологии и осуществлять регулярный мониторинг динамики их резистентности к антимикробным препаратам.

Цель настоящего исследования — проанализировать сложившуюся практику диагностики и антибактериальной терапии пациентов с ИЭ в РФ.

Материал и методы

Было проведено многоцентровое исследование этиологии, антибиотикорезистентности и фармакоэпидемиологии ИЭ, состоявшее из 2 частей: проспективной (сентябрь 2011 г. — декабрь 2015 г.) и ретроспективной (январь 2006 г. — август 2011 г.).

В исследование включались пациенты обоего пола всех возрастных групп с определённым и вероятным ИЭ. Диагноз ИЭ выставлялся согласно критериям Duke. В исследование были включены 406 (в проспективной части — 166, в ретро-

© Коллектив авторов, 2017

* Адрес для корреспонденции: E-mail: dr.DanAndr@yandex.ru

Характеристика включённых в исследование случаев ИЭ, n (%)

Характеристики	Сентябрь 2011 г. — декабрь 2015 г.	Январь 2006 г. — август 2011 г.	Весь период
Возраст, среднее значение	45,04±16,7	42,52±15,39	43,55±15,97
Пол			
мужчины	124/166 (74,7)	155/240 (64,6)	279/406 (68,7)
женщины	42/166 (25,3)	85/240 (35,4)	127/406 (31,3)
Локализация ИЭ			
митральный клапан	74/166 (44,6)	103/240 (42,9)	177/406 (43,6)
аортальный клапан	66/166 (39,8)	88/240 (36,7)	154/406 (37,9)
трикуспидальный клапан	57/166 (34,3)	84/240 (35,0)	141/406 (34,7)
клапан лёгочной артерии	1/166 (0,6)	1/240 (0,4)	2/406 (0,5)
Тип клапана			
нативный клапан	138/166 (83,1)	217/240 (90,4)	355/406 (87,4)
протезированный клапан	28/166 (16,9)	23/240 (9,6)	51/406 (12,6)
Факторы риска			
внутривенная наркомания	49/144 (34,0)	90/211 (42,7)	139/355 (39,2)
приобретённый порок сердца	52/144 (36,1)	66/211 (31,3)	118/355 (33,2)
врождённый порок сердца	15/144 (10,4)	23/211 (10,9)	38/355 (10,7)
ранее перенесённый ИЭ	27/144 (18,8)	38/211 (18,0)	65/355 (18,3)
предшествующая операция на сердце (1 год)	28/144 (19,4)	23/211 (10,9)	51/355 (14,4)
предшествующие инфекции кожи и мягких тканей (90 дней)	12/144 (8,3)	18/211 (8,5)	30/355 (8,5)

спективной — 240) случаев ИЭ. Критериями включения в исследование были: наличие диагноза определённого или вероятного ИЭ в истории болезни пациента, факт взятия хотя бы одного образца крови для бактериологического исследования, данные эхокардиографии, доступность медицинской документации для заполнения индивидуальной регистрационной карты пациента.

Пациенты находились на стационарном лечении в 12 лечебных учреждениях 10 городов РФ (Смоленск, Москва, Архангельск, Казань, Омск, Тюмень, Якутск, Санкт-Петербург, Ярославль, Иркутск). Все стационары, принявшие участие в проспективном и ретроспективном исследованиях, являются многопрофильными и располагают собственной микробиологической лабораторией.

Взятие крови для бактериологического исследования, идентификация возбудителя и определение его чувствительности к антибиотикам проводились в соответствии с рутинной локальной практикой.

В ходе исследования по каждому пациенту собирались анамнестические и клинические данные. Данные вносились в специально разработанные индивидуальные регистрационные карты и в дальнейшем вводились с использованием метода двойного ввода в специализированную базу данных, разработанную на основе базы управления данными Microsoft Access для Windows. Статистическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета SAS Institute, США, версия 8.02 для Windows XP.

Результаты исследования

Демографическая характеристика пациентов, локализация инфекции, тип поражённого клапана и факторы риска развития ИЭ приведены в таблице.

При проведении эхокардиографии в проспективной части исследования в 75,3% использовалась только трансторакальная эхокардиография, только трансэзофагеальная эхокардиография — в 4,8%, оба вида — в 19,9% случаев. В ретроспективной части исследования аналогичные показатели составили — 90,4, 2,9 и 6,7%, в общей структуре исследования — 84,2, 3,7 и 12,1% (рис. 1).

При проведении бактериологического исследования многократное взятие образцов крови прово-

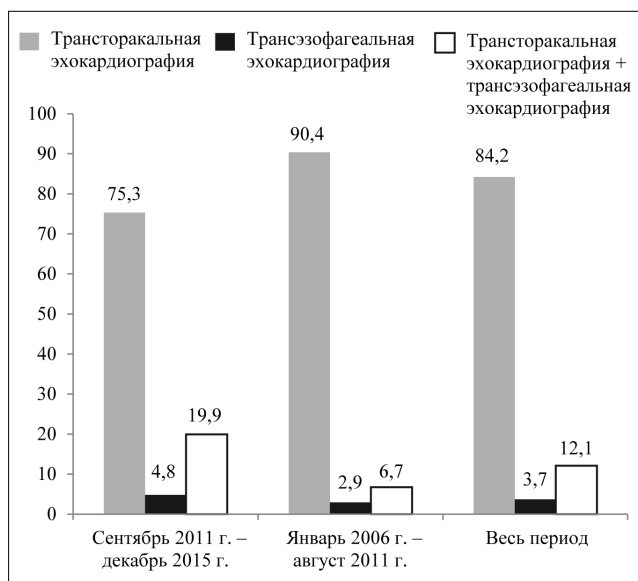


Рис. 1. Виды использованной эхокардиографии, %.

дилось в 52,7%, однократное в — 47,3% (в проспективной части — в 51,8 и 48,2%, в ретроспективной части — в 53,7 и 46,3% случаев, соответственно).

Взятие образцов крови для бактериологического исследования до назначения стартовой антибактериальной терапии проводилось в 20,9% (в проспективной части — в 19,3%, в ретроспективной части — в 22,1%) случаев (рис. 2).

Этиологически значимый возбудитель был выделен в 144 (35,5%) случаях. В этиологии преобладали грам(+) кокки (90,3%), причём чаще всего — *Staphylococcus aureus* (46,5% от всех выделенных возбудителей) (рис. 3).

В ходе определения антибиотикочувствительности выделенных возбудителей установлено, что 19 (28,4%) из 67 штаммов *S.aureus* являлись метицил-

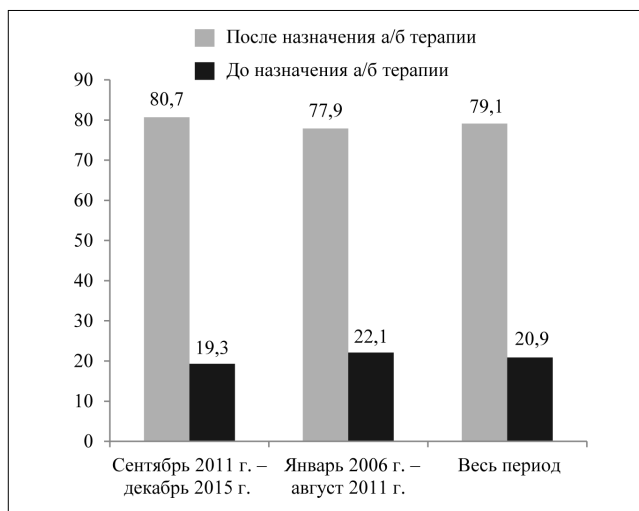


Рис. 2. Отношение времени проведения бактериологического исследования крови к назначению антибактериальной терапии (а/б).

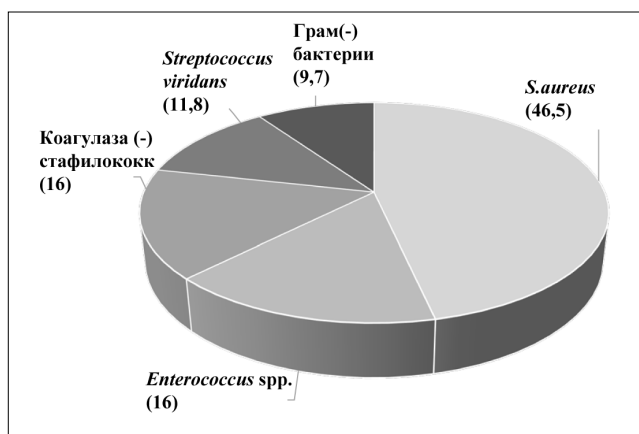


Рис. 3. Возбудители ИЭ, выделенные в ходе исследования, %.

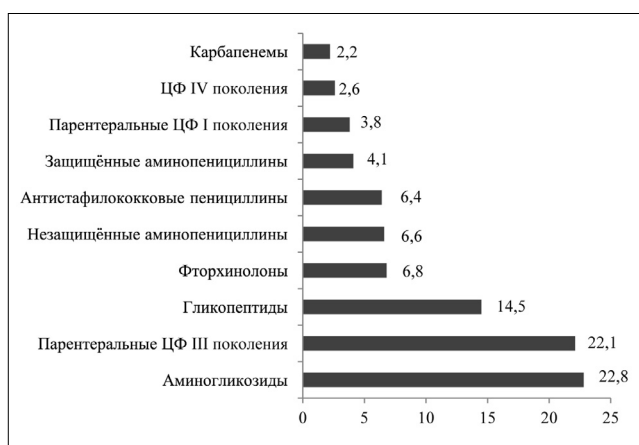


Рис. 4. Частота назначения антимикробных препаратов при стартовой терапии ИЭ, %.



Рис. 5. Частота назначения режимов антимикробных препаратов при стартовой терапии ИЭ, %.

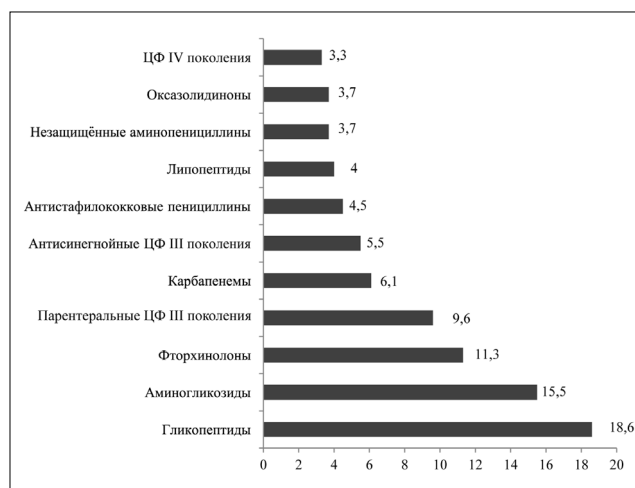


Рис. 6. Частота назначения антимикробных препаратов при смене терапии ИЭ, %.

линорезистентными. Из 24 штаммов *Enterococcus* spp. 13 (56,5%) были устойчивы к гентамицину.

В качестве стартовой терапии комбинированная антибактериальная терапия использовалась в 41,7%, монотерапия — в 59,3% случаев. Наиболее часто назначались аминогликозиды — 22,8% и парентеральные цефалоспорины III поколения — 22,1%, реже гликопептиды — 14,5% (рис. 4). Среди режимов стартовой антибактериальной терапии наиболее часто назначались цефтриаксон и ванкомицин в качестве монотерапии: в 17,0 и 7,2%, соответственно (рис. 5).

В 66,9% стартовая антибактериальная терапия была изменена. При смене антибактериальной терапии наиболее часто назначались гликопептиды — 18,6%, аминогликозиды — 15,5%, фторхинолоны — 11,3%, парентеральные цефалоспорины III поколения — 9,6% (рис. 6).

Обсуждение результатов

Среди визуализирующих методов диагностики ИЭ наиболее часто используемым является эхокардиография, проведение которой позволяет определить локализацию поражения, размеры микробных вегетаций, степень и динамику компенсации повреждённого клапана, что в свою очередь определяет дальнейшую тактику ведения пациентов с ИЭ [5–7]. Согласно данным проведённого исследования, в 84,2% случаев использовался исключительно трансторакальный метод эхокардиографии, информативность которого ниже по сравнению с трансэзофагеальным методом.

Согласно результатам проведённого исследования, наиболее частой локализацией инфекционного поражения был митральный клапан (37,4%), что согласуется с данными большинства современных зарубежных и отечественных исследований [8]. Высокую частоту поражения трёхстворчатого клапана (29,4%) можно объяснить распространённостью «внутривенной» наркомании.

Характеризуя результаты бактериологического исследования крови в данном исследовании, следует отметить достаточно низкий уровень выделения этиологически значимых возбудителей — только у 35,5% пациентов с ИЭ. Ключевое значение в данной ситуации имеет тот факт, что в подавляющем большинстве случаев (79,1%) взятие образцов крови проводилось после назначения антибактериальной терапии. Вероятно, имеет значение присутствие в этиологической картине ИЭ «привередливых» микроорганизмов и, как следствие, возникает необходимость в проведении молекулярных и серологических методов исследования [9].

В качестве возбудителей ИЭ может выступать довольно значительное количество микроорганизмов, большинство из которых являются грам-

положительными [1, 4]. Это находит подтверждение в проведённом исследовании, по результатам которого 90,3% всех выделенных микроорганизмов составили грам(+) бактерии.

За последние десятилетия в этиологической структуре ИЭ произошли существенные изменения, ведущим возбудителем вместо группы *S. viridans* стал *S. aureus*. Данная тенденция находит чёткое подтверждение в результатах проведённого исследования, согласно которому частота выделения *S. aureus* составила 46,5% от всех выделенных микроорганизмов. Сложившуюся ситуацию следует объяснить изменениями в соотношении факторов риска данной патологии. Первостепенное значение в настоящее время играют «внутривенная» наркомания, инвазивные диагностические и лечебные манипуляции на сердце и крупных сосудах [10–12].

Увеличение частоты выделения *Enterococcus* spp. у пациентов с ИЭ может быть связано с высокой распространённостью патологии органов брюшной полости и малого таза, а также оперативными вмешательствами на органах этих областей.

В настоящее время отмечается глобальный рост антибиотикорезистентности. В проведённом исследовании доля метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* составила 28,4%, что ограничивает возможности эффективной терапии ИЭ.

Согласно большинству рекомендаций, эффективность антибактериальной терапии ИЭ во многом зависит от этиотропного характера ИЭ [13–15]. В условиях лидирующей позиции *S. aureus* в этиологической структуре ИЭ и значительной доли «внутривенной» наркомании в структуре факторов риска данной нозологии следует отметить неоправданно низкую частоту назначения высокоактивных в отношении данного возбудителя антимикробных препаратов, в частности гликопептидов, липопептидов, антистафилококковых пенициллинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов А.И., Алексеева И.В., Аснер Т.В., Власова Е.Е., Данилова Е.М., Дехнич А.В. и соавт. Этиология инфекционного эндокардита в России. Клин микробиол антимикроб химиотер 2015; 17 (1): 4–10. / Danilov A.I., Alekseeva I.V., Asner T.V., Vlasova E.E., Danilova E.M., Dehnych A.V. i soavt. Jetiologija infekcionnogo jendokardita v Rossii. Klin mikrobiol antimikrob himioter 2015; 17 (1): 4–10. [in Russian]
2. Данилов А.И., Алексеева И.В., Аснер Т.В., Веселова О.В., Власова Е.Е., Дроздович Е.Л. и соавт. Представления российских врачей об этиологии, диагностике и терапии инфекционного эндокардита. Клин микробиол и антимикроб химиотер 2014; 16 (1): 26–32. / Danilov A.I., Alekseeva I.V., Asner T.V., Veselova O.V., Vlasova E.E., Drozdovich E.L. i soavt. Predstavlenija rossijskih vrachej ob jetiologii, diagnostike i terapii infekcionnogo jendokardita. Klin mikrobiol i antimikrob himioter 2014; 16 (1): 26–32. [in Russian]
3. Данилов А.И., Кречикова О.И. *Actinomyces* spp.: клиническое значение, диагностика, антимикробная терапия. Клин микробиол антимикроб химиотер 2012; 14 (4): 276–279. / Danilov A.I., Krechikova O.I. *Actinomyces* spp.: klinicheskoe znachenie, diagnostika, antimikrobnaja terapija. Klin mikrobiol antimikrob himioter 2012; 14 (4): 276–279. [in Russian]
4. Моисеев В.С., Котова Е.О., Караулова Ю.Л. Эпидемиология и клиническое течение современного инфекционного эндокардита (по данным муниципальной больницы) 2014; 23 (3): 62–66. / Moiseev V.S., Kotova E.O., Karaulova Ju.L. Jependemiologija i klinicheskoe techenie sovremennoho infekcionnogo jendokardita (po dannym municipal'noj bol'nicy) 2014; 23 (3): 62–66. [in Russian]
5. Durack D.T., Lukes A.S., Bright D.K. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. Am J Med 1994; 96 (3): 200–209.
6. Li J.S., Sexton D.J., Mick N., Nettles R., Fowler V.G., Ryan T. et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. Clin Infect Dis 2000; 30 (4): 633–638.
7. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J., Bongiorni M.G., Casalta J.P., Del Zotti F. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). Eur Heart J 2015; 36 (44): 3075–3128.
8. Yew H., Murdoch D. Global trends in infective endocarditis epidemiology. Curr Infect Dis Rep 2012; 14 (4): 367–372.
9. Thuny F., Grisoli D., Collart F., Habib G., Raoult D. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives. Lancet 2012; 379: 965–975.
10. Braun N.E., Habib G., Thuny F., Sogaard P. Cardiac imaging in infectious endocarditis. Eur Heart J 2014; 35: 624–632.

11. Nishimura R.A., Otto C.M., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P. III, Guyton R.A. et. al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol 2014; 63: 2438—2488.
12. Dayer M.J., Jones S., Prendergast B., Baddour L.M., Lockhart P.B., Thornhill M.H. Incidence of infective endocarditis in England, 2000—13: a secular trend, interrupted time-series analysis. Lancet 2015; 385: 1219—1228.
13. Okazaki S., Yoshioka D., Sakaguchi M., Sawa Y., Mochizuki H., Kitagawa K. Acute ischemic brain lesions in infective endocarditis: incidence, related factors, and postoperative outcome. Cerebrovasc Dis 2013; 35: 155—162.
14. Saby L., Laas O., Habib G., Cammilleri S., Mancini J., Tessonnier L., et. al. Positron emission tomography/computed tomography for diagnosis of prosthetic valve endocarditis: increased valvular 18F-fluorodeoxyglucose uptake as a novel major criterion. J Am Coll Cardiol 2013; 61: 2374—2382.
15. Kang D.H., Kim Y.J., Kim S.H., Sun B.J., Kim D.H., Yun S.C. et. al. Early surgery versus conventional treatment for infective endocarditis. N Engl J Med 2012; 366: 2466—2473.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Данилов Андрей Игоревич — ассистент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск

Козлов Роман Сергеевич — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск

Козлов Сергей Николаевич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск

Дехнич Андрей Владимирович — к.м.н., заместитель директора по научной работе НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Смоленск

Паратонзиллярные абсцессы у детей. Клинико-микробиологические методы исследования

Н. В. СИРЕНКО¹, С. И. АЛЕКСЕЕНКО^{1,2}, Г. П. ЦУРИКОВА², М. О. ВОЛКОВА³

¹ Детская городская больница №19 им. К. А. Раухфуса, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава РФ, Санкт-Петербург

³ НИИ детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

Peritonsillar Abscess in Children. Clinical and Microbiological Methods of Investigation

N.V. SIRENKO¹, S.I. ALEKSEYENKO^{1,2}, G.P. TSURIKOVA², M.O. VOLKOVA³

¹ K. A. Raikhfus Children's City Hospital №19, St. Petersburg

² Mechnikov North-West State Medical University, St. Petersburg

³ Scientific and Research Institute of Children's Infections of FMBA of Russia, St. Petersburg

Пролежено и обследовано 70 пациентов с диагнозом паратонзиллярный абсcess (ПТА) в возрастной группе от 2 до 17 лет. Всем пациентам при поступлении выполнялось хирургическое лечение — вскрытие ПТА под местной анестезией, с последующим забором гнойного содержимого непосредственно из полости ПТА на микрофлору и её чувствительность. Исходя из проведённого исследования пациентов с паратонзиллярными абсцессами, хирургическое вскрытие и дренирование является терапией выбора при лечении паратонзиллярных абсцессов. Однако антимикробная терапия является неотъемлемой частью в комплексном лечении данной патологии, и предотвращает развитие местных и системных осложнений данной инфекции. Выбор антибактериальной терапии зависит от возбудителя, но на начальном этапе лечения следует отдавать предпочтение препаратам широкого спектра действия, в том числе антибактериальным препаратам группы пенициллинового ряда.

Ключевые слова: дети, паратонзиллярные абсцессы, хирургическое лечение, антимикробная терапия.

70 patients with a diagnosis of paratonsillar abscess (PTA) in the age group from 2 to 17 years were treated and examined. All patients underwent surgical treatment at admission — opening of PTA under local anesthesia, followed by removal of purulent contents directly from the cavity of PTA to reveal microflora and its sensitivity. Based on the conducted study of patients with paratonsillar abscesses, surgical opening and drainage is the therapy of choice in the treatment of paratonsillar abscesses. However, antimicrobial therapy is an integral part in the complex treatment of this pathology, and prevents the development of local and systemic complications of this infection. The choice of antibiotic therapy depends on the pathogen, but at the initial stage of treatment preference should be given to broad-spectrum drugs, including antibacterial drugs of the penicillin group.

Keywords: children, paratonsillar abscesses, surgical treatment, antimicrobial therapy.

Введение

Паратонзиллярный абсcess — грозное осложнение хронического тонзиллита, характеризующееся скоплением гнойного содержимого в паратонзиллярной и околоминдаликовой области, представляет опасность для развития различной тонзиллогенной инфекции: флегмонозной и абсцедирующей форм ларингита, гнойного воспаления парафаренгиальной клетчатки, вторичной флегмоны шеи и др. Паратонзиллярные абсцессы являются частой причиной посещения больными отделения неотложной помощи, так, в частности, в США в год регистрируется около 45 000 случаев

паратонзиллярных абсцессов, что составляет 30 на 100 000 человек [1].

Гнойные процессы в глотке в детском возрасте встречаются у 2,6 % больных. Чаще развивается паратонзиллярный абсcess, реже — заглоточные абсцессы [2]. В первые годы жизни паратонзиллярные абсцессы встречаются довольно редко. В литературе имеются единичные сообщения о паратонзиллитах и паратонзиллярных абсцессах у детей первого года жизни: Т. М. Державина [3] описывает паратонзиллярный абсcess у ребёнка в возрасте 12 дней, М. Ларина [4] — у ребёнка 27-дневного возраста и Н. Я. Лекарева [5] — у одомесячного ребенка. Наличие этого заболевания у детей первых лет жизни ещё не нашло клинического объяснения, поэтому накопление клинических наблюдений по данному вопросу имеет определённый интерес.

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: 191036 Санкт-Петербург, Лиговский пр., д. 8. Детская городская больница №19 им. К. А. Раухфуса

Развитие паратонзиллярных абсцессов обусловлено анатомическими особенностями строения передней поверхности шеи, скопление там рыхлой клетчатки, наличием межфасциальных пространств. Распространение инфекции из паратонзиллярного абсцесса может также происходить лимфогенным и гематогенным путями. Некоторые осложнения, такие как глубокие флегмоны шеи, медиастенит, тонзиллогенный шок, могут представлять прямую угрозу жизни пациента и требуют незамедлительных лечебных мероприятий. Эффективность лечения таких пациентов зависит от срочной госпитализации в ЛОР-стационар и хирургического лечения (вскрытия паратонзиллярного абсцесса и дальнейшего его дренирования), а также целенаправленной антибактериальной терапии.

Паратонзиллярный абсcess наиболее часто является осложнением острой ангины или хронического тонзиллита, при этом патогенная микрофлора проникает в паратонзиллярную клетчатку контактным путём из глубины изменённых, расширенных и ветвящихся лакун миндалин через расплавленные ткани прилежащего участка капсулы при соответствующем некрозе мышечных волокон. Причиной паратонзиллярного абсцесса могут быть также инородные тела в миндалинах, травма дужек и паратонзиллярной области.

У детей раннего возраста это заболевание возникает в основном после травматического повреждения миндалин или паратонзиллярной области и встречается редко, что обусловлено низкой заболеваемостью хроническим тонзиллитом и морфологическими особенностями структуры миндалин.

Лакуны в этом возрасте щелеобразные, поверхностные, маловетвящиеся, что предотвращает проникновение инфекции к соединительнотканной капсуле и распространение на паратонзиллярную ткань. Заболевание может быть одонтогенным в результате распространения инфекции на паратонзиллярную клетчатку из кариозных зубов. Возникновению заболевания способствует понижение сопротивляемости организма, задержка гноя в лакунах при их затруднённом положении. Существенную роль в патогенезе паратонзиллита играет охлаждение. Абсcess может развиваться за верхним полюсом миндалины в переднем направлении, тогда говорится о переднем абсцессе (наиболее частом), кзади от миндалины в направлении нёбно-глоточной дуги, т.е. развивается задний абсcess, или книзу от миндалины, в направлении корня языка — нижний абсcess.

При паратонзиллярном абсцессе состояние больного тяжёлое, обусловленное интоксикацией, лихорадкой, слабостью. Наиболее важными симптомами являются: боль в горле, затруднение

глотания, обильная саливация, вынужденное положение головы, тризм. Лечение паратонзиллярного абсцесса заключается в необходимости вскрытия и дренирования полости абсцесса, с последующим забором гнойного отделяемого, в том числе из полости абсцесса для исследования её на микрофлору и чувствительность к антибактериальным препаратам [2, 6—8].

Поскольку современные микробиологические методы не позволяют быстро получить результаты по этиологии инфекционного процесса и антибиотикочувствительности возбудителя, то антибактериальная терапия в подавляющем большинстве случаев оказывается эмпирической. В такой ситуации возрастает роль анализа данных мониторинга этиологической структуры паратонзиллярных абсцессов и антибиотикочувствительности возбудителей.

Цель работы заключалась в расшифровке этиологии паратонзиллярных абсцессов у детей и оценке антибиотикочувствительности возбудителей для определения дальнейшей тактики лечения пациентов детского возраста.

Материал и методы

В период 2012—2014 гг. в ЛОР-отделении ДГБ №19 им. К. А. Раухфуса было пролечено и обследовано 70 пациентов с диагнозом паратонзиллярный абсcess (ПТА) в возрастной группе от 2 до 17 лет. Всем пациентам при поступлении выполнялось хирургическое лечение — вскрытие ПТА под местной анестезией, с последующим забором гнойного содержимого непосредственно из полости ПТА на флору и чувствительность, с прицелом на наличие анаэробной флоры.

Материалом для бактериологического исследования являлось гнойное отделяемое из полости ПТА. Отделяемое забирали специальным транспортным микробиологическим тампоном, который помещали в транспортную среду SIGMA TRANSWAB. В лаборатории клинической микробиологии (ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург) бактериологическое исследование включало предварительную микроскопию мазков клинического материала, окрашенных по Граму, и культуральное бактериологическое исследование. Бактериоскопия мазков позволяла оценить наличие в них полиморфноядерных лейкоцитов, а также обнаружить грамположительные и грамотрицательные кокки или палочки.

Бактериологический посев гнойного отделяемого из ПТА производили из жидкой транспортной среды с использованием стандартного полуколичественного метода, позволяющего определить число микроорганизмов в 1 мл исследуемой среды. Так как основными возбудителями ПТА являются *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis*, для бактериологического посева использовали различные питательные среды. Для выявления *S.pneumoniae*, *S.pyogenes* и *M.catarrhalis* использовали чашки с кровяным агаром, приготовленные на основе колумбийского агара (bioMerieux, Франция) с добавлением 5% донорской эритроцитарной массы и 10% лошадиной сыворотки. Микроорганизмы рода *Haemophilus* выращивали на шоколадном агаре с ростовыми факторами PolyViteх (bioMerieux, Франция). Использовали также селективные среды для выделения грамотрицательных бактерий — агар Мак-Конки (bioMerieux), маннитол-солевой агар для обнаружения *Staphylococcus aureus* (bioMerieux, Франция) и для выявления патогенных грибов — агар Сабуро (НИЦФ). Инкубация кро-

вяных и шоколадных чашек проводилась в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 (3–7%) при температуре 36°C в течение 24 ч. Идентификация пневмококков осуществлялась на основе характерной морфологии колоний на кровяном агаре, наличия α -гемолiza, чувствительности к оптохину (bioMerieux, Франция). Для идентификации других микроорганизмов использовали MALDI-TOF масс-спектрометр Microflex (Bruker Daltonics) с программным обеспечением BioTyper II (Bruker Daltonics).

Чувствительность к антибактериальным препаратам оценивали на агаре Мюллера–Хинтон (bioMerieux, Франция) диско-диффузионным методом, в соответствии с рекомендациями EUCAST (www.eucast.org) 2015 г. Антибиотикочувствительность *S. pneumoniae* оценивали на среде Мюллера–Хинтон с добавлением 5% дефибрированной крови лошади и 20 мг/л β -NAD. Для определения чувствительности пневмококка к бета-лактамам антибиотикам проводили скрининг с диском, содержащим 1 мкг оксацилина, что позволяло разделить микроорганизмы на чувствительные и устойчивые к бета-лактамам. Для устойчивых к бета-лактамам штаммов пневмококка методом серийных разведений определяли МПК, в соответствии с рекомендациями EUCAST 2015 г. [9].

У штаммов *H. influenzae* оценивали чувствительность к ампициллину диско-диффузионным методом на шоколадном агаре и проводили тест на продукцию бета-лактамаз с нитроцефином. Для выявления метициллинорезистентного *S. aureus* (MRSA) использовали скрининговый метод определения чувствительности к цефокситину (30 мкг) (НИИ им Пастера). Для *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и других возбудителей чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон. Набор необходимых антибиотиков, учёт и интерпретацию размеров зоны подавления роста исследуемого микроорганизма вокруг диска с антибиотиком оценивали согласно рекомендациям EUCAST (ver. 5.0, 2015).

Результаты исследования

Распределение больных по половому признаку показало, что среди пациентов преобладали девочки (58%). Большинство пациентов с паратонзиллярными абсцессами составляли подростки и юноши (рис. 1). Однако в последнее время отмечена тенденция к увеличению числа пациентов дошкольного и младшего школьного возрастов.

Видовой состав бактерий, выделенных из содержимого абсцессов, представлен на рис. 2. В целом видовой состав выделенных бактерий практи-

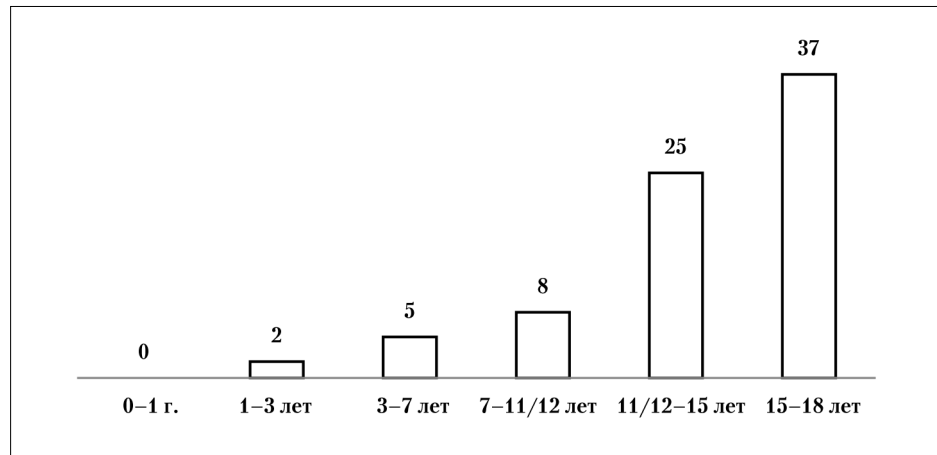


Рис. 1. Характеристика изучаемых групп больных по возрастному составу.

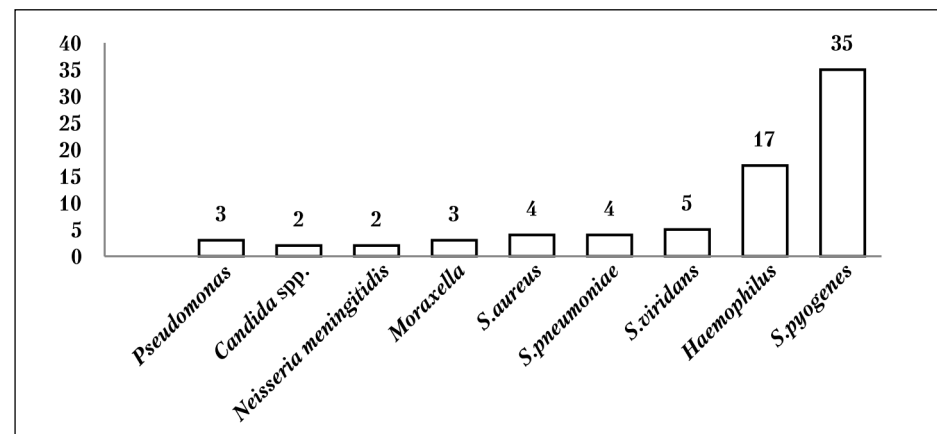


Рис. 2. Видовой состав выделенных микроорганизмов из содержимого ПТА.

чески не отличался от представленных данных литературы [10–12]. Как и следовало ожидать, наиболее часто встречающимся патогеном был *S. pyogenes*. Однозначную этиологическую роль в развитии ПТА следует признать также за *S. aureus* и *H. influenzae* (роль других представителей рода *Haemophilus* менее очевидна). Роль классических респираторных патогенов (*S. pneumoniae* и *M. catarrhalis*), а также *Neisseria meningitidis*, стрептококков группы «viridans» и *Pseudomonas* spp., скорее всего, невелика. Грибы рода *Candida* следует рассматривать как контаминанты.

Результаты оценки антибиотикочувствительности *S. pyogenes* приведены на рис. 3. Полученные результаты в целом совпадают с данными литературы. Так, в настоящее время во всем мире не зафиксировано снижения чувствительности пиогенных стрептококков к пенициллину. Согласно современным рекомендациям, чувствительность ко всем бета-лактамам определяется, исходя из чувствительности к пенициллину, постановка чувствительности к отдельным препаратам этой группы не рекомендуется. С клинической точки

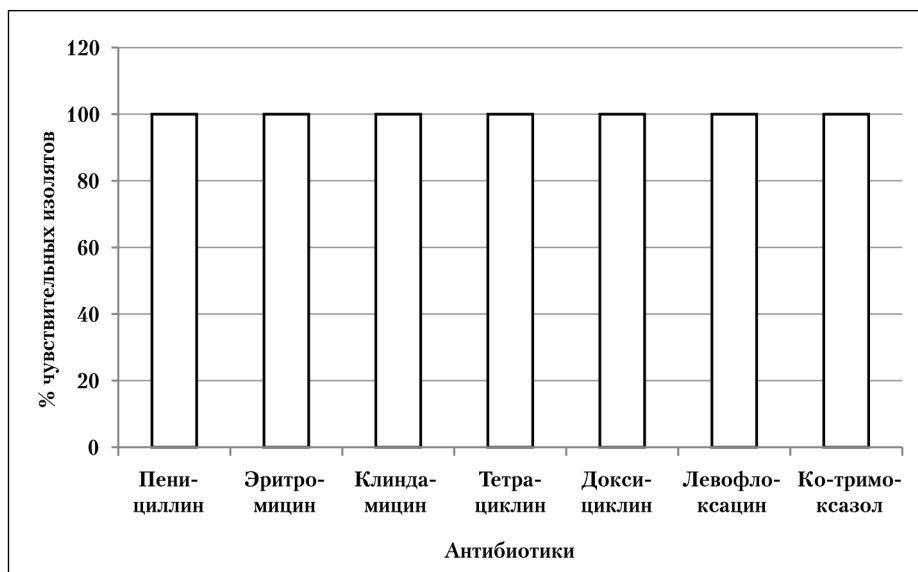


Рис. 3. Чувствительность к антибиотикам выделенных штаммов *S. pyogenes* (в %).

зрения большинство бета-лактамов равно эффективны при лечении стрептококковых инфекций, выбор конкретных препаратов определяется, исходя из удобства их применения, а также наличия/отсутствия аллергии и нежелательных эффектов. Исключение составляют пероральные цефалоспорины (цефиксим и цефтибутен), а также цефтазидим, не обладающие реальной антистрептококковой активностью.

Альтернативой бета-лактамам, прежде всего при наличии аллергии к указанным антибиотикам, рассматриваются макролиды и линкозамиды. Среди изолятов, включенных в настоящее исследование, устойчивых к макролидам выявлено не было. Однако широко экстраполировать эти данные вряд ли возможно. Так, в недавнем сообщении об исследовании, проведенном в клиниках Москвы, среди пиогенных стрептококков, выделенных при инфекциях верхних дыхательных путей, частота устойчивости к эритромицину достигала 16%, а к клиндамицину — 10% [13]. Препаратами резерва при стрептококковых инфекциях считаются фторхинолоны и тетрациклины, применение которых у детей запрещено, а также ко-тримоксазол. К перечисленным препаратам устойчивости выявлено не было.

Как следует из рис. 3 пиогенные стрептококки проявляли 100% чувствительность ко всем клинически значимым антибиотикам.

Бактерии рода *Haemophilus* проявляют природную устойчивость к пенициллину, но сохраняют чувствительность к ампициллину и другим бета-лактамам. Основной механизм устойчивости к бета-лактамам — продукция бета-лактамаз широкого спектра, гидролизующих природные и полусинтетические пенициллины, а также цефа-

лоспорины всех поколений, в то время как защищенные пенициллины устойчивы к гидролизу. Учитывая этот факт, практически важным является оценка продукции бактериями этой группы бета-лактамаз с помощью дисков с нитроцефином. Среди изученных бактерий рода *Haemophilus* продуцентов бета-лактамаз выявлено не было. Редким механизмом устойчивости гемофилов к бета-лактамам является модификация пенициллинсвязывающих белков, при этом наблюдается устойчивость к ампициллину при отсутствии про-

дукции бета-лактамаз. Среди изученных нами штаммов такого механизма выявлено не было.

Характеристика чувствительности гемофилов к макролидным антибиотикам является предметом интенсивных дискуссий на протяжении последних 15—20 лет. Согласно одной из точек зрения, при стандартных дозировках концентрации макролидов в очагах инфекции недостаточны для проявления антибактериального эффекта. В ряде исследований показано, что на фоне лечения макролидами частота эрадикации *Haemophilus influenzae* из очага инфекции не превышает спонтанной эрадикации, составляющей около 50%. Так, согласно рекомендаций EUCAST, гемофилы рассматриваются как бактерии с промежуточной чувствительностью к макролидам, корреляции между величиной МПК этих антибиотиков и клиническим исходом лечения не наблюдается. Все включенные в настоящее исследование изоляты относились к промежуточным. Препаратами резерва при гемофильных инфекциях (но не у детей) могут рассматриваться фторхинолоны, устойчивость к этим антибиотикам описывают крайне редко, в настоящем исследовании этот феномен выявлен не был.

Оценивая антибиотикочувствительность микроорганизмов, выделенных в единичном количестве, следует отметить следующее. Все изученные моракселлы продуцировали бета-лактамазы, что соответствует данным литературы. Среди *S. aureus* устойчивых к оксациллину выявлено не было.

Обсуждение результатов

Этиология паратонзиллярных абсцессов в детском возрасте в целом соответствует известным представлениям о этом осложнении хронического

тонзиллита. При этом необходимо учитывать особенность детского возраста: высокую подверженность заболеваниям респираторного характера, связанную с формированием иммунного статуса; отсутствие анаэробов в бактериологических посевах, связанное с острым характером течения заболевания, сокращением периода между началом яркой клинической картины и началом лечения, среди ведущих возбудителей основным возбудителем является *S.pyogenes*. Данный микроорганизм высокочувствителен ко многим антибактериальным препаратам, при этом устойчивости к бета-лактамам, которые являются средствами выбора при лечении стрептококковых инфекций, в мире до сих пор не зарегистрировано, несмотря на почти 70-летний период применения пенициллина, что является уникальным фактом среди возбудителей болезней человека.

Разумное применение антибиотиков должно сдерживать микробную резистентность и сократить нежелательные эффекты. Результаты различных эпидемиологических исследований документируют рост и распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов как в стационарах, так и вне стационаров. Это объясняется тем, что формирование устой-

чивости микробов к антибиотикам является многофакторным процессом, причём многие его составляющие взаимосвязаны. Известно, что использование антибиотиков сопровождается селективным давлением на возбудителей заболевания, что ведёт к росту их устойчивости к используемым антибиотикам и снижению их эффективности.

Выводы

Исходя из проведённого исследования у пациентов с паратонзиллярными абсцессами, пролеченными в ДГБ №19 им. К. А. Раухфуса в период 2012—2014 гг., хирургическое вскрытие и дренирование абсцессов является терапией первоочередного выбора при лечении паратонзиллярных абсцессов. Однако антимикробная терапия — неотъемлемая часть в комплексном лечении данной патологии. Она предотвращает развитие местных и системных осложнений данной инфекции. Выбор антибактериальной терапии зависит от возбудителя и его антибиотикочувствительности, но на начальном этапе лечения следует отдавать предпочтение препаратам широкого спектра действия, в том числе препаратам группы пенициллинового ряда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Peritonsillar abscess, Nichdas J. Galieto, MD, Broadlawns Medical Center, Des Moines, Iowa, vd.77 2008.
2. Детская оториноларингология, М.Р.Богомилский, В.Р.Чистякова М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007; 384. / Detskaja otorinolaringologija, M.R.Bogomil'skij, V.R.Chistjakova M.: GJeOTAR-Media, 2007; 384. [in Russian]
3. Державина Г. М. Паратонзиллярный абсцесс у ребенка 12 дней. *Вестн оториноларингол* 1963; 4: 86. / Derzhavina G.M. Paratonzilljarnyj abscess u rebenka 12 dnei. *Vestn otorinolaringol* 1963; 4: 86. [in Russian]
4. Ларина Г.М. Паратонзиллярный абсцесс у 27-дневного ребенка. *Вестн оториноларингол* 1963; 5: 98. / Larina G.M. Paratonzilljarnyj abscess u 27-dnevnogo rebenka. *Vestn otorinolaringol* 1963; 5: 98. [in Russian]
5. Лекарева Н.Я. Паратонзиллярный абсцесс у 1-мисечнева ребёнка. *ЖУНГБ* 1974; 2: 112. / Lekareva N.Ja. Paratonzilljarnyj abscess u 1-mis-echneva rebjonka. *ZhUNGB* 1974; 2: 112.
6. Аденотонзиллиты и их осложнения у детей / Цветков Э.А. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. / Adenotonzillity i ikh oslozhnenija u detej / Cvetkov Je.A. SPb.: JeLBI-SPb, 2003.
7. Хронический тонзиллит у детей. М.: «Медицина», 1973; 191—192. / Khronicheskij tonzillit u detej. M.: «Medicina», 1973; 191—192. [in Russian]
8. Плужников М.С., Лавренова Г.В., Левин М.Я., Назаров П.Г., Никитин К.А. Хронический тонзиллит: клиника и иммунологические аспек-
- ты. СПб.: 2010; 104—106. / Pluzhnikov M.S., Lavrenova G.V., Levin M.Ja., Nazarov P.G., Nikitin K.A. Khronicheskij tonzillit: klinika i immunologicheskie aspekty. SPb.: 2010; 104—106.
9. The European committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015.
10. Mazur E. Epidemiology, clinical history and microbiology of peritonsillar abscess., Eczerwinska, 2014.
11. Herzon F.S., Martin A.D. Medical and surgical treatment of peritonsillar, retrofaryngeal abscess. *Curr infect Dis rep* 2006.
12. Шпынев К.В., Кречикова О.И., Кречиков В.А., Козлов Р.С. *Streptococcus pyogenes*: характеристика микроорганизма, выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам. *Клин микробиол антимикробя химиотер* 2007; 9: 2: 104—121. / Shpynev K.V., Krechikova O.I., Krechikov V.A., Kozlov R.S. *Streptococcus pyogenes*: kharakteristika mikroorganizma, vydelenie, identifikacija i opredelenie chuvstvitel'nosti k antibakterial'nym preparatam. *Klin mikrobiol antimikrobja khimioter* 2007; 9: 2: 104—121. [in Russian]
13. Катосова Л.К., Лазарева А.В., Хохлова Т.А., Пономаренко О.А., Алябьева Н.М. Распространение и механизмы устойчивости к макролидам *Streptococcus pyogenes*, выделенных у детей. *Антибиотики и химиотер* 2016; 3—4: 23—29. / Katosova L.K., Lazareva A.V., Khokhlova T.A., Ponomarenko O.A., Aljab'eva N.M. Rasprostranenie i mekhanizmy ustojchivosti k makrolidam *Streptococcus pyogenes*, vydelennykh u detej. *Antibiotiki i khimioter* 2016; 3—4: 23—29. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сиренко Никита Вячеславович — врач-оториноларинголог СПб ГБУЗ «ДГБ №19 им. К. А. Раухфуса», заочный аспирант кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Москва

Алексеев Светлана Иосифовна — к.м.н., заведующая ЛОР отделением СПб ГБУЗ «ДГБ №19 им. К. А. Раухфуса», доцент кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Москва

Перспективы клинического применения офлоксацина в гинекологии и урологии

А. А. ХРЯНИН^{1,3}, О. В. РЕШЕТНИКОВ²

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск

² ФГБНУ «НИИ терапии и профилактической медицины», Новосибирск

³ РОО «Ассоциация акушеров-гинекологов и дерматовенерологов», Новосибирск

Prospects of Clinical Use of Ofloxacin in Gynecology and Urology

A. A. KHRyanIN^{1,3}, O. V. RESHETNIKOV²

¹ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

² Research institute of therapy and preventive medicine, Novosibirsk

³ Association of Obstetricians-gynecologists and Dermatovenerologists, Novosibirsk

Приводятся современные Российские и международные сведения об эффективности офлоксацина. Препарат является достаточно эффективным и безопасным в терапии инфекционных патологий урологического и гинекологического профиля.

Ключевые слова: офлоксацин, эффективность, гинекология, урология.

The review provides the present Russian and international data on the effectiveness of ofloxacin. The drug is effective and safe in the treatment of various pathologies. The drug is sufficiently effective and safe in the treatment of the urological and gynecological infectious pathologies.

Keywords: ofloxacin, efficiency, gynecology, urology.

Diagnosis cetra ullae therapiae fundamentum
(лат. Достоверный диагноз — основа любого лечения)

Фторхинолоны (ФХ) — препараты класса хинолонов, широкого спектра действия, с преимущественно антибактериальной активностью, бактерицидным механизмом действия, фармакокинетикой, обеспечивающей высокую биодоступность, хорошее проникновение в органы, ткани, биологические жидкости и клетки макроорганизма. Механизм действия ФХ на микробную клетку связан с ингибированием двух ключевых ферментов клетки из класса топоизомераз, ответственных за биосинтез и репликацию ДНК, а именно: ДНК-гиразы и топоизомеразы V. Большинство ФХ характеризуется высокой биодоступностью и оптимальной фармакокинетикой, что позволяет получить терапевтический эффект в большинстве случаев при использовании низких доз при пероральном применении препаратов, практически при любой локализации инфекционного процесса. Третьим достоинством ФХ является также их хорошая переносимость, поэтому они рассматриваются в целом как малотоксичные лекарственные средства [1—3].

© А. А. Хрянин, О. В. Решетников, 2017

Адрес для корреспонденции: 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52. Новосибирский государственный медицинский университет

Спектр действия ФХ

Все ФХ являются препаратами широкого спектра действия, который включает бактерии (аэробные и анаэробные, грамположительные и грамотрицательные), микобактерии, хламидии, микоплазмы, риккетсии, боррелии, некоторые простейшие. ФХ характеризуются активностью в отношении преимущественно грамотрицательных бактерий: представителей семейств Enterobacteriaceae (*Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), *Neisseriae*, *Haemophilus*, *Moraxella*, в отношении которых минимальная подавляющая концентрация (МПК₉₀) в большинстве случаев составляет <0,5 мг/л (0,02—0,25 мг/л). ФХ проявляют хорошую активность в отношении атипичных микроорганизмов — легионелл, хламидий, микоплазм; МПК₉₀ для которых обычно не превышают 0,25 мг/л. Менее активны ФХ в отношении неферментирующих грамотрицательных бактерий, грамположительных кокков, микобактерий и анаэробов: МПК₉₀ для них составляет 1—4 мг/л и выше [4].

С целью создания малотоксичных пролонгированных форм монофторхинолона офлоксацина получены его водорастворимые полимерные комплексы. В качестве полимеров-комплексобразователей синтезированы катионные сополимеры N-винилпирролидона (ВП) с 2-аминоэтилмета-

крилатом и его гидрохлоридом, содержащие 10,9–28,3 мол. % $^{-}\text{NH}_2$ или $^{-}\text{NH}_3\text{Cl}$ группы с молекулярными массами (ММ) 10500–89000, проявляющие собственную антимикробную активность. Полимерные комплексы содержали 18–36% фторхинолона и обладали высокой антимикробной активностью в отношении стафилококка и кишечной палочки, возрастающей с увеличением содержания офлоксацина в комплексе и с уменьшением его ММ. При исследовании кинетики высвобождения офлоксацина из его полимерного комплекса с ММ 60000, содержащего 36% фторхинолона, в буфере с pH 2,0 при 37°C обнаружено пролонгированное выделение лекарственного вещества из комплекса. При определении острой токсичности офлоксацина и сополимера ВП, содержащего 20,8 мол. % $^{-}\text{NH}_3\text{Cl}$ групп, с ММ 51000, в опытах на мышах при внутрибрюшинном введении установлено, что офлоксацин является нетоксичным антимикробным препаратом, а полимерный носитель — малотоксичным веществом [5].

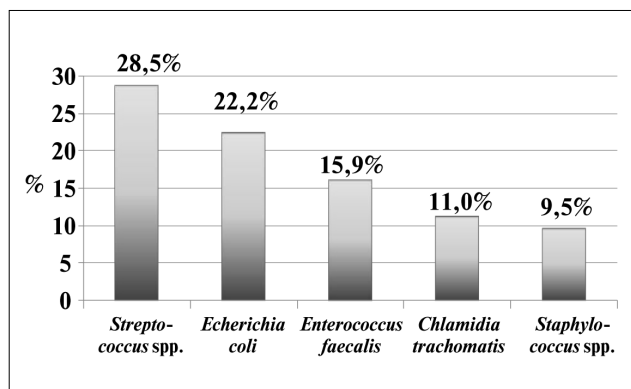
Клиническая эффективность офлоксацина при воспалительных заболеваниях органов малого таза (ВЗОМТ)

Установлено, что офлоксацин обладает высокой активностью в отношении основных возбудителей ВЗОМТ. Офлоксацин характеризуется хорошей переносимостью и рассматривается как малотоксичный препарат. При эмпирическом назначении противовоспалительной терапии предпочтительно использовать комбинацию офлоксацина с производными нитроимидазолов (орнидазол) [6].

В недавнем мета-анализе были получены следующие данные. При пероральном применении у женщин с ВЗОМТ монотерапия офлоксацином показала микробиологическую эффективность в 100%, так же как комбинация нескольких препаратов, таких как цефтриаксон/пробенецид/доксикалин, или амоксициллин/клавулановая кислота, при этом будучи выше, чем применение левофлоксацина (89%) и комбинации ципрофлоксацина/клиндамицина (90%) [7]. Вероятно, офлоксацин является оптимальным препаратом при ВЗОМТ, имея лучшие показатели «цена–эффективность».

В другом исследовании [8] проводился анализ результатов идентификации возбудителей ВЗОМТ, полученных при исследовании влагалищных и абдоминальных проб (рисунок).

Анализ микробиологического состава абдоминальных и влагалищных проб показал, что количество совпадений было одинаковым в 27,3% случаев, частично совпадающим — в 39,4% и различным — в 33,3% случаев [8].



Микробиологический пейзаж абдоминальных и влагалищных проб ($n=73$) при интраоперационной диагностике [8].

Профилактика при урологических вмешательствах. Инфекции мочеполовых путей (ИМП) наиболее часто становятся осложнением таких вмешательств, как трансректальная биопсия предстательной железы (ПЖ), катетеризация мочевого пузыря, комплексное уродинамическое исследование и др. Согласно современным стандартам, антибактериальная профилактика ИМП является обязательной перед инвазивными урологическими вмешательствами. Это связано с тем, что стоимость антибактериальной профилактики и связанные с ней риски намного меньше риска возникновения и стоимости лечения ИМП. Для профилактики инфекционных осложнений при большинстве трансуретральных манипуляций, а также при трансректальной биопсии ПЖ достаточно назначения одной дозы ФХ за 2 ч до вмешательства (например 400 мг офлоксацина) [4].

Практика применения. Офло раствор для инфузий 2 мг/мл производства Юник Фармасьютикал Лабораториз (отд. Дж. Б. Кемикалс энд Фармасьютикалс Лтд, Индия).

Показания к применению. Препарат показан при инфекционно-воспалительных заболеваниях, вызванных чувствительными к офлоксацину микроорганизмами, в том числе при заболеваниях:

- почек, мочевыводящих путей, предстательной железы;
- кожи и мягких тканей;
- ЛОР-органов, за исключением острого тонзиллита, вызванного β -гемолитическим стрептококком (некоторые штаммы β -гемолитического стрептококка только частично чувствительны к офлоксацину, поэтому он не должен использоваться в качестве препарата первого выбора при остром тонзиллите, вызванном β -гемолитическим стрептококком);
- дыхательных путей, за исключением случаев установленной пневмококковой инфекции или при подозрении на нее (некоторые штаммы пневмококка только частично чувствительны к

офлоксацину, поэтому он не должен использоваться в качестве препарата первоочередного выбора при внебольничной пневмонии, вызванной пневмококком);

— септицемия.

Применение офлоксацина для профилактики и лечения ИМП у лиц обоего пола

Острый цистит. Острый цистит является наиболее частым проявлением ИМП. Частота острого цистита у женщин составляет 0,5—0,7 эпизода заболевания на 1 женщину в год, а у мужчин в возрасте 21—50 лет заболеваемость гораздо меньше (6—8 случаев на 10 тыс в год). Распространённость острого цистита в России составляет примерно 26—36 млн случаев в год.

При остром неосложнённом цистите назначают короткие (3—5-дневные) курсы антибиотикотерапии (АБТ). Однако при хроническом рецидивирующем цистите продолжительность АБТ для полной эрадикации возбудителя должна составлять не менее 7—10 дней.

При циститах офлоксацин назначают по 100 мг 2 раза в день или по 200 мг 1 раз в день. При хроническом цистите у лиц молодого возраста, особенно при наличии сопутствующих ИППП (в 20—40% случаев вызванных хламидиями, микоплазмами или уреаплазмами), офлоксацин является приоритетным среди других ФХ [4].

Острый пиелонефрит. Острый пиелонефрит является самым частым заболеванием почек во всех возрастных группах; среди больных преобладают женщины. Заболеваемость острым пиелонефритом составляет в России 0,9—1,3 млн случаев в год.

Лечение пиелонефрита основывается на применении эффективной АБТ при условии восстановления уродинамики и, по возможности, коррекции других осложняющих факторов (эндокринные нарушения, иммунодефицит и др.). Первоначально проводится эмпирическая АБТ, которую при необходимости изменяют после получения антибиотикограммы; АБТ должна быть длительной.

Офлоксацин может применяться для лечения пиелонефрита с учётом его накопления в паренхиме почек и высокой концентрации в моче, для этого препарат назначают по 200 мг 2 раза в сутки в течение 10—14 дней [4].

Простатит. Несмотря на успехи современной урологии, лечение хронического простатита по-прежнему остаётся практически нерешаемой проблемой. Этиопатогенетические представления о хроническом простатите предполагают, что инфекция и воспаление запускают каскад патологических реакций: морфологические измене-

ния в ткани ПЖ с нарушением ангиоархитектоники, персистирующее иммунное воспаление, сенситивизацию автономной нервной системы и т.д. Даже после элиминации инфекционного фактора патологический процесс может сохраняться, сопровождаясь выраженной клинической симптоматикой. Длительная АБТ рекомендована многими исследователями как компонент комплексного лечения хронического простатита категорий II, III, IV по классификации Национального института здоровья США (NIH, 1995).

Острый простатит (категория I по NIH, 1995) в 90% случаев развивается без предшествующих урологических манипуляций, а примерно в 10% случаев становится осложнением урологических вмешательств (биопсия ПЖ, катетеризация мочевого пузыря, уродинамическое исследование и др.). Основой лечения служит ступенчатая АБТ в течение 2—4 нед.

Подавляющее большинство возбудителей бактериальных простатитов относится к грамотрицательным бактериям кишечной группы (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. и др.). Этиологическими факторами могут быть также *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococcus aureus*, *S.saprophyticus*, *Trichomonas* spp., *Pseudomonas* spp., анаэробы и др. Препаратами выбора для лечения простатита служат ФХ, которые лучше всего (по сравнению с другими антимикробными препаратами) проникают в ткань и секрет ПЖ и перекрывают основной спектр возбудителей простатита. Условием успешной АБТ при простатите является её достаточная длительность — в течение как минимум 4 нед с последующим бактериологическим контролем.

Офлоксацин может с успехом применяться для лечения простатита, так как он высокоактивен против хламидий, а в отношении микоплазм и уреаплазм его эффективность сопоставима с другими ФХ и доксициклином. При хроническом простатите офлоксацин назначают внутрь по 400 мг 2 раза в сутки в течение 3—4 нед. При остром простатите проводят ступенчатую терапию: препарат вначале назначают внутривенно по 400 мг 2 раза в сутки, переходя на пероральный приём после нормализации температуры тела и клинического улучшения состояния [4].

В Российских национальных рекомендациях приводятся данные от 2014 г. [9].

Лечение острого бактериального простатита: офлоксацин внутривенно 400 мг × 2 р/сут — 3—4 недели, затем перорально 400 мг × 2 р/сут. — 2 недели.

Лечение хронического бактериального простатита: офлоксацин *per os* 400 мг × 2 р/сут — 3—4 недели.

При этом офлоксацин может использоваться совместно с другими препаратами, перекрывая

практически весь спектр урогенитальных патогенных микроорганизмов. Например, использование его совместно с орнидазолом показало существенную клиническую эффективность: 85% — в группе больных с обострением хронического цистита, 92% — в группе с острым циститом и 90% — в группе больных с циститом в сочетании с ИМП (*Trichomonas vaginalis*, *C.trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*). Эрадикация микроорганизмов составила в этих группах соответственно 90, 92 и 95%. Частота побочных эффектов при такой комбинации оказалась сопоставимой с таковой, регистрируе-

мой при использовании и её компонентов в от-
дельности, и не превысила 3—6% [10—11].

В заключение, ФХ в течение многих лет успешно применяются для лечения инфекций мочевых путей и воспалительных заболеваний органов малого таза. Офлоксацин отвечает принципам рациональной антибактериальной терапии, его применение целесообразно для лечения и профилактики ИМП (цистита, пиелонефрита, простатита) и ВЗОМТ. Наличие пероральной и парентеральной лекарственных форм офлоксацина делает его применение весьма удобным в амбулаторной и стационарной клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Падейская Е.Н. Переносимость и безопасность антимикробных препаратов группы фторхинолонов: редкие и очень редкие побочные реакции. Инфекции и антимикробная терапия 2001; 3 (1): 4—13. / Padeyskaya E.N. Perenosimost' i bezopasnost' antimikrobnnykh preparatov gruppy fluorhinolonov: redkie i ochen' redkie pobochnye reakcii. Infekcii i antimikrobnaya terapiya 2001; 3 (1): 4—13. [In Russian]
2. Доценко Ю.И. Механизм антибактериального действия препаратов группы фторхинолонов. Научный альманах 2016; (18) 4—3: 314—316. / Dotsenko Yu.I. Mekhanizm antibakterial'nogo dejstviya preparatov gruppy fluorhinolonov. Nauchnyj al'manah 2016; (18) 4—3: 314—316. [In Russian]
3. Постников С.С., Семькин С.В., Капранов Н.И. и соавт. К вопросу о безопасности офлоксацина. Антибиотики и химиотерапия 1999; 44 (10): 20—21. / Postnikov S.S., Semykin S.V., Kapranov N.I. et al. K voprosu o bezopasnosti ofloksacina. Antibiot Khimioter. 2014; 59 (11—12): 3—6. [In Russian]
4. Охриц В.Е., Велиев Е.И. Офлоксацин в урологической практике. Лечебное дело 2007; 2: 23—28. / Ohrits V.E., Veliyev E.I. Ofloksacin v urologicheskoy praktike. Lechebnoe delo 2007; 2: 23—28. [In Russian]
5. Ананьева Е.П., Баранов С.С., Караваева А.В. и соавт. Полимерные комплексы офлоксацина и их антибактериальная активность. Антибиотики и химиотерапия 2014; 59 (11—12): 3—6. / Ananieva E.P., Baranov S.S., Karavayeva A.V. et al. Polimernye komplekсы ofloksacina i ih antibakterial'naya aktivnost'. Antibiot Khimioter. 2014; 59 (11—12): 3—6. [In Russian]
6. Гомберг М.А., Соловьев А.М., Борщева Е.В. Этиотропное лечение женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2007; 3: 68—72. / Gomborg M.A., Soloviev A.M., Borshcheva E.V. Etiotropnoe lechenie zhenshchin s vospalitel'nymi zabolevaniyami organov malogo taza. Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii 2007; 3: 68—72. [In Russian]
7. Sweet R.L. Treatment of acute pelvic inflammatory disease. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology 2011; 2011: 561—569.
8. Schindlbeck C., Dziura D., Mylonas I. Diagnosis of pelvic inflammatory disease (PID): intraoperative findings and comparison of vaginal and intra abdominal cultures. Arch Gynecol Obstet 2014; 289 (6): 1263—1269.
9. Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Руднев В.А., Синякова Л.А. Обновленные Российские национальные рекомендации по антимикробной терапии и профилактике инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов — 2014 г. Российское общество урологов НИИ урологии им.Н.А.Лопаткина МОО «Рациональная фармакотерапия в урологии» / Perepanova T.S., Kozlov R.S., Rudnev V.A., Sinyakova L.A. Rossijskie nacional'nye rekomendacii po antimikrobnnoj terapii i profilaktike infekcij почек, mochevyvodyashchih putej i muzhskih polovyh organov — 2014 g. Rossijskoe obshchestvo urologov NII urologii im.N.A.Lopatkina MOO «Racional'naya farmakoterapiya v urologii» [In Russian]
10. Хрянин А.А., Решетников О.В. Комбинированная терапия хронического бактериального простатита. Урология 2016; S3: 91—96. / Khryanin A.A., Reshetnikov O.V. Kombinirovannaya terapiya hronicheskogo bakterial'nogo prostatita. Urologiya 2016; S3: 91—96. [In Russian]
11. Яровой С. Особенности терапии острого цистита в реальной клинической практике. Врач 2010; 1: 78—80. / Yarovoj S. Osobennosti terapii ostrogo cistita v real'noj klinicheskoy praktike. Vrach 2010; 1: 78—80. [In Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хрянин Алексей Алексеевич — д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; вице-президент РОО «Ассоциация акушеров-гинекологов и дерматовенерологов», Новосибирск. SPIN-код автора в РИНЦ: 4311-2475

Решетников Олег Вадимович — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии ФГБНУ «НИИ терапии и профилактической медицины», Новосибирск. SPIN-код автора в РИНЦ: 6837-8271

Эрадикация *H. pylori*: оценка риска и возможности профилактики межлекарственных взаимодействий

С. Ю. СЕРЕБРОВА^{*1,2}, А. Б. ПРОКОФЬЕВ^{1,2}, М. В. ЖУРАВЛЕВА^{1,2},
Г. Н. ГОРОДЕЦКАЯ^{1,2}, Н. Н. ЕРЕМЕНКО^{1,2}, Е. А. СМОЛЯРЧУК², Д. О. КУРГУЗОВА²

¹ ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, Москва

² ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва

Eradication of *H. pylori*: Risk Assessment and Possible Prevention of Drug-Drug Interactions

S. YU. SEREBROVA^{*1,2}, A. B. PROKOFEV^{1,2}, M. V. ZHURAVLEVA^{1,2},
G. N. GORODETSKAYA^{1,2}, N. N. EREMKO^{1,2}, E. A. SMOLYARCHUK², D. O. KURGUZOVA²

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Современная терапия, направленная на эрадикацию *H. pylori*, включает комплекс антисекреторных и антибактериальных препаратов, иногда препаратов висмута. Особенностью современных эрадикационных схем является четырнадцатидневное применение антибактериальных средств, назначаемых в высоких суточных дозах и избираемых преимущественно с учётом резистентности микроорганизма к кларитромицину и метронидазолу в соответствующем регионе. Однако каждый компонент эрадикационной схемы может иметь достаточно серьёзные неблагоприятные побочные реакции, а также влиять на биодоступность, биотрансформацию, выведение и потенцирование эффектов лекарственных препаратов, которые больной может принимать одновременно с антихеликобактерной терапией. В статье перечислены наиболее серьёзные и распространённые варианты лекарственных взаимодействий компонентов эрадикационных схем, дано описание механизма их развития, если таковой выяснен. До появления практических рекомендаций относительно профилактики лекарственных взаимодействий препаратов, включаемых в эрадикационные схемы, следует использовать общедоступные базы данных, содержащие сведения о таких взаимодействиях.

Ключевые слова: Маастрихт V, *H. pylori*, эрадикационная терапия, лекарственные взаимодействия, ингибиторы протонной помпы, препараты висмута, кларитромицин, метронидазол, левофлоксацин, рифабутин, фуразолидон.

Modern therapy, aimed at eradication of *H. pylori*, includes a set of antisecretory and antibacterial drugs and sometimes bismuth preparations. A feature of modern eradication schemes is the 14-day use of antibiotics, prescribed in high daily doses and selected mainly based on microorganism resistance to clarithromycin and metronidazole in the respective region. However, each component of eradication scheme can have rather serious side effects, as well as affect the bioavailability, biotransformation, excretion, and the potentiation of the effects of the drugs that the patient can take simultaneously with anti *H. pylori* therapy. The article lists the most serious and common variants of drug-drug interactions of the eradication schemes' components, it gives a description of the mechanism of their development, when applicable. Before the approval official of practical recommendations for the prevention of drug-drug interactions of drugs included in the eradication schemes, commonly available databases containing information about such interactions should be used.

Keywords: Maastricht V, *H. pylori*, eradication therapy, drugs interactions, proton pump inhibitors, bismuth preparations, clarithromycin, metronidazole, levofloxacin, rifabutin, furazolidone.

Введение

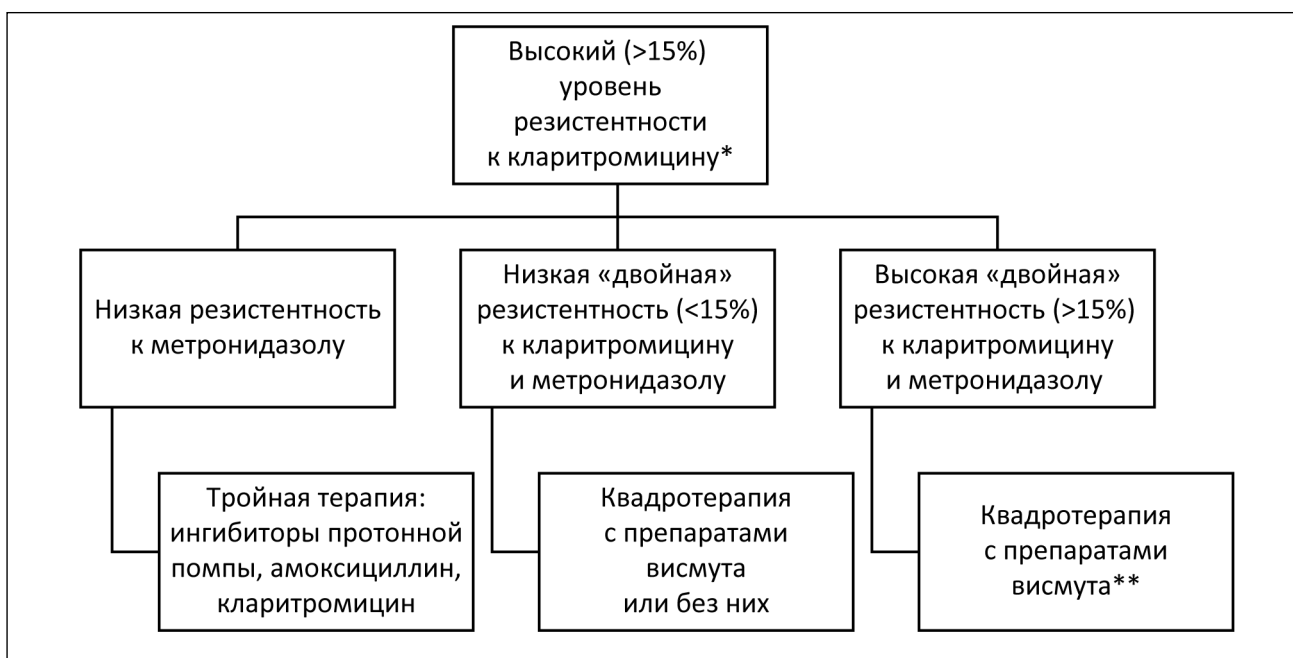
Со времени удостоенного Нобелевской премии открытия Барри Джеймсом Маршаллом и Джоном Робинсом Уорреном бактерии *Helicobacter pylori* прошло более 30 лет. *H. pylori* — спиралевидная микроаэрофильная грамотрицательная бактерия, обладающая 4–6 жгутиками, позволяющими быстро двигаться в слое желудочной слизи, комплексом адаптационных, защитных (образование

кокковой формы, биоплёнки; бактериальная мимикрия) свойств и факторов вирулентности [1].

Естественно, что вновь открытый микроорганизм индуцировал волну клинических исследований по выявлению возможности его участия в развитии различных заболеваний как желудочно-кишечного тракта, так и органов, к последнему не относящихся. Так, данному инфекционному агенту отводят определённую роль в патогенезе железодефицитной анемии, тромбоцитопенической пурпуры, а также ряда кардиологических, пульмонологических, кожных, урологических и аутоиммунных заболеваний, мигрени, ишемиче-

© Коллектив авторов, 2016

*Адрес для корреспонденции: E-mail: svetaserebrova@mail.ru



Алгоритм выбора эрадикационной схемы, согласно Флорентийскому консенсусу (МаастрихтV) [5].

* — от ожидаемой резистентности в популяции, лица, которые ранее принимали кларитромицин и метронидазол, должны считаться пациентами с высоким риском «двойной» резистентности; ** — если назначение препаратов висмута невозможно, могут быть назначены левофлоксацин, рифабутин или двойная терапия с высокими дозами ИПП и амоксициллина; если невозможно назначение тетрациклина, может быть назначена квадротерапия с препаратами висмута в комбинации с фуразолидоном и метронидазолом или амоксициллином и метронидазолом.

ского инсульта, болезней Альцгеймера, Паркинсона и Рейно, ожирения [2, 3]. Сегодня список заболеваний, в формировании которых доказана роль *H.pylori*, ограничен *H.pylori*-ассоциированным гастритом, язвенной болезнью, MALT-лимфомой и аденокарциномой желудка.

С другой стороны, новый верифицированный патоген вызвал интерес с точки зрения возможности его уничтожения имеющимися фармакологическими препаратами. Среда обитания и факторы вирулентности *H.pylori* представляют собой большую проблему в плане доступности микроорганизма для антибактериальных препаратов: это кислая среда, агрессивная для многих органических молекул, слой желудочной слизи, являющийся определённым механическим барьером, способность *H.pylori* мигрировать, формировать резистентность к средствам для эрадикации и образовывать малодоступные для химического воздействия формы. Поэтому монотерапия инфекции *H.pylori* современными антибактериальными препаратами не представляется возможной. Впервые трёхкомпонентная схема эрадикации *H.pylori* была предложена в 1989 г. [4]. Современная тройная схема, включающая ингибиторы протонной помпы (ИПП), кларитромицин и амоксициллин (или метронидазол) предложена на I Маастрихтской согласительной конференции и воспринята мировым медицинским сообществом как наибо-

лее эффективная схема эрадикации *H.pylori*. Тем не менее, с течением времени эффективность данной комбинации значительно снизилась, а основной проблемой оказалась резистентность *H.pylori* к кларитромицину, обусловленная точечными мутациями, приводящими к модификации компонентов рибосом (мишени для кларитромицина), ферментным расщеплением, активным выведением кларитромицина из клетки, образованием биоплёнки [3]. Последующая исследовательская и экспертная работа привела к формированию принципов квадротерапии, включающей препараты висмута, были также разработаны рекомендации по выбору комбинаций препаратов и продолжительности лечения, направленные на повышение чувствительности патогена к имеющимся препаратам. Сформированы схемы эрадикационной терапии первой, второй и третьей линии, учитывающие вероятность высокой резистентности к кларитромицину в регионе, аллергии на пенициллины и др. факторы. Изучается возможность использования альтернативных антибактериальных средств, опыт применения которых на сегодняшний день недостаточен, или имеются сведения о быстро развивающейся резистентности к ним микроорганизма [3]. Уточненная информация по названным аспектам проведения эрадикационной терапии представлена в недавно опубликованных согласительных доку-

Таблица 1. Резистентность к компонентам современных схем эрадикации *H.pylori* [5–7]

Препараты	Уровень резистентности <i>H.pylori</i> в разных странах, её причины
Эзомепразол, рабепразол (предпочтительны [7]); омепразол, ласопразол, пантопразол	—
Препараты висмута	—
Амоксициллин	85,6% (Камерун), 36,1% (Тайвань), 8,8% (Корея), в остальных странах-респондентах не более 2,2%. В Европе, в среднем, 0,5%. Резистентность определяется мутациями гена <i>pbp-1a</i>
Кларитромицин	1% (Нидерланды, Сенегал) — 55,6% (Япония). В Европе, в среднем, 11,1%. Резистентность определяется точечными мутациями (наиболее часто A2146C, A2146G и A2147G) гена <i>rrl</i> , кодирующего 23S-субъединицу рибосом
Левифлоксацин	В Европе, в среднем, 24,1%. Растущая резистентность определяется мутациями в позиции 87 (N87K) и 91 (D91N, D91G, D91Y) гена <i>gyrA</i> , кодирующего А-субъединицу ДНК-гиразы
Метронидазол/ тинидазол	14,4% (Нидерланды, Швеция) — 32,8% (Испания). В Европе, в среднем, 17,0%. Причины требуют уточнения
Тетрациклин	0,4% (Швеция) — 4,9% (Болгария). В Европе, в среднем, 2,1%. Резистентность низкая в большинстве регионов.
Рифабутин	Резистентность обусловлена мутациями гена, кодирующего 16S рРНК 1,4% (Германия). Резистентность низкая в большинстве регионов, обусловлена мутациями гена <i>rpoB</i> , кодирующего бета-субъединицу ДНК-зависимой РНК-полимеразы
Фуразолидон	Информация требует уточнения

ментах Маастрихт V (рисунок) [5]. В настоящее время выбор эрадикационных схем основан, в первую очередь, на резистентности к включённым в них компонентам *H.pylori* в регионе (табл. 1).

Применяемые в схемах эрадикационной терапии антибактериальные препараты, как правило, используются в высоких дозах в течение двух недель, что привносит значительный вклад в развитие резистентности как самого *H.pylori*, так и других микроорганизмов, и это недостаточно освещается в научной литературе. Также мало публикуется информации о возможности лекарственных взаимодействий с компонентами эрадикационных схем и о последствиях таких взаимодействий. Рекомендаций по выбору схемы эрадикационной терапии с учётом возможных лекарственных взаимодействий при одновременном лечении сопутствующих заболеваний нет вообще.

Следующие факторы способствуют формированию лекарственных взаимодействий с препаратами, включаемыми в эрадикационные схемы:

- 1) полиморбидность;
- 2) способность препаратов метаболизироваться с помощью одних и тех же ферментов интегральной системы биотрансформации ксенобиотиков, а в ряде случаев индуцировать или ингибировать их;
- 3) способность препаратов переноситься одними и теми же ферментами-транспортёрами и возможно влиять на их активность;
- 4) достаточная продолжительность эрадикационной терапии;
- 5) высокие дозы препаратов;

6) наличие сопоставимых фармакодинамических эффектов, которые могут суммироваться при совместном применении препаратов;

7) наличие у некоторых компонентов эрадикационных схем способности изменять состав внутрипросветного содержимого желудочно-кишечного тракта, что приводит к изменениям всасывания препаратов, которые могут применяться одновременно с антихеликобактерной терапией;

8) высокая резистентность *H.pylori*, вынуждающая назначать терапию следующей линии, что мультиплицирует риски развития лекарственных взаимодействий.

Значимость лекарственных взаимодействий определяется тяжестью их клинических проявлений или неэффективностью терапии.

В условиях ограниченного по размерам текста статьи будут приводиться примеры наиболее важных лекарственных взаимодействий. Основным источником приводимой информации является сайт www.drugs.com. Ссылки на остальные публикации будут приводиться по мере их цитирования.

Ингибиторы протонной помпы применяются во всех эрадикационных схемах. Потенциал их лекарственных взаимодействий обусловлен, прежде всего, изменением pH среды, что ухудшает условия для всасывания некоторых биологически активных веществ (витамин B₁₂) и лекарственных препаратов (атазанавир, нелфинавир) или наоборот улучшает их (кларитромицин).

ИПП могут повышать биодоступность дигоксина. Механизм развития данного лекарственного взаимодействия может быть связан с изменением pH-зависимой абсорбции дигоксина или

способностью ИПП ингибировать Р-гликопротеин, субстратом которого является дигоксин.

С точки зрения большинства лекарственных взаимодействий, важно, что ИПП являются субстратами изоферментов цитохрома Р450 CYP2C19, CYP3A4 и ингибиторами CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4. Для CYP2C19 и CYP2C9 характерен генетический полиморфизм, детерминирующий скорость биотрансформации с участием соответствующих изоферментов Р450: пациенты могут быть медленными, нормальными и быстрыми метаболиторами. От генетического полиморфизма генов, кодирующих CYP2C19, и от совместного применения с ингибиторами или индукторами CYP2C19 и CYP3A4 зависит биодоступность ИПП, но биодоступность рабепразола в меньшей степени подвержена влиянию этих факторов, так как для данного препарата более характерен иной, неэнзиматический путь биотрансформации. Для ИПП в то же время характерна способность ингибировать CYP2C19, уменьшающаяся в последовательности лансопразол > омепразол > эзомепразол > пантопразол > рабепразол, CYP2C9 — в последовательности пантопразол > омепразол > лансопразол > рабепразол > эзомепразол, CYP3A4 — в последовательности пантопразол > омепразол > эзомепразол > рабепразол > лансопразол [8]. Эти сведения необходимы для оценки рисков лекарственных взаимодействий ИПП с субстратами указанных изоферментов, в том числе, имеющими серьёзные неблагоприятные побочные реакции, зависящие от концентрации препаратов в крови. Уже упоминалась способность ИПП ингибировать Р-гликопротеин, что важно, например, с точки зрения взаимодействий с ингибиторами ГМК — КоА-редуктазы («статины»): за счёт ингибирования Р-гликопротеина и CYP3A4 возможно увеличение риска развития миопатии и рабдомиолиза.

Отдельно следует рассматривать взаимодействие ИПП с препаратами, среди неблагоприятных побочных реакций которых встречаются кровотечения или увеличение продолжительности интервала QT.

Клопидогрел активируется в 2 этапа: на первом этапе процесса биотрансформации участвует, в основном, CYP2C19 и, в меньшей степени, CYP2B6, CYP1A2; во втором этапе участвуют CYP2C9, CYP3A4, CYP2C19, CYP2D6 [9]. При выборе ИПП для эрадикационной терапии следует помнить о возможном снижении эффективности одновременно используемого клопидогрела и минимальном среди ИПП влиянии рабепразола на это снижение, так как именно рабепразол в меньшей степени ингибирует большинство изоферментов, участвующих в обоих этапах активации клопидогрела (CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4).

Варфарин, в отличие от клопидогрела, не активируется, а нейтрализуется с помощью изоферментов цитохрома Р450. Причём известно, что варфарин имеет два энантиомера: R-варфарин (менее активный, но с длительным периодом полувыведения) и S-варфарин (активнее в 2—5 раз). R-варфарин метаболизируется с помощью CYP2C19, CYP3A4, CYP1A2; S-варфарин — с помощью CYP2C9 [10]. Использовать ИПП, являющиеся ингибиторами CYP2C19, CYP2C9 и CYP3A4, одновременно с варфарином нежелательно, так как это увеличивает риск кровотечений.

Препаратами, увеличивающими интервал QT, являются прокинетики (домперидон), антиаритмики 1А (дизопирамид, хинидин, прокаинамид), 3 (амиодарон, дронадарон, соталол) классов, макролиды (klarитромицин, эритромицин), фторхинолоны, противогрибковые антибиотики (кетоконазол, итраконазол), нейролептики (галоперидол, дроперидол), антидепрессанты (амитриптилин, циталопрам, эсциталопрам), блокаторы H1-гистаминовых рецепторов (терфенадин, астемизол), лоперамид и др. [11—13]. Все удлиняющие интервал QT названные препараты, кроме фторхинолонов, являются субстратами CYP3A4. ИПП — ингибиторы CYP3A4, поэтому теоретически они увеличивают биодоступность klarитромицина, кардиотоксичность которого вероятно не успевает развиваться, так как для снижения функциональной активности метаболических энзимов необходимо примерно 2 недели; т.е. к моменту, когда проявится влияние омепразола на биодоступность klarитромицина, их совместное применение в рамках эрадикационной терапии прекратится.

Однако, подобный эффект стимулирования кардиотоксичности может наблюдаться у больных, принимающих, например, амиодарон, также являющийся ингибитором CYP3A4 и увеличивающий интервал QT. Если отмена амиодарона из-за необходимости назначения эрадикационной схемы с klarитромицином на практике не выглядит целесообразной (есть альтернативы klarитромицину), то взаимодействие ИПП с другими препаратами может быть предотвращено осознанным смещением сроков их применения, по отношению к антихеликобактерной терапии. Так, не следует применять домперидон одновременно с эрадикационной схемой, включающей klarитромицин.

Известна также способность ИПП увеличивать концентрации метотрексата и его активного 7-гидрокси-производного, вызывать удлинение интервала QT при совместном применении с такролимусом за счёт усугубляющейся гипомagneмии, вызванной приёмом такролимуса и антисекреторных препаратов.

Препараты висмута обладают, в основном, местным действием. Поэтому во избежание фармацевтического взаимодействия в течение пол часа до и после их приёма не рекомендуется применение внутрь других лекарственных средств, а также приём пищи и жидкости.

Амоксициллин, также как другие антибактериальные средства, может снижать эффективность живых вакцин, повышать концентрацию метотрексата за счёт конкурентного ингибирования канальцевой секреции последнего. Эти варианты взаимодействия, расцениваемые как серьёзные, в клинической практике, тем не менее, встречаются нечасто. Тетрациклин, ингибирующий синтез белков стенки бактериальной клетки, не применяется одновременно с амоксициллином, для связывания с которым необходимы эти белки. Пенициллины иногда могут потенцировать риск возникновения кровотечений у пациентов, получающих пероральные антикоагулянты. Точный механизм такого взаимодействия не известен [14].

Кларитромицин. О способностях кларитромицина метаболизироваться с помощью CYP3A4, ингибировать этот изофермент и удлинять QT уже было сказано. Следует помнить также, что, блокируя CYP3A4, кларитромицин может увеличивать плазменные концентрации некоторых нейролептиков и антидепрессантов, которые также пролонгируют QT, а также опасны своими неблагоприятными побочными реакциями. Эти сведения особенно настораживают на фоне опубликованных данных, что на фоне курсовой эрадикационной терапии с кларитромицином в краткосрочном периоде увеличивается риск нейропсихиатрических и когнитивных расстройств [15].

При совместном применении кларитромицина и рифабутина наблюдается снижение концентраций кларитромицина и увеличение концентраций рифабутин. Этой комбинации антибиотиков рекомендуется избегать.

Кларитромицин может увеличивать антикоагулянтный эффект варфарина, что показано в клинических исследованиях и в опубликованных клинических случаях. Механизм такого взаимодействия не установлен, имеющиеся данные о влиянии обоих препаратов на активность изоферментов цитохрома P450 такой вариант взаимодействия не объясняют [16]. Ингибирование CYP3A4 и/или P-гликопротеина кларитромицином может привести к повышению плазменных концентраций и фармакодинамических эффектов апиксабана, алискирена и такролимуса. Совместное применение с кларитромицином приводит к повышению плазменных концентраций дигоксина, предположительно, за счёт ингибирования макролидом P-гликопротеина и / или канальцевой секреции сердечного гликозида, а так-

же карбамазепина и силденафила (ингибирование CYP3A4).

Подавление активности CYP3A4 кларитромицином также может привести к повышению биодоступности астемизола, терфенадина, альбутерола, салметерола, ивабрадина, амиодарона, «статинов», глюкокортикостероидов. Так как кларитромицин, астемизол, терфенадин, альбутерол, салметерол, ивабрадин, амиодарон увеличивают продолжительность интервала QT, а «статины» — риск развития рабдомиолиза, в рамках эрадикационной терапии следует избегать сочетаний этих препаратов. По причине кардиотоксичности лучше не применять кларитромицин в сочетании с фторхинолонами, в частности, с левофлоксацином.

Практически по тем же описанным выше причинам кларитромицин (также, как и фторхинолоны) следует применять с осторожностью у больных, принимающих слабительные средства: потеря электролитов провоцирует кардиотоксичность этих антибиотиков. Одновременное применение инсулина или пероральных сахароснижающих препаратов с кларитромицином может вызвать значительную гипогликемию. Точный механизм такого взаимодействия не установлен [17]. Кларитромицин также, как и амоксициллин и ряд других антибиотиков, может снижать эффективность эстроген-содержащих пероральных контрацептивов.

Левофлоксацин. Воздействие фторхинолонов на продолжительность интервала QT рассмотрена выше; неутончённые пока механизмы лежат в основе способности фторхинолонов усиливать антикоагулянтный эффект варфарина и формировать токсические эффекты в отношении головного мозга при совместном применении с нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) или селективными ингибиторами циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2). Известно, что риск воздействия фторхинолонов на ЦНС снижается в последовательности флероксацин > норфлоксацин > спарфлоксацин > ципрофлоксацин > офлоксацин > пефлоксацин > левофлоксацин, каково влияние на данную последовательность НПВП и ингибиторов ЦОГ-2, не известно [18].

Пероральные препараты, содержащие соединения магния, алюминия, кальция, железа, цинка снижают абсорбцию фторхинолонов в желудочно-кишечном тракте вследствие образования хелатных комплексов. Совместное применение фторхинолонов с глюкокортикостероидами увеличивает риск тендинитов и разрывов сухожилий; а с препаратами инсулина или пероральными сахароснижающими препаратами приводит к снижению их эффективности; механизмы развития этих лекарственных взаимодействий не известны. Назначая фторхинолоны больным, прини-

мающим трамадол или препараты Гинко билобы, следует помнить о вероятности развития судорожного синдрома.

Производные нитроимидазола. Совместное применение метронидазола и варфарина приводит к увеличению плазменных концентраций варфарина с повышением риска кровотечений. Возможный механизм данного взаимодействия заключается в ингибировании метронидазолом CYP2C9, — изофермента, ответственного за биотрансформацию S-энантиомера варфарина.

Известно, что с применением метронидазола связаны случаи развития судорожных припадков, периферической нейропатии; могут возникать головокружение, нарушение координации, атаксия, спутанность сознания, возбуждение, галлюцинации и депрессия. На этом фоне по вышеописанным причинам совместное применение производных нитроимидазола с левофлоксацином представляется рискованным. Метронидазол, тинидазол могут ингибировать алкогольдегидрогеназу, и у некоторых лиц, злоупотребляющих алкоголем, вызывать дисульфирамоподобный эффект.

На фоне применения интерферона альфа 2a или альфа 2b с метронидазолом увеличивается риск периферической нейропатии, особенно у пожилых больных и страдающих сахарным диабетом. Совместное применение с рифабутином приводит к снижению плазменных концентраций метронидазола.

Рифабутин, индуцируя CYP3A4, значительно снижает биодоступность ивабрадина, всех блокаторов кальциевых каналов, амиодарона, апиксабана, ингибиторов ГМК — КоА-редуктазы, такролимуса, тамоксифена, негативно влияет на клиническую эффективность препаратов витамина Д. Совместное применение рифабутина с кларитромицином не рекомендовано по указанным выше причинам. Рифабутин и изониазид повышают гепатотоксичность друг друга.

Основные лекарственные взаимодействия тетрациклинов внесены в табл. 2.

Фуразолидон, рассматриваемый как альтернативный компонент эрадикационных схем, представляется наиболее опасным препаратом с точки зрения возможности лекарственных взаимодействий с ним. Фуразолидон обладает свойствами ингибитора моноаминоксидазы. Совместное применение с препаратами или ингредиентами биологически-активных добавок, влияющими на адренергическую или серотонинергическую (5-гидрокситриптофан, ингибиторы обратного захвата серотонина, агонисты 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов) системы, может приводить к тяжёлым кардио-васкулярным явлениям или вызвать развитие серотонинового синдрома: спастические боли в животе, тошнота, рвота, понос, тахикардия, гипертермия, потоотделение, ла-

бильность артериального давления, мидриаз, гиперрефлексия, миоклонус, тремор, ригидность, атаксия раздражительности, измененное сознание, спутанность сознания, галлюцинации и кома. Описаны смертельные случаи. Препараты, обладающие серотонинергической активностью следует отменять заблаговременно, по мнению авторов статьи, не менее, чем за время, равное 6 периодам их полувыведения, до назначения терапевтических схем, включающих фуразолидон, и вновь назначать не раньше, чем через 2 нед после эрадикационной терапии, а лучше вообще не назначать фуразолидон такой категории пациентов.

Препараты, обладающие симпатомиметической активностью, у пациентов, принимающих ингибиторы моноаминоксидазы, резко повышают артериальное давление и вызывают гиперпирексию. Описаны смертельные случаи на фоне совместного применения фуразолидона с наркотическими анальгетиками.

Фуразолидон как ингибитор моноаминоксидазы потенцирует кардиоваскулярные неблагоприятные побочные реакции бета-2-агонистов (артериальная гипертензия, тахикардия), бета-блокаторов (ортостатическая гипотензия, брадикардия, сердечная недостаточность вследствие экстремального угнетения активности симпатической нервной системы) и т.д. Фуразолидон потенцирует, кроме бета-блокаторов, гипотензивный эффект ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина II, блокаторов кальциевых каналов, диуретиков и др. Поэтому выбор фуразолидона в качестве компонента схемы эрадикационной терапии должен иметь веские основания.

При выборе того или иного компонента схемы эрадикации *H. pylori* следует также ориентироваться на механизмы элиминации используемых препаратов, структурно-функциональные и возрастные особенности органов системы выведения, а также на рекомендации по применению тех или иных лекарственных средств в педиатрической и гериатрической практике, например, критерии Бирса [19]. В отсутствие систематизированных данных и клинических рекомендаций по профилактике лекарственных взаимодействий при эрадикации *H. pylori* в практический деятельности следует самостоятельно использовать доступные базы данных, содержащие указания на эти взаимодействия.

Таким образом, подходы к выбору эрадикационной терапии инфекции *H. pylori* должны быть оптимизированы не только в соответствии с изменяющейся резистентностью к тому или иному антибактериальному препарату в регионах, но и с точки зрения риска лекарственных взаимодействий при одновременном лечении коморбидных состояний.

Таблица 2. Наиболее важные и/или частые варианты лекарственных взаимодействий с компонентами эрадикационных схем

Компоненты эрадикационных схем	Взаимодействующие препараты	Комментарии
Препараты висмута	Любые препараты не следует принимать перорально в течение получаса до и после приема препаратов висмута	
ИПП	Антиретровирусные препараты (атазанапир, нелфинавир) Дигоксин Ингибиторы ГМК - коа-редуктазы Клопидогрел Варфарин Дизопирамид, прокаинамид, хинидин, амиодарон, дронедазон, соталол, галоперидол, амитриптилин, циталопрам, эсциталопрам, макролиды, фторхинолоны, кетоконазол, итраконазол, домперидон, терфенадин, астемизол, лоперамид Метотрексат Такролимус Г	Снижение биодоступности антиретровирусных препаратов Увеличивается биодоступность дигоксина. Увеличение риска миопатии и рабдомиолиза Снижается антиагрегантный эффект клопидогрела (показано в исследованиях <i>in vitro</i>) Возрастает риск кровотечений Удлинение интервала QT, особенно при исходном увеличении его продолжительности. Взаимодействие с кларитромицином при 14-дневной терапии может формироваться к окончанию эрадикационной терапии. Увеличение концентрации метотрексата ипомагниемия (редко)
Антибактериальные препараты		
Амоксициллин	Живые вакцины Метотрексат Тетрациклин Пероральные антикоагулянты Пероральные контрацептивы	Потеря эффективности Увеличение плазменной концентрации метотрексата Комбинация не применяется Увеличение риска кровотечения Снижение эффективности пероральных эстроген-содержащих пероральных контрацептивов
Кларитромицин	Препараты, удлиняющие интервал qt Варфарин Дигоксин алискирен, аписабан, такролимус, карбамазепин, силденафил Ивабрадин Препараты для лечения сахарного диабета (пероральные и инсулины) Ингибиторы гмк — коа-редуктазы Глюкокортикостероиды Пероральные контрацептивы Слабительные препараты Рифабутин	См. выше Увеличение риска кровотечений Увеличение плазменных концентраций дигоксина алискирена, аписабана, такролимуса, карбамазепина, силденафила Риск брадикардии Увеличение риска гипогликемии Увеличение риска миопатии и рабдомиолиза Увеличение биодоступности глюкокортикостероидов Снижение эффективности пероральных эстроген-содержащих пероральных контрацептивов Вероятно увеличение продолжительности интервала QT Снижение концентраций кларитромицина и увеличение концентраций рифабутина. Этой комбинации рекомендуется избегать
Левифлоксацин	Препараты, удлиняющие интервал qt Глюкокортикостероиды Трамадол, препараты гинко билоба Варфарин Нпвп, селективные ингибиторы цог-2 Препараты кальция, магния, алюминия Слабительные препараты Инсулин, пероральные сахароснижающие препараты Варфарин Левифлоксацин	См. выше Увеличение риска развития тендинита и разрывов сухожилий Вероятность развития судорожного синдрома Увеличение риска кровотечений Увеличение риска токсических реакций левифлоксацина на ЦНС Снижение абсорбции фторхинолонов Вероятно увеличение продолжительности интервала QT Снижение эффективности инсулина и пероральных сахароснижающих препаратов Увеличение риска кровотечений Препараты обеих фармакологических групп могут вызывать нежелательные реакции со стороны ЦНС Дисульфирамоподобные реакции Увеличение риска периферической нейропатии Снижение плазменных концентраций производных нитроимидазола
Производные нитроимидазола: метронидазол, тинидазол	Алкоголь Интерферон альфа2а, альфа2b Рифабутин	Снижение плазменных концентраций кларитромицина и рифабутина Снижение плазменных концентраций блокаторов кальциевых каналов, ивабрадина, амиодарона, аторвастатина, аписабана, такролимуса, тамоксифена Взаимное потенцирование гепатотоксичности
Рифабутин	Кларитромицин Блокаторы кальциевых каналов, ивабрадин, амиодарон, аторвастатин, аписабан, такролимус, тамоксифен Изониазид	Снижение плазменных концентраций кларитромицина и рифабутина Снижение плазменных концентраций блокаторов кальциевых каналов, ивабрадина, амиодарона, аторвастатина, аписабана, такролимуса, тамоксифена Взаимное потенцирование гепатотоксичности

Продолжение табл. 2.

Компоненты эрадикационных схем	Взаимодействующие препараты	Комментарии
	Кларитромицин	Снижение концентраций кларитромицина и увеличение концентраций рифабутина. Этой комбинации рекомендуется избегать
Тетрациклин	Производные нитроимидазола: метронидазол, тинидазол Препараты витамина Д Витамин А Дигоксин Препараты железа Препараты, содержащие соединения алюминия, кальция, магния Метотрексат	Снижение плазменных концентраций производных нитроимидазола Инактивация витамина Д Синдром псевдоопухоли головного мозга Повышение плазменных концентраций дигоксина Снижение всасывания и железа, и тетрациклинов Снижение плазменных концентраций тетрациклина
Фуразолидон	Препараты, влияющие на активность рецепторов адренергической системы, гипотензивные средства Препараты, влияющие на активность серотониновых рецепторов Наркотические анальгетики	Снижение плазменных концентраций метотрексата Резкое потенцирование эффектов Вероятность развития серотонинового синдрома Описаны смертельные случаи

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaput C., Ecobichon C., Cayet N., Girardin S. E., Werts C., Guadagnini S. et al. Role of AmiA in the Morphological Transition of *Helicobacter pylori* and in Immune Escape. PLoS Pathogens 2006; 2 (9): e97.
2. Johannes G. Kusters J.G., van Vliet A.H.M., Kuipers E.J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clinical Microbiology Reviews 2006; 19 (3): 449—490.
3. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Atherton J., Axon A.T.R., Bazzoli F. et al. Management of *Helicobacter pylori* infection the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. The European Helicobacter Study Group. Gut 2012; 61: 646e664.
4. Borody T. J., Cole P., Noonan S., Morgan A., Lenne J., Hyland L. et al. Recurrence of duodenal ulcer and *Campylobacter pylori* infection after eradication. The Medical journal of Australia 1989; 151 (8): 431—435.
5. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Gisbert J.P. et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report. Gut 2016; 0: 1—25.
6. De Francesco V., Giorgio F., Hassan C., Manes G. Worldwide *H. pylori* Antibiotic Resistance: a Systematic. J Gastrointest Liver Dis 2010; 19 (4): 409—414.
7. Smith S.M. An update on the update on the treatment of *Helicobacter pylori* infection. EMJ Gastroenterol 2015; 4 (1): 101—107.
8. Li X., Andersson T.B., Ahlstrom M., Weidolf L. Comparison of inhibitory effects of the proton pump-inhibiting drugs omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole on human cytochrome p450 activities. Drug Metab Dispos 2004; 32 (8): 821—827.
9. Goodwin M.M., Desilets A.R., Willett K.C. Thienopyridines in Acute Coronary Syndrome. The Annals of Pharmacotherapy. 2011; 45 (2): 207—217.
10. Шух Е.В., Сычев Д.А. Безопасность пантопразола с позиций лекарственного взаимодействия. РЖГГК 2012; 5: 4—12. / Shih E.V., Sychev D.A. Bezopasnost' pantoprazola s pozicij lekarstvennogo vzaimodejstviya. RZhGGK 2012; 5: 4—12. [in Russian]
11. MOTILIUM® DATASHEET. file:///C:/Users/Admin/Desktop/Янсен%2006-12-16/Послать/motiliumtab%20(1).pdf
12. Castro V. M. QT interval and antidepressant use: a cross sectional study of electronic health records. BMJ 2013; 346: f288.
13. Lu H.R., Hermans A.N., Gallacher D.J. Does terfenadine-induced ventricular tachycardia/fibrillation directly relate to its QT prolongation and Torsades de Pointes? British J Pharmacol 2012; 166: 1490—1502.
14. Davydov L., Yermolnik M., Cuni L.J. Warfarin and amoxicillin/clavulanate drug interaction. Ann Pharmacother 2003; 37: 367—370.
15. Mayor S. Short term increase in neuropsychiatric events is seen with *H. pylori* treatment containing clarithromycin. BMJ 2016; 353: i2481.
16. Visser L.E., Penning-Van Bees F.J., Harrie Kasbergen A.A. et al. Overanticoagulation associated with combined use of antibacterial drugs and acenocoumarol or phenprocoumon anticoagulants. Thromb Haemost 2002 (88): 705—710.
17. Otsuka S.H. Severe hypoglycemia from *helicobacter pylori* triple-drug therapy and insulin detemir drug interaction. Pharmacotherapy 2013 (33): e45—49.
18. Lipsky B.A., Baker C.A. Fluoroquinolone Toxicity Profiles: A Review Focusing on Newer Agents. Clin Infect Dis 1999; 28: 352—364.
19. American Geriatrics Society 2015 Updated Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. AGS 2015 Beers Criteria update expert panel. JAGS 2015; 63 (11): 2227—2246.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сереброва Светлана Юрьевна — д.м.н., главный научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва

Прокофьев Алексей Борисович — д.м.н., профессор, директор Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва

Журавлева Марина Владимировна — д.м.н., профессор, зам. директора Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва

Городецкая Галина Ивановна — научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Еременко Наталья Николаевна — эксперт I категории Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Смолярчук Елена Анатольевна — к.м.н., доцент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России

Кургузова Дарья Олеговна — ассистент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России

**МУЛЬТИЛОКУСНОЕ СИКВЕНС-ТИПИРОВАНИЕ
ЦЕЛОГО ГЕНОМА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
ENTEROBACTERIACEAE, ОБРАЗУЮЩИХ
БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА.**

**WHOLE-GENOME MULTILOCUS SEQUENCE TYPING
OF EXTENDED-SPECTRUM-BETA-LACTAMASE-
PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE /
M. F. Q. KLUYTMANS-VAN DEN BERGH*,
J. W. A. ROSSEN, P. C. J. BRUIJNING-VERHAGEN,
M. J. M. BONTEN, A. W. FRIEDRICH,
C. M. J. E. VANDENBROUCKE-GRAULS, R. J. L. WILLEMS,
J. A. J. W. KLUYTMANS ON BEHALF OF THE SOM STUDY
GROUP // J CLIN MICROBIOL. DECEMBER 2016;
54; 12: 2919–2927.**

Молекулярное типирование становится совершенно необходимым при установлении внутрибольничного переноса патогенных бактерий, источников и путей их распространения в условиях вспышек инфекции, но современные методы требуют больших затрат лабораторной работы, трудны для стандартизации и имеют ограниченную разрешающую способность. Мультилокусное сиквенс-типирование целого генома (wgMLST), представляющее «gene-by-gene» метод типирования последовательности целого генома (WGS), преодолевает ограничения и успешно применяется в отношении некоторых видов бактерий в условиях эпидемической вспышки. Представлены родовые, специфические комплексно-генетические и видовые схемы wgMLST, разработанные для *Citrobacter* spp., *Enterobacter cloacae* complex, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, и *Klebsiella pneumoniae* и опробованные для типирования выделенных в датских больницах 1798 коллекционных штаммов Enterobacteriaceae, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (Е-БЛРС). Было показано, что родовые, специфические комплексно-генетические и видовые схемы определения генетического статуса точно определяли эпидемиологическое родство или его отсутствие у штаммов *Citrobacter* spp., *E. cloacae* complex, *E. coli* и *K. pneumoniae*, и метод wgMLST обладал большей разрешающей способностью и степенью типированности, чем метод *in silico* MLST. Таким образом, разработанные wgMLST схемы облегчают основанное на WGS типирование с высоким разрешением наиболее распространённых в клинической практике БЛРС-продуцирующих видов бактерий и могут внести вклад в выяснение сложной эпидемиологии антибиотикоустойчивых штаммов Enterobacteriaceae. Метод wgMLST открывает возможности создания WEB-базы данных для глобального надзора за БЛРС-продуцирующими бактериальными клонами.

* Amphia Academy Infectious Disease Foundation, Amphia Hospital, Breda, the Netherlands.

* Julius Center for Health Sciences and Primary Care, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands.

**ОТСЛЕЖИВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ В ЭРУ СЕКВЕНИРОВАНИЯ
ЦЕЛОГО ГЕНОМА.**

**NAVIGATING MICROBIOLOGICAL FOOD SAFETY
IN THE ERA OF WHOLE-GENOME SEQUENCING/
J. RONHOLM*, N. NASHERI, N. PETRONELLA,
F. PAGOTTO// CLIN MICROBIOL REV. OCTOBER 2016;
29: 4: 837–857.**

Эпидемиологическое исследование вспышек инфекции пищевого происхождения, включая определение родственности эпизодов, выявление источников инфекции и разработку новых стратегий воздействия, зависит от способности субтипировать этиологический субъект (возбудителя) с разрешением, достаточно высоким для дифференцирования родственной связи с другими эпизодами. Для этой цели используются несколько различных молекулярных методов субтипирования, но появление таких технологий, основанных на однонуклеотидном полиморфизме (SNP), как секвенирование целого генома (WGS), обеспечивает разрешение, которое ранее было невозможным. В отличие от традиционных методов субтипирования с недостаточно полной информацией, данные WGS могут быть использованы для выяснения филогенетических взаимосвязей, источников, отслеживания происхождения заболевания и мониторинга во времени. Решение проблемы субтипирования и эволюционный контекст с помощью данных WGS позволяют исследователям установить родственные связи между заболеваниями, что можно упустить, применяя традиционные методики. Преимуществом данных WGS является возможность использования их для анализов второго плана, таких как выявление генов вирулентности, генетического профиля антибиотикоустойчивости, сравнительные исследования в едином поле, идентификация мобильных генетических элементов и географический аспект. В настоящее время существует несколько компьютерных программ для перевода данных WGS в *in silico* результаты, что позволяет производить сравнение с предшествующими базами данных. Метагеномные подходы на основе секвенирования с помощью методик нового поколения успешны при выявлении некультивируемых пищевых патогенов. Данный обзор направлен на технику WGS и анализ данных, а также на обсуждение использования данного метода для поддержки исследований по безопасности пищи. Представлены ретроспективные исследования эпидемических

вспышек с использованием WGS, в которых приведены примеры превосходства и преимуществ WGS в сравнении с традиционными технологиями молекулярного субтипирования.

* Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate, Health Canada, Ottawa, ON, Canada.

**ГЕНОМНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ УСТОЙЧИВОСТИ
ГОНОКОККОВ К ЦЕФАЛОСПОРИНАМ ШИРОКОГО
СПЕКТРА, МАКРОЛИДАМ И ФТОРХИНОЛОНАМ
В США В 2000—2013 ГГ.**

**GENOMIC EPIDEMIOLOGY OF GONOCOCCAL
RESISTANCE TO EXTENDED-SPECTRUM
CERHALOSPORINS, MACROLIDES,
AND FLUOROQUINOLONES IN THE UNITED STATES,
2000—2013 / Y. H. GRAD*, S. R. HARRIS,
R. D. KIRKCALDY, A. G. GREEN, D. S. MARKS,
S. D. BENTLEY, D. TREES, M. LIPSITCH //
THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES. 2016;
214: 10: 1579—1587.**

Лечение инфекции *Neisseria gonorrhoeae* является эмпирическим и основано на данных популяционной чувствительности. Рост антимикробной устойчивости подчёркивает важность для управления терапией быстрых диагностических тестов, включая тесты, базирующиеся на секвенировании. Применимость таких тестов зависит от распространённости и динамики механизмов устойчивости. Были определены распространённость и динамика маркёров устойчивости у 1102 устойчивых и чувствительных к цефалоспорином широкого спектра (ЦШС), макролидам и фторхинолонам клинических штаммов *N.gonorrhoeae*, собранных через Центры по контролю за заболеваниями и профилактическому надзору за гонококковыми штаммами в период 2000—2013 гг. Сниженная чувствительность к ЦШС носит преимущественно клональный характер и ассоциируется с мозаичной репА XXXIV аллелью и её производными (чувствительность к цефиксиму — 98%, цефтриаксону — 91%), но спорадически могут возникать альтернативные механизмы устойчивости. Снижение чувствительности к азитромицину возрастает, благодаря множественным механизмам, и демонстрирует ограниченное клональное распространение. Механизм устойчивости 36% штаммов со сниженной чувствительностью к азитромицину не ясен. Устойчивость *N.gonorrhoeae* к хинолонам возросла во много раз при экстенсивном клональном распространении. Устойчивость *N.gonorrhoeae* к хинолонам и сниженная чувствительность к цефиксиму являются основанием для разработки диагностических сиквенс-тестов, тогда как неустановленность механизмов устойчивости к цефтриаксону и азитроми-

цину подчёркивает важность фенотипического контроля. Идентификация штаммов с множественной лекарственной устойчивостью высвечивает необходимость дополнительных мер реагирования в случае не поддающейся лечению гонореи.

* Harvard T. H. Chan School of Public Health, 665 Huntington Ave, Bldg 1, Rm 715, Boston, MA 02115.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ МУТАЦИЙ
В ЛОКУСАХ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ
ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ БОЛЬНЫХ
МУКОВИЦИДОЗОМ.**

**MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MUTATIONS
IN ANTIMICROBIAL RESISTANCE LOCI OF
PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATES FROM
CYSTIC FIBROSIS AIRWAYS OF PATIENTS / L. GREIPEL,
S. FISCHER, J. KLOCKGETHER, M. DORDA, S. MIELKE,
L.WIEHLMANN, N. CRAMER*, B. TÜMMLER //
ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER. NOVEMBER 2016;
60: 11: 6726—6734.**

Хронические инфекции дыхательных путей, вызванные *Pseudomonas aeruginosa* у больных муковисцидозом (МВ), лечат аэрозольными антибиотиками, пероральными фторхинолонами и/или в/в комбинированной терапией аминогликозиды + бета-лактамы антибиотиками. Международная коллекция, содержащая 361 штамм *P.aeruginosa*, собранная от 258 больных в 30 МВ центрах, была обследована на наличие мутаций в 17 локусах чувствительности и устойчивости к антибиотикам; и методом секвенирования генома серии штаммов, полученных в одной из МВ клиник; мутации были идентифицированы как «горячие мутационные точки». Комбинаторным секвенированием ампликона пула продуктов ПЦР были идентифицированы 1112 сиквенс-вариантов, отсутствующих в геномах репрезентативных штаммов 20 самых общих клонов глобальной популяции *P.aeruginosa*. Единичные кодовые варианты с высокой частотой отмечались в *spuE*, *mexA*, *gyrA*, *rpoB*, *fusA1*, *mexZ*, *mexY*, *oprD*, *ampD*, *parR*, *parS* и *envZ (amgS)*, что было отражением пресинга на *P.aeruginosa* в лёгких, побуждающего к синтезу новых белковых вариантов. Пропорция замещений в не-нейтральных аминокислотах была высокой. Из 17 локусов наиболее подверженными влиянию независимых стоп-мутаций, были *mexA*, *mexZ* и *pagL*. Отдельные и *de novo* мутации, по-видимому, играют существенную роль в отклике популяций *P.aeruginosa* на антибиотическую нагрузку и особенности реакции каждого больного МВ.

* Clinical Research Group Molecular Pathology of Cystic Fibrosis, Clinic for Pediatric Pneumology,

СИДЕРОФОРНЫЙ ЦЕФАЛОСПОРИН ЦЕФИДЕРОКОЛ ИСПОЛЬЗУЕТ ТРАНСПОРТНЫЕ СИСТЕМЫ ИОНОВ ТРЁХВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ПРОЯВЛЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

SIDEROPHORE CEPHALOSPORIN CEFIDEROCOL UTILIZES FERRIC IRON TRANSPORTER SYSTEMS FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* / A. ITO*, T. NISHIKAWA, S. MATSUMOTO, H. YOSHIZAWA, T. SATO, R. NAKAMURA, M. TSUJI, Y. YAMANO // ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER. DECEMBER 2016; 60: 12: 7396—7401.

Цефидерокол (S-649266) — новый парентеральный сидерофорный цефалоспорин, содержащий катехольный радикал в положении 3 боковой цепи. *In vitro* активность цефидерокола в отношении *Pseudomonas aeruginosa* усиливалась в условиях дефицита железа, тогда как это обстоятельство не влияло на активность цефтазидима. Мониторинг [тиазол-14C]цефидерокола выявил повышенную внутриклеточную аккумуляцию цефидерокола в клетках *P.aeruginosa* при инкубации в условиях дефицита железа в отличие от клеток, инкубированных при достаточной концентрации железа. Цефидерокол обладал высокой хелатной активностью в отношении трёхвалентных ионов железа, что обеспечивало успешное продвижение внеклеточного железа внутрь клетки *P.aeruginosa* в присутствии цефидерокола, также как и сидерофоров, но когда одна из гидроксильных групп молекулы катехола была замещена метоксигруппой, повышенного транспорта внеклеточного железа не наблюдалось. Авторы заключают, что цефидерокол образует хелатные комплексы с трёхвалентным железом, с помощью которых транспортерами железа антибиотик активно продвигается внутрь клеток *P.aeruginosa*, что и приводит к высокой антибактериальной активности цефидерокола в отношении *P.aeruginosa*.

* Drug Discovery and Disease Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd., Osaka, Japan.

ОЦЕНКА АНТИВИРУЛЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ D-АМИНОКИСЛОТ В ОТНОШЕНИИ *ACINETOBACTER BAUMANNII* И *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

ASSESSMENT OF ANTIVIRULENCE ACTIVITY OF SEVERAL D-AMINO ACIDS AGAINST

***ACINETOBACTER BAUMANNII* AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* / C. RUMBO, J. A. VALLEJO, M. P. CABRAL, M. MARTÍNEZ-GUTIÁN, A. PÉREZ, A. BECEIRO, G. BOU* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 71: 12: 3473—3481.**

Образование биоплёнок и бактериальная адгезия являются важными и необходимыми условиями персистенции и мультилекарственной устойчивости инфекции. D-аминокислоты выполняют роль модуляторов роста и персистенции бактерий, хотя их способность подавлять биоплёнки во многом ещё обсуждается. Было проанализировано действие 18 различных D-аминокислот на патогенные бактерии *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. Исследованиями *in vitro* было проанализировано влияние D-аминокислот на рост бактерий, нарушение образования биоплёнки, способность прикрепляться к эукариотным клеткам и гибель клеток. Кроме того, были выполнены *in vivo* исследования на моделях сепсиса и пневмонии у мышей. Образование биоплёнок *A.baumannii* подавлялось (35—86%) при 2 мМ d-His, d-Cys и d-Trp, а для *P.aeruginosa* — при 4 мМ d-Cys, d-Trp и d-Tyr (10—30%). Прикрепление *A.baumannii* к альвеолярным A549 клеткам человека снижалось под действием d-Cys, d-His, d-Met, d-Val и d-Ser, а *P.aeruginosa* — под действием d-Arg и d-Trp. Рост *A.baumannii* подавляли d-Cys, d-His, d-Met, d-Val и d-Ser, а рост *P.aeruginosa* — d-Arg и d-Trp. Как показали исследования вирулентности, инкубация альвеолярных клеток, инфицированных *P.aeruginosa*, с d-Cys, d-Trp и d-Arg снижала их гибель (56—45%). Однако в опытах *in vivo* существенного влияния D-аминокислот не наблюдали. Итак, некоторые D-аминокислоты подавляли рост бактерий, образование биоплёнки и адгезию *A.baumannii* и *P.aeruginosa* к эукариотным клеткам, а также защищали альвеолярные клетки от инфекции *P.aeruginosa*. Несмотря на то, что наблюдалось некоторое защитное действие D-аминокислот в опытах на мышах, различия в выживаемости между контрольными и обработанными животными были статистически не значимыми.

* Servicio de Microbiología-Instituto de Investigación Biomédica (INIBIC), Complejo Hospitalario Universitario A Coruña (CHUAC) As Xubias, 15006 A Coruña, Spain.

КОМБИНАЦИЯ ПОЛИМИКСИНА В С ДОРИПЕНЕМОМ ПРОТИВ ГЕТЕРОРЕЗИСТЕНТНОГО *ACINETOBACTER BAUMANNII*: ФАРМАКОДИНАМИКА ПРИ НОВЫХ СТРАТЕГИЯХ ДОЗИРОВАНИЯ.

POLYMYXIN B IN COMBINATION WITH DORIPENEM AGAINST HETERORESISTANT *ACINETOBACTER*

BAUMANNII: PHARMACODYNAMICS OF NEW DOSING STRATEGIES / G. G. RAO, N. S. LY, J. B. BULITTA, R. L. SOON, M. D. SAN ROMAN, P. N. HOLDEN, C. B. LANDERSDORFER, R. L. NATION, J. LI A. FORREST, B. T. TSUJI* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY. 2016; 71: 11: 3148—3156.

Полимиксин В всё шире используется как последнее средство против устойчивых грамотрицательных бактерий — возбудителей инфекций. Была исследована фармакодинамика комбинаций с полимиксином В при новых стратегиях дозирования, максимально увеличивающих эффективность и сводящих к минимуму появление устойчивости и время экспозиции *Acinetobacter baumannii* с антибиотиками. Оценку фармакодинамики комбинаций полимиксина с дорипенемом у двух гетерорезистентных к полимиксину В штаммов *A. baumannii* (ATCC 19606 и N16870) осуществляли методами определения гибели бактерий во времени (time-kill) на 48 ч при плотности клеток, равной 10^8 КОЕ/мл. Отношения фармакокинетики/ фармакодинамики были математически смоделированы с помощью S-ADAPT. Имитацию клинических режимов дозирования комбинаций полимиксина В с дорипенемом (традиционных и усиленных режимов: «front-loaded» с повышенной начальной нагрузкой и «burst» с ускоренным высвобождением лекарственного вещества) осуществляли на модели инфекции с диализными мембранами (HFIM) при нагрузке 10^9 КОЕ/мл штамма ATCC 19606. В статических исследованиях «time-kill» полимиксин В при концентрациях >4 мг/л в комбинации с дорипенемом (25 мг/л) вызывал на 24 ч в отношении обоих штаммов быстрый бактерицидный эффект, сопровождающийся снижением плотности бактерий до неопределяемой величины. Математическая модель описывала быструю, зависимую от концентрации гибель в результате субпопуляционного и механистического синергизма. На модели HFIM традиционный режим введения комбинации с полимиксином демонстрировал синергидное действие, снижая нагрузку к 48 ч на $>7,5 \log_{10}$. Комбинация с полимиксином в режиме «front-loaded» приводила к более быстрому и обширному снижению бактериальной нагрузки ($>8 \log_{10}$) уже на 24 ч с сохранением эффекта в течение 10 дней. Антибактериальный эффект комбинации полимиксина в режиме «burst», сопоставимый с эффектом традиционного и «front-loaded» режимов, проявлялся уже при 25% кумулятивной экспозиции с антибиотиком. Режимы «front-loaded» и «burst» подавляли развитие устойчивости. Таким образом, ранние по времени агрессивные режимы дозирования комбинаций с полимиксином В показали свою терапевтическую перспективность в случае инфекций, обус-

ловленных гетерорезистентными штаммами *A. baumannii*.

* Laboratory for Antimicrobial Pharmacodynamics, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University at Buffalo, The State University of New York, Buffalo, NY, USA.

ОЦЕНКА УДАРНЫХ ДОЗ КОЛИСТИНА ПО ОПУБЛИКОВАННЫМ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИМ И КЛИНИЧЕСКИМ ДАННЫМ.

COLISTIN LOADING DOSE: EVALUATION OF THE PUBLISHED PHARMACOKINETIC AND CLINICAL DATA / K. Z. VARDAKAS, K. RELLOS, N. A. TRIARIDES, M. E. FALAGAS* // INTERN J ANTIMICROB AGENTS 2016; 48: 5: 475—484.

Колистин (полимиксин Е) стал широко известен с начала XXI века в качестве антибиотика последнего выбора при лечении больных с инфекциями, обусловленными бактериями с множественной и экстенсивной лекарственной устойчивостью. Однако использование колистина вызывает озабоченность ввиду того, что вводимая доза лекарства содержит примесь в виде неактивного про-лекарства колистиметата натрия (КМН), отличающегося от активного вещества по фармакокинетическим (ФК) свойствам. Во всех известных исследованиях отмечалась интер- и интравариабильность концентраций колистина в плазме. Низкие концентрации антибиотика в плазме в первые часы введения свидетельствовали о предпочтительности ударных доз. В других ФК исследованиях такой подход оспаривается. Клинические данные рандомизированных контролируемых испытаний отсутствуют, а обсервационные исследования не подтверждают более высокую эффективность ударных доз. В данном обзоре суммированы результаты, полученные при введении ударных доз, и обсуждены возможные преимущества и недостатки, как и обстоятельства, при которых данный подход может быть благоприятен для больных.

* Journal of Antimicrobial Chemotherapy Volume 71, Issue 11 Pp. 3058—3061.

КЛАСТЕР-ЗАВИСИМАЯ ГЕТЕРОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *ENTEROBACTER CLOACAE* КОМПЛЕКСА К КОЛИСТИНУ.

CLUSTER-DEPENDENT COLISTIN HETERO-RESISTANCE IN *ENTEROBACTER CLOACAE* COMPLEX / F. GUÉRIN, C. ISNARD, C. SINEL, P. MORAND, A. DHALLUIN, V. CATTOIR, J.-C. GIARD* // J ANTIMICROB CHEMOTHER 2016; 71: 11: 3058—3061.

Задачами исследования были: 1) определение роли принадлежности к кластеру в фенотипической гетерорезистентности к колистину *Enterobacter cloacae* комплекса (ЕСС); 2) определение генетического механизма гетерорезистентности к колистину у ЕСС. У 124 штаммов, принадлежащих к 13 кластерам, был проанализирован фенотип гетерорезистентности к колистину (определение значений МПК методами микроразведений в бульоне, Етестом и популяционный анализ профиля устойчивости). Были сконструированы различные мутанты ($\Delta phoP$, $\Delta phoQ$, $\Delta phoPQ$, $\Delta pmrA$, $\Delta pmrB$, $\Delta pmrAB$, $\Delta arnE$, $\Delta arnF$ и $\Delta arnBCADTEF$), и определён их фенотип гетерорезистентности к колистину. На основании данных определения МПК микроразведениями в бульоне и Етестом было показано, что гетерорезистентность к колистину зависит от кластера: штаммы кластеров I, II, IV, VII, IX, X, XI и XII обычно были гетерорезистентны, тогда как относящиеся к кластерам III, V, VI, VIII и XIII рассматривались как чувствительные. При анализе популяционного профиля устойчивости небольшая часть клеток ($<10^{-7}$) некоторых штаммов кластеров V и VIII проявляла устойчивость. Анализ мутантов показал, что механизм гетерорезистентности зависит, главным образом, от экспрессии *arn* оперона и *phoP/phoQ* двухкомпонентной регуляторной системы. Итак, поскольку гетерорезистентность ЕСС ассоциируется с принадлежностью к определённому кластеру, следует определять кластер штамма параллельно с МПК колистина. Механизм устойчивости к колистину может быть не схожим с таковым у других представителей *Enterobacteriaceae*, поскольку роль в регуляции резистентности играет только двухкомпонентная регуляторная система *PhoP/PhoQ* (но не *PmrA/PmrB*).

* Université de Caen Normandie, EA4655 U2RM (équipe 'Antibio-résistance'), Caen, France.

ПЕРОРАЛЬНАЯ ДЕКОНТАМИНАЦИЯ АМИНОГЛИКОЗИДАМИ АССОЦИИРУЕТСЯ С ПОНИЖЕННЫМ РИСКОМ СМЕРТНОСТИ И РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ИЗ ГРУППЫ ВЫСОКОГО РИСКА, КОЛОНИЗИРОВАННЫХ УСТОЙЧИВЫМИ К КОЛИСТИНУ ШТАММАМИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ПРОДУЦИРУЮЩИМИ КАРБАПЕНЕМАЗУ КРС.

ORAL DECONTAMINATION WITH AMINOGLYCOSIDES IS ASSOCIATED WITH LOWER RISK OF MORTALITY AND INFECTIONS IN HIGH-RISK PATIENTS COLONIZED WITH COLISTIN-RESISTANT, KPC-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* // I. MACHUCA, B. GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ, S. PÉREZ CORTÉS, I. GRACIA-AHUJER, J. SERRANO, M. DOLORES MADRIGAL, J. BARCALA, F. RODRÍGUEZ-LÓPEZ,

J. RODRÍGUEZ-BAÑO*, J. TORRE-CISNEROS // J ANTIMICROB CHEMOTHER 2016; 71: 11: 3242—3249.

Инвазивные инфекции, обусловленные КРС-продуцирующими штаммами *Klebsiella pneumoniae* (КРСКР), характеризуются высокой смертностью больных. Развитию инфекции обычно предшествует ректальная колонизация, поэтому у отдельных больных было исследовано защитное действие деколонизационной терапии (ДТ) аминогликозидами. Больные с ректальной колонизацией колистиноустойчивой КРСКР, относящиеся к группе высокого риска развития инфекции (наличие в анамнезе нейтропении, хирургического вмешательства, рецидивов КРСКР инфекций и множественных сопутствующих заболеваний), находились под наблюдением в течение 180 дней после ДТ. Исследование влияния двух режимов кишечной ДТ пероральными аминогликозидами (гентамицином и неомицин/стрептомицином) на показатель смертности, риск развития КРСКР инфекций и успешный микробиологический исход было выполнено методом регрессивного анализа по Коксу с учётом псевдорандомизации. Из 77 больных с колонизацией, участвующих в исследовании, 44 (57,1%) получали ДТ. Через 180 дней, согласно мультивариантному анализу, деколонизация ассоциировалась с более низким риском смертности (HR 0,18; 95% ДИ 0,06—0,55) и КРСКР инфекций (HR 0,14; 95% ДИ 0,02—0,83) и более успешным микробиологическим исходом (HR 4,06; 95% ДИ 1,06—15,6). Результатом пероральной терапии гентамицином были пониженный риск общей смертности (HR 0,15; 95% ДИ 0,04—0,54) и КРСКР инфекций (HR 0,86; 95% ДИ 0,008—0,94) и улучшенный показатель микробиологического отклика (HR 5,67; 95% ДИ 1,33—24,1). Терапия неомицином/стрептомицином ассоциировалась только с пониженным риском смертности (HR 0,22; 95% ДИ 0,06—0,9). Таким образом, деколонизация кишечника аминогликозидами ассоциируется со снижением общей смертности и КРСКР инфекций в течение 180 дней после начала лечения. Исследование зарегистрировано ClinicalTrials.gov (NCT02604849).

* Unit of Infectious Diseases, Clinical Microbiology and Preventive Medicine, Hospital Universitario Virgen Macarena and Virgen del Rocío — IBI, and Department of Medicine, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain.

IN VIVO ЭВОЛЮЦИЯ НЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К ТИГЕЦИКЛИНУ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* У БОЛЬНЫХ: ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ВИРУЛЕНТНОСТЬЮ И УСТОЙЧИВОСТЬЮ.

IN VIVO EVOLUTION OF TIGECYCLINE-NON-SUSCEPTIBLE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS IN PATIENTS: RELATIONSHIP BETWEEN VIRULENCE AND RESISTANCE / Y.-T. LIN*, Y.-W. HUANG, H.-H. UI HUANG, T.-C. YANG, F.-D. WANG, C.-P. FUNG // INTERNATIONAL J ANTIMICROB AGENTS 2016; 48: 5: 485—491.

Число сообщений об устойчивости штаммов *Klebsiella pneumoniae* к тигециклину увеличивается. Задачей исследования было определить связь между *in vivo* приобретением устойчивости к тигециклину клиническими штаммами *K.pneumoniae*, молекулярными механизмами, лежащими в основе этого, и вирулентностью бактерий. Было установлено, что последовательно выделенные от одного и того же больного в медицинском центре (Тайвань) штаммы *K.pneumoniae*, исходно чувствительные к тигециклину (ТЧ), становились нечувствительными к тигециклину (ТНЧ). Были собраны также клинические показатели. У всех штаммов были определены Етестом значения МПК, гель-электрофореграммы в пульсирующем поле (PFGE), фактор вирулентности, скорость роста и показатель летальности мышей; а также выполнено мультилокусное сиквенс-типирование (MLST). Экспрессия *acrA*, *oqxA*, *ramA* и *rarA* была проанализирована методом ПЦР в реальном времени. Мутации в *acrR*, *ramR*, *oqxR* и *rpsJ* были определены секвенированием ДНК. Фингерпринтом гель-электрофореграмм были выявлены 5 пар изогенных штаммов. ТНЧ штаммы *K.pneumoniae* появлялись у больных, инфицированных ТЧ штаммами *K.pneumoniae*, после терапии разными антибиотиками. Не чувствительность к тигециклину штаммов *K.pneumoniae* ассоциировалась с активацией RamA и/или RarA и соответствующих насосов выброса AcrAB и/или OqxAB. Различные мутации в генах с пониженной регуляцией (*ramR* и *oqxR*) были ответственны за сверхэкспрессию, соответственно, *ramA* и *rarA*. Три из 5 парных штаммов показали сходную скорость роста и вирулентность у ТЧ и ТНЧ штаммов. Два ТНЧ штамма *K.pneumoniae* принадлежали, соответственно, к двум капсулярным типам K1 и K20, сохраняя их высокую вирулентность. Итак, некоторые ТНЧ штаммы *K.pneumoniae*, полученные из ТЧ штаммов, не снижали вирулентность. Диссеминация подобных высокопатогенных и антибиотикоустойчивых штаммов должна стать основным предметом рассмотрения в будущем.

* Division of Infections Diseases, Department of Medicine, Taipei Veterans General Hospital, Taipei, Taiwan.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ И ФАКТОРЫ РИСКА ВСПЫШКИ БАКТЕРИЕМИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ

ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ, В ПРОЦЕССЕ ТЕРАПИИ КАРБАПЕНЕМАМИ.

CLINICAL FEATURES AND RISK FACTORS FOR DEVELOPMENT OF BREAKTHROUGH GRAM-NEGATIVE BACTEREMIA DURING CARBAPENEM THERAPY/ J.-Y. LEE, C.-I. KANG*, J.-H. KO, W. J. LEE, H.-R. SEOK, G. E. PARK, S. Y. CHO, Y. E. HA, D. R. CHUNG, N. Y. LEE, K. R. PECK, J.-H. SONG // ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER NOVEMBER 2016; 60: 11: 6673—6678.

С ростом применения карбапенемов основными возбудителями инфекций в учреждениях здравоохранения становятся карбапенемоустойчивые грамотрицательные бактерии (ГОб). Были охарактеризованы клинические и микробиологические особенности вспышек бактериемии, вызванных ГОб, во время терапии карбапенемами, а также оценены факторы риска вспышек ГОб инфекций. В период с 2005 г. по 2014 г. были выполнены исследования «случай—контроль». В группу «случай» входили больные с развившейся инфекцией кровотока, получавшие лечение карбапенемами за 48 ч до вспышки ГОб инфекции. В группу «контроля» были включены больные, также получавшие карбапенемы за 48 ч до вспышки инфекции, но с неразвившейся ГОб инфекцией, и по демографическим данным (возраст, пол) сопоставимые с больными группы «случай». Всего был установлен 101 случай вспышки инфекции и сопоставлен со 100 «контролями». Основными возбудителями ГОб вспышек были *Stenotrophomonas maltophilia* (n=33), *Acinetobacter baumannii* (n=32), *Pseudomonas aeruginosa* (n=21) и др. (n=15). Примерно 90% штаммов *S.maltophilia* были чувствительны к левофлоксацину и триметоприм-сульфаметоксазолу. Наиболее общими видами инфекций были первичная бактериемия (38,6%) и респираторные инфекции (35,6%). Более половины больных скончались в течение недели после начала бактериемии, а смертность в течение 30 дней составила 70,3%. По данным авторов, основными возбудителями ГОб инфекций в период терапии карбапенемами, ассоциирующимися с указанными факторами риска, были *S.maltophilia*, *A.baumannii* и *P.aeruginosa*. С ГОб вспышкой во время терапии карбапенемами, согласно мультивариантному анализу, ассоциировались такие факторы, как продолжительное пребывание в стационаре, злокачественные гематологические заболевания, персистирующая нейтропения, приём иммунодепрессантов, предшествующая колонизация микроорганизмами-возбудителями.

* Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine, Samsung Medical Center,

Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Republic of Korea.

ЦЕФАЗОЛИН+ЭРТАПЕНЕМ — СИНЕРГИДНАЯ КОМБИНАЦИЯ, ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ДЛЯ КЛИРЕНСА ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* БАКТЕРИЕМИИ.

CEFAZOLIN AND ERTAPENEM, A SYNERGISTIC COMBINATION USED TO CLEAR PERSISTENT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BACTEREMIA / G. SAKOULAS*, J. OLSON, J. YIM, N. B. SINGH, M. KUMARASWAMY, D. T. QUACH, M. J. RYBAK, J. POGLIANO, V. NIZET // ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER. 2016: 60: 11: 6609—6618.

Комбинация эртапенема и цефазолина была успешно применена для клиренса резистентной бактериемии, обусловленной метициллиночувствительным *Staphylococcus aureus* (MSSA). Исследования последнего времени продемонстрировали активность комбинации беталактамов с антибиотиками различных классов при бактериемии, вызванной метициллиноустойчивым *Staphylococcus aureus* (MRSA). Синергидное действие комбинации эртапенем+цефазолин оценивали *in vitro* и *in vivo* на модельной инфекции кожи у мышей, используя для сравнения MSSA штамм, выделенный из кровотока больного, персистирующая бактериемия у которого была излечена указанной комбинацией, а также основную группу хорошо изученных лабораторных штаммов и клинические MSSA и MRSA штаммы. Согласно результатам исследований методами «time-kill» и шахматной доски (индекс фракционной ингибиторной концентра-

ции, FIC=0,375), эртапенем и цефазолин показали синергидное действие в отношении MSSA штамма, выделенного из кровотока больного. При использовании диско-диффузионного метода определения потенцирования активности эртапенем увеличивал зону подавления роста MSSA штамма цефазолином с 34 мм до 40 мм. *In vitro* моделирование фармакокинетики/фармакодинамики клинически релевантных концентраций продемонстрировало на 48 ч бактерицидную активность комбинации (снижение $>3 \log_{10}$ -KOE/мл) в отличие от бактериостатического действия каждого антибиотика в отдельности. Диско-диффузионным методом определения потенцирования активности было продемонстрировано увеличение зоны подавления цефазолином более чем на 3 мм у 34/35 (97%) MSSA и 10/15 (67%) MRSA штаммов. На модельной инфекции кожи мышей также была показана повышенная активность комбинации цефазолин+эртапенем по сравнению с монотерапией отдельными антибиотиками. Таким образом, как при клиренсе MSSA бактериемии, так и в экспериментах *in vitro* и *in vivo* с MSSA штаммами был показан синергидный эффект комбинации эртапенем+цефазолин в отношении MSSA, что может служить основанием для последующего клинического исследования данной комбинации антибиотиков при MSSA бактериемии.

* University of California San Diego School of Medicine, La Jolla, California, USA

* Sharp Healthcare System, San Diego, California, USA.

Подготовлено Н. С. Бондаревой (Москва)

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

Редакция обращает внимание авторов на следующие правила и форму представления рукописей для публикации в журнале «Антибиотики и химиотерапия».

1. Рукописи статей в 2 экз. (вместе с электронной версией текста на диске) с приложением в 2 экз. иллюстраций (в отдельном конверте) направляются по адресу: **113105 Москва, ул. Нагатинская, д. 3а. Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»**. Рукопись должна иметь сопроводительное письмо, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа. Статья подписывается всеми авторами с указанием ответственного за переписку (Ф.И.О., адрес, телефон).

2. В выходных данных статьи указываются: название, инициалы, фамилии авторов, наименование учреждений, всех авторов, их должности, e-mail.

3. Статья печатается на одной стороне стандартного листа **через 1,5–2 интервала при ширине полей слева 3 см**.

4. Объём оригинальной статьи (как правило) не должен превышать 12 страниц, включая таблицы и иллюстрации, общее количество иллюстраций — не более 5. Объём обзорной статьи не должен превышать 20 страниц, а список цитируемой литературы — не более 60 названий. Объём заказанных статей устанавливается по договоренности.

5. Оригинальная статья должна включать (по порядку) следующие основные разделы: «**Резюме**» — не более 1 страницы; введение с кратким обзором литературы и постановкой цели исследования; «**Материал и методы**» — с детальным описанием объектов исследований, методических приёмов и квалификаций использованных реагентов (фирм-изготовителей); «**Результаты исследований**» и «**Обсуждение результатов**» или «**Результаты и обсуждение**», «**Заключение**» или «**Выводы**» (по пунктам); «**Литература**» — с указанием цитируемых источников.

6. Таблицы должны быть пронумерованы, **иметь название**, заголовки граф точно соответствовать их содержанию, а цифры в таблицах — цифрам в тексте.

Неообщепринятые сокращения в графах не допускаются. На каждую таблицу в тексте статьи должны быть **сноски**.

7. Иллюстрации (графики, диаграммы, формулы) должны быть чёткими, фотографии — контрастными. На обороте каждого рисунка указывается фамилия первого автора статьи, номер рисунка, обозначается верх рисунка. В тексте статьи обязательны ссылки на рисунок. Рисунки и таблицы не должны дублировать друг друга. **Подписи к рисункам делаются на отдельном листе** с указанием номера рисунка и его названия. Для графиков и диаграмм отмечается, **что дано по осям координат** на приведенных кривых и т. п.

8. В формулах должны быть чётко **размечены все элементы**: строчные (м) и прописные (М) буквы, синим подчеркнуты латинские буквы, красным — греческие (с вынесением разметки на поля), четко выделяются подстрочные и надстрочные индексы; в случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, О — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

9. **Сокращения слов, названий** (кроме общепринятых сокращений мер физических, химических, а также математических величин и терминов) **не допускаются**. Меры даются по Международной системе единиц (СИ) в русском обозначении, температура по шкале Цельсия.

10. Латинские названия микроорганизмов приводятся в соответствии с современной классификацией. При первом упоминании название микроорганизма дается полностью — род и вид (например, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces lividans*), при повторном упоминании **родовое название сокращается** до одной буквы (*E.coli*, *S.aureus*, *S.lividans*).

11. Названия генетических элементов даются в трёхбуквенном обозначении латинского алфавита строчными буквами, курсивом (*tet*), кодируемыми соответствующими генетическими элементами продукты — прописными прямыми буквами (TET).

12. В журнале используются **международные непатентованные названия** (МНН) препаратов. Торговые (патентованные) названия, под кото-

рыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся в разделе «Материал и методы», с указанием фирмы-изготовителя и их международным непатентованным названием.

13. Цитируемые источники литературы во всех видах публикаций нумеруются в порядке их упоминания в тексте и заключаются в квадратные скобки. В библиографическом описании указываются фамилия, инициалы автора, название статьи, журнала, год, том, номер журнала, номера страниц «от» и «до»; в случае монографии — фамилия и инициалы автора (редактора), название, город, год, количество страниц.

14. Статьи, ранее опубликованные или направленные в какой-либо другой журнал или сборник, не должны присылаться.

15. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.

16. Статьи, принятые в журнал, проходят рецензирование. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

17. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

кагоцел®
противовирусное средство

Работает

даже при запоздалом лечении!



Кагоцел® – выбор специалистов!¹

№1

СРЕДИ
ПРЕПАРАТОВ
ОТ ПРОСТУДЫ
И ГРИППА²

- **Кагоцел®** эффективен при приеме вплоть до четвертого дня от начала появления первых симптомов ОРВИ и гриппа.
- **Кагоцел®** быстро улучшает самочувствие и сокращает продолжительность клинических симптомов гриппа и ОРВИ вне зависимости от этиологии заболевания.
- **Кагоцел®** входит в СТАНДАРТЫ МИНЗДРАВА РФ по оказанию специализированной медицинской помощи при гриппе средней и тяжелой степени тяжести³.
- Профилактический 4-недельный курс приема **Кагоцела** способствует снижению частоты возникновения ОРВИ и гриппа в 3 раза, а также достоверно снижает число осложнений в 5 раз⁴.
- **Кагоцел®** имеет высокий профиль безопасности.

Современный противовирусный препарат для взрослых и детей с 3 лет

¹ По результатам голосования российских врачей в рамках премии «Russian Pharma Awards 2015» Кагоцел® – самый назначаемый препарат при профилактике и лечении ОРВИ и гриппа; по результатам голосования специалистов аптечной индустрии в рамках премии «Зеленый крест 2015» Кагоцел® – лучший безрецептурный препарат. ² По данным ЗАО «Группа ДСМ», Кагоцел® – самый популярный противовирусный препарат от простуды и гриппа в РФ в 2015 г., в упаковках. ³ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 9 ноября 2012 г.: № 724н, № 842н. ⁴ Лыткина И.Н., Малышев Н.А. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций среди эпидемиологически значимых групп населения // Лечащий врач. – 2010. – № 10. – С. 66–69.

Подробную информацию вы можете получить на сайте: www.kagocel.ru

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС», 125252, Москва, ул. Авиаконструктора Микояна, д. 12. Тел./факс: +7 (495) 741-49-89.
Рег. уд. Р N002027/01 от 19.11.2007.

Информация предназначена для медицинских и фармацевтических работников.

