

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 58



11-12'2013

Научно-практический журнал

ЦИКЛОФЕРОН®



- Первый российский низкомолекулярный индуктор интерферона
- Безопасность, надежность и доказанная эффективность
- Производится в соответствии с международным стандартом качества GMP

Самый быстрый индуктор интерферона

Корректор естественного иммунитета
Широкий спектр противовирусного действия

Форма выпуска:

раствор для инъекций
125 мг/мл в ампулах по 2 мл №5;
таблетки по 150 мг, покрытые
кишечнорастворимой оболочкой, № 10 (50)
линимент 5% тубы по 5 мл и 30 мл

Показания к применению:

Таблетки

(Рег№ 001049/02):
вирусные инфекции
(грипп, ОРЗ, гепатиты, герпес),
кишечные инфекции,
нейроинфекции

Инъекции

(Рег№ 001049/03):
вирусные инфекции,
заболевания передаваемые
половым путем, кишечные
инфекции, нейроинфекции

Линимент

(Рег№ 001049/01):
вагиниты, парадонтиты,
герпетическая инфекция
кожи и слизистых оболочек

Противопоказания:

беременность, период лактации,
повышенная чувствительность к
компонентам препарата,
детский возраст до 4-х лет,
декомпенсированный цирроз печени

мы создаем
УНИКАЛЬНОЕ

 ПОЛИСАН

191119, Россия, Санкт-Петербург,
Лиговский пр. д. 112.
Тел: + 7 (812) 710-82-25
E-mail: marketing@polyan.ru

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

«Antibiotics and Chemotherapy»
Published 12 times a year
Founded in 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
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка по каталогу Роспечать:

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

Подписка через объединённый каталог
«Пресса России»:

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

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

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2013

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 25.02.2014

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 58

11—12'2013

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. Клишко Н. Н.
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.
Проф., д. м. н. Никитин А. В.
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. Бежавская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

Оригинальные статьи

Блажеевский Н. Е., Карпова С. П., Кабачный В. И.
Количественное определение пенициллинов
методом йодометрии с использованием
гидрогенпероксомоносульфата калия
Кузнецова Т. А., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С.,
Смолина Т. П., Гажга А. К., Иванушко Л. А.
Сравнительное исследование иммуномодулирующей
активности пептидов — тинростима и тималина

В помощь практикующему врачу

Ло Скиаво Л. А., Гончар Н. В., Федорова М. С., Суворов А. Н.
Динамика контаминации и персистенции
Clostridium difficile в составе микробиоты кишечника
у новорождённых детей во время антибиотикотерапии
и приёма пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3
Харитонов Л. А., Исрафилова О. Е., Романцов М. Г.
Коррекция иммунного дисбаланса у детей, часто
болеющих повторными респираторными инфекциями
Кибрик Б. С., Зенченкова А. В., Терехина Л. М.,
Соснина О. Ю., Иванова Е. В.
Множественная резистентность микобактерий
к антибактериальным препаратам у впервые выявленных
больных туберкулёзом органов дыхания
Чуркина Л. Н., Бидненко С. И., Ванечутте Марио,
Авдеева Л. В., Макушенко А. С., Лютко О. Б.,
Озерянская Н. М., Перунова Н. Б.
Алгоритм идентификации атипичных форм
стафилококков (SSCVs) — возбудителей хронических
гнойно-воспалительных процессов у людей
Мишаева Н. П., Вотяков В. И., Титов Л. П.,
Нараленков В. А., Нехай М. Р., Синкевич В. В.,
Курлуков А. И., Горбунов В. А.
Новый подход к постэкспозиционному лечению
бешенства комплексом иммуно-
и химиотерапии в Беларуси

Обзоры

Никитин А. В.
Молекулярные и клеточные механизмы действия
финголимода

Рецензии

Ефременкова О. В., Терехова Л. П.
Рецензия на книгу Я. М. Галла
«Георгий Францевич Гаузе (1910—1986)»

По страницам журналов

**Указатель авторов и статей,
опубликованных в 2013 году**

Original Papers

- 3** Blazheevsky N. E., Karpova S. P., Kabachny V. I.
Quantitative Determination of Penicillins
by Iodometry Using Potassium
Hydrogen Peroxymonosulfate
8 Kuznetsova T. A., Besednova N. N., Zaporozhets T. S.,
Smolina T. P., Gazha A. K., Ivanushko L. A.
Comparative Study of Immunomodulatory Activity of Peptides,
Tinrostim and Thymalin

Guidelines for Practitioners

- 13** Lo Schiavo L. A., Gonchar N. V., Fedorova M. S., Suvorov A. N.
Dynamics of Contamination and Persistence
of *Clostridium difficile* in Intestinal Microbiota
in Newborn Infants During Antibiotic Therapy and
Use of Probiotic Strain *Enterococcus faecium* L3
19 Kharitonova L. A., Israfilova O. E., Romatsov M. G.
Correction of Immunity Dysbalance in Children
with Frequent Recurrent Respiratory Infection
23 Kibrik B. S., Zenchenkova A. V., Terekhina L. M.,
Sosnina O. Yu., Ivanova E. V.
Multiple Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis*
Isolated from New Cases of Respiratory Tract Tuberculosis
26 Churkina L. N., Bidnenko S. I., Vanechoutte M.,
Avdeeva L. V., Makushenko A. S., Lutko O. B.,
Oserjanskaja N. M., Perunova N. B.
Algorithm of Identification of Atypical Variants
of Staphylococci, Pathogens of Chronic
Pyoinflammatory Processes in Humans
31 Mishayeva N. P., Votyakov V. I., Titov L. P.,
Naralnikov V. A., Nekhay M. R., Sinkevich V. V.,
Kurlukov A. I., Gorbunov V. A.
A New Approach to Postexposure Treatment
of Rabies by Complex of Immuno-
and Chemotherapy in Belarus

Reviews

- 38** Nikitin A. V.
Molecular and Cellular Mechanisms
of Fingolimod Action

Book Reviews

- 43** Efremenkova O. V., Terekhova L. P.
Review of the book «George F. Gause (1910—1986)»
by Ya. M. Galla

Abstracts

53 **Index of Authors and Papers
Published In 2013**

* 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.

Количественное определение пенициллинов методом йодометрии с использованием гидрогенпероксомоносульфата калия

Н. Е. БЛАЖЕЕВСКИЙ, С. П. КАРПОВА, В. И. КАБАЧНЫЙ

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Quantitative Determination of Penicillins by Iodometry Using Potassium Hydrogen Peroxymonosulfate

N. E. BLAZHEEVSKY, S. P. KARPOVA, V. I. KABACHNY

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

Методом йодометрического титрования изучена кинетика и стехиометрия реакций S-окисирования полусинтетических пенициллинов (амоксциллина тригидрата, ампициллина тригидрата, натриевой соли оксациллина и динатриевой соли тикарциллина) гидрогенпероксомоносульфатом калия в водных растворах при pH 3–6: на 1 моль пенициллина расходуется 1 моль KHSO_5 , количественное взаимодействие достигается за 1 мин (время наблюдения). Разработана унифицированная методика и показана возможность количественного определения пенициллинов методом йодометрии с использованием гидрогенпероксомоносульфата калия в качестве аналитического реагента.

Ключевые слова: полусинтетические пенициллины, методы йодометрии, гидрогенпероксомоносульфат калия.

The kinetics and stoichiometry of S-oxidation of semisynthetic penicillins (amoxicillin trihydrate, ampicillin trihydrate, sodium salt of oxacillin and ticarcillin disodium salt) by potassium hydrogen peroxymonosulfate in aqueous solutions at pH 3–6 was studied by iodometric titration: 1 mol of KHSO_5 per 1 mol of penicillin, the quantitative interaction is achieved in 1 min (time of observation). A unified method was developed and the possibility of quantification of penicillins by the iodometric method using potassium hydrogen peroxymonosulfate as an analytical reagent was shown.

Key words: semisynthetic penicillins, iodometry, potassium hydrogen peroxymonosulfate.

Препараты пенициллинового ряда принадлежат к производным 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК) — конденсированной системы тиазолидинового и состоящего из четырёх звеньев азетидинового (β -лактамного) гетероциклов, которые различаются между собой радикалом R, соединённого с аминогруппой 6-АПК. Для них характерен быстрый бактерицидный эффект на этапе роста микроорганизмов и незначительные побочные эффекты на организм человека. Расщепление одного из гетероциклов приводит к полной потере активности и проявлению аллергического действия [1, 2].

Базовым методом количественного определения суммы пенициллинов в препаратах пенициллина является классический метод йодометрии продуктов гидролиза [2, 3]. Его недостатком является длительность — не менее 40 мин, а также необходимость использования стандартных образцов и жёсткой стандартизации условий опре-

деления, так как реакция взаимодействия йода с продуктами гидролиза пенициллинов не протекает строго стехиометрически: расходование йода, а следовательно, и количество вещества, которое эквивалентно 1 мл 0,01 моль/л ($f=1/2$, I_2) раствора йода, зависят от температуры [3, 4].

Сумму пенициллинов в полусинтетических пенициллинах Международная фармакопея рекомендует определять методом нейтрализации после гидролиза препаратов избытком титрованного раствора гидроксида натрия при нагревании [5]. Согласно Государственной фармакопеи Украины (ДФУ) и Европейской фармакопеи (ЕФ) количественное определение пенициллинов осуществляют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [6–8].

В научной литературе описаны методики количественного определения пенициллинов с использованием потенциометрического титрования и ионометрии [9–11], спектрофотометрии [12, 13], экстракционной фотометрии [14], вольтамперометрии [15] и полярографии [16], проточно-инжекционного анализа со спектрофотометрическим [17] и хемилюминесцентным [18]

© Коллектив авторов, 2013

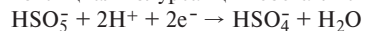
Адрес для корреспонденции: 61002 Украина, Харьков, ул. Пушкинская, 53. Национальный фармацевтический университет

детектированием, мицеллярной электрокинетической капиллярной [19] и бумажной [20] хроматографии, хемилюминесценции [21] и кинетических методов анализа [22].

Нами разработана новая унифицированная методика количественного определения лекарственных препаратов пенициллинового ряда (амоксциллина тригидрата, ампициллина тригидрата, натриевой соли оксациллина и динатриевой соли тикарциллина) методом обратного йодометрического титрования с использованием гидрогенпероксомоносульфата калия (KHSO_5) в качестве аналитического реагента.

Материал и методы

Экспериментальная часть. Как окислитель использовали гидрогенпероксомоносульфат калия в виде тройной калиевой соли $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ квалификации «extra pure» с содержанием активного кислорода 4,3 % (Acros Organics). Выбор реагента обусловлен его доступностью, достаточно хорошей растворимостью и стойкостью в растворах, а также относительно высокой окислительной способностью. Стандартный электродный потенциал полуреакции составляет 1,8 В [23].



В качестве титрантов использовали: 0,02 моль/л раствор гидрогенпероксомоносульфата калия; 0,02 моль/л раствор тиосульфата натрия, изготовленный из фиксана стандарт-титра.

Раствор йодида калия, 1%. 1,0 г йодида калия растворяют в 50 мл дистиллированной воды и объем раствора доводят до 100 мл.

Раствор серной кислоты, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1$ моль/л, приготовленный из стандарт-титра фиксана.

Объем титранта измеряли с помощью микробюретки на 10 мл с точностью $\pm 0,01$ мл.

Приготовление рабочего раствора гидрогенпероксомоносульфата калия, $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Навеску 0,615 г соли $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ растворяли в 100,0 мл дважды дистиллированной воде при $+20^\circ\text{C}$. Концентрацию раствора контролировали методом йодометрического титрования. Для этого с помощью пипетки отбирали 10 мл полученного раствора и переносили в мерную колбу на 100 мл, доводили объем до метки. Отбирали 10,00 мл полученного раствора и переносили в коническую колбу на 75 мл, добавляли при $+20^\circ\text{C}$. 1 мл 0,1 моль/л серной кислоты и 1 мл 1% раствора йодида калия при перемешивании. Выделившийся йод титровали 0,02 моль/л раствором тиосульфата натрия, измеряя объем с помощью микробюретки.

Амоксициллин (2S,5R,6R)-6-[(R)-2-амино-2(4-гидроксифенил)ацетиламино]-3,3-диметил-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота) в виде тригидрата, субстанции. Капсулы «ГРАМОКС-А» по 0,5 г производства СП «СПЕРКО Украина» (Винница, Украина), серия 081109. ОСПАМОКС таблетки амоксициллина по 500 мг, «Сандоз ГмбХ», Австрия.

Ампициллин (2S,5R,6R)-6-[(R)-2-амино-2-фенилацетиламино]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота) в виде тригидрата, субстанции производства Aurobindo Pharma Ltd, Индия (№ серии АНТ(В) 08110500, содержание основного вещества 98,8%, w (H_2O)=14,5%). Для обеспечения необходимой растворимости тригидратов использовали N,N-диметилформамид (ДМФА).

Оксациллин (3-фенил-5-метил-4-изоксазол-пенициллина моногидрат в виде натриевой соли), субстанции фармацевтической чистоты производства Aurobindo Pharma Ltd, Индия (№ серии ОСХРД 0806002, содержание основного вещества 100,0%, w (H_2O)=4,5%).

Тикарциллин (2S,5R,6R)-6-[(2S)-2-карбокси-2-(3-тинил)ацетиламино]-3,3-диметил-7-оксо-4-тиа-1-азабицикло[3.2.0]гептан-2-карбоновая кислота в виде динатриевой соли). Тиментин — лиофилизированный порошок во флаконах для приготовления инъекций тикарциллина в виде комбинированной формы с клавуланатом калия (3,0 г тикарциллина динатриевой соли и 200,0 мг клавуланата калия) производства Smith Kline Beecham (Великобритания), серии № 456661 (рис. 1).

Обработку экспериментальных данных производили с использованием табличного процессора Excel программного пакета Microsoft Office Professional 2003.

Результаты и обсуждение

Методом обратного йодометрического титрования избытка KHSO_5 установлено, что в реакции на 1 моль пенициллина расходуется 1 моль KHSO_5 , количественное взаимодействие достигается за 1 мин и сохраняется 30 мин (время наблюдения в при pH 3–6).

Схема превращений, которые положены в основу аналитического определения ампициллина и амоксициллина, представлена на рис. 2.

Методика количественного определения амоксициллина в капсулах по 500 мг. Около 200 мг (точная навес-

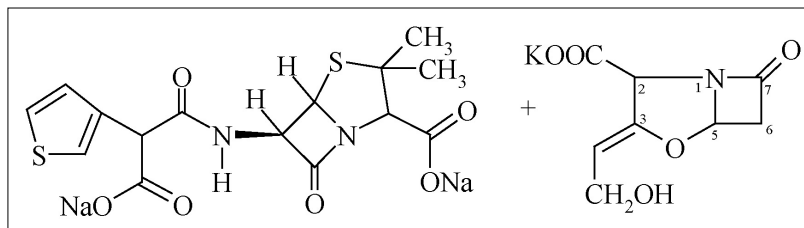


Рис. 1. Структурные формулы составляющих препарата Тиментин.

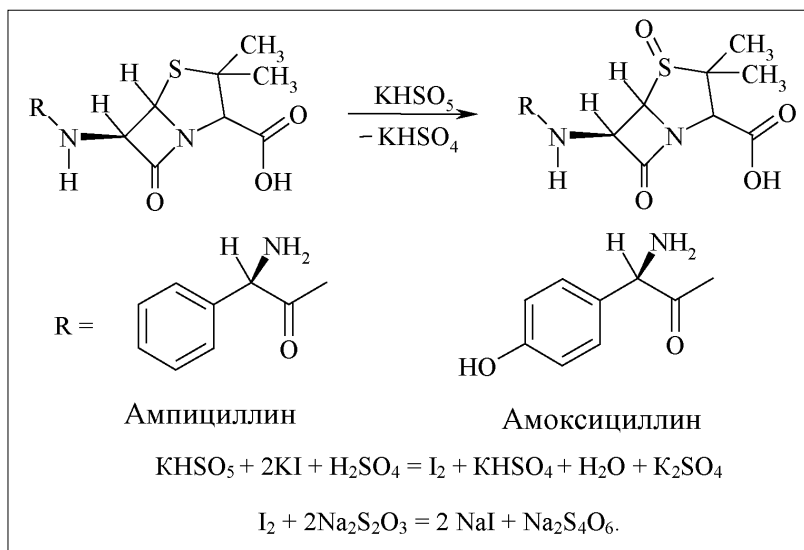


Рис. 2. Схема S-оксидирования пенициллинов гидрогенпероксомоносульфатом калия.

Таблица 1. Результаты количественного определения амоксициллина в капсулах методом йодометрического титрования с использованием гидрогенпероксиомоносульфата калия ($p=0,95$, $n=7$)

Взято амоксициллина, мг	Обнаружено		Метрологические характеристики
	мг	%	
капсулы «ГРАМОКС-А» по 0,5 г производства СП «СПЕРКО Украина» (Винница, Украина)			
496,0* (сер. 081109)	484,6	96,92	$\bar{x}=498,1$ (99,62%)
	505,6	101,12	$S=\pm 11,71$
	516,2	103,24	$S_x=\pm 4,43$
	495,1	99,02	$\Delta \bar{x}=\pm 10,84$
	495,1	99,02	$RSD=\pm 2,35\%$
	505,6	101,12	$\varepsilon=2,2\%$
	484,6	96,92	$\delta^*=+0,4\%$

Примечание. * — точное содержание амоксициллина указано в сертификате (определено по ВPh 2009 [24]).

ка) содержимого капсул растворяли в мерной колбе на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси с 8 мл ДМФА и 75 мл воды и доводили объём до метки дистиллированной водой. С помощью пипетки отбирали 10 мл полученного раствора амоксициллина и переносили в мерную колбу на 100 мл, прибавляли при перемешивании 10,00 мл 0,02 моль/л раствора $KHSO_5$ и доводили объём до метки дистиллированной водой при $+20^\circ\text{C}$. С помощью пипетки отбирали 10 мл реакционной смеси и переносили в коническую колбу на 100 мл, подкисляли 1 мл 0,1 моль/л раствором серной кислоты и при интенсивном перемешивании приливали 2 мл 1% раствора йодида калия. Выделившийся йод сразу же оттитровывали стандартным 0,02 моль/л раствором тиосульфата натрия. Параллельно в этих же условиях проводили контрольный опыт (без исследуемого препарата).

Содержание амоксициллина, в мг, в капсуле рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{0,02 \cdot K \cdot 365,41 \cdot (V_0 - V) \cdot 100 \cdot \bar{m} \cdot 100}{m_n \cdot 10 \cdot 10 \cdot 2},$$

где V_0 — объём раствора тиосульфата натрия, израсходованный в контрольном опыте, мл;

V — объём раствора тиосульфата натрия, израсходованный в рабочем опыте, мл;

365,41 — молярная масса амоксициллина (безводного), г/моль;

K — коэффициент поправки концентрации раствора тиосульфата до 0,0200 моль/л;

$\bar{m}$ — средняя масса содержимого капсулы, мг;
 m_n — масса навески, мг.

Результаты количественного определения амоксициллина в капсулах приведены в табл. 1. Относительное стандартное отклонение не превышало 2,35%.

Методика количественного определения амоксициллина в таблетках по 500 мг. Около 0,67 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток растворяли в стакане на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси с 8 мл ДМФА и 50 мл воды, фильтровали через стеклянный фильтр № 3 в мерную колбу на 100 мл, осадок промывали тремя порциями по 15 мл смеси такого же состава и доводили объём до метки дистиллированной водой. Далее поступали аналогично как в методике количественного определения амоксициллина в капсулах.

Содержание амоксициллина в одной таблетке в мг, рассчитывали по такой же формуле, как при определении амоксициллина в капсулах, где

$\bar{m}$ — средняя масса таблетки, г; m_n — масса навески, г.

Результаты количественного определения амоксициллина в таблетках приведены в таблице 2. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,8%. Методика пригодна для определения однородности массы в единице дозированного средства.

Методика количественного определения ампициллина тригидрата в субстанции. Около 0,45 г

Таблица 2. Результаты количественного определения амоксициллина в таблетках по 0,5 г методом йодометрического титрования с использованием гидрогенпероксиомоносульфата калия ($p=0,95$, $n=7$)

Взято амоксициллина, мг	Обнаружено		Метрологические характеристики
	мг	%	
ОСПАМОКС таблетки амоксициллина по 500 мг, «Сандоз ГмбХ», Австрия			
492,0* (сер. 158399)	485,4	97,08	$\bar{x}=497,1$ (99,41%)
(475...525 мг/табл.)	500,6	100,12	$S=\pm 9,12$
	511,2	102,24	$S_x=\pm 3,45$
	492,2	98,44	$\Delta \bar{x}=\pm 8,45$
	495,1	99,02	$RSD=\pm 1,8\%$
	505,3	101,06	$\varepsilon=1,7\%$
	489,6	97,92	$\delta^*=+1,0\%$

Примечание. * — точное содержание амоксициллина в одной таблетке указано в сертификате (определено по ВPh 2009 [24]).

Таблица 3. Результаты количественного определения основного вещества в субстанции ампициллина тригидрата по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=5$)

Взято ампициллина, г	Обнаружено, %	Метрологические характеристики
Порошок ампициллина тригидрата (субстанция), Aurobindo Pharma Ltd, Индия		
0,4336* (сер. АНТ(В) 08110500)	97,82	$\bar{x}=99,40\%$
	99,79	$S=\pm 1,51$
	98,80	$S_x=\pm 0,68$
	99,80	$\Delta\bar{x}=\pm 1,88$
	101,81	$RSD=\pm 1,5\%$
		$\varepsilon=1,9\%$
		$\delta^*=\pm 0,6\%$

Примечание. * — точное содержание ампициллина указано в сертификате качества (определено по BPh 2009 [24]).

Таблица 4. Результаты количественного определения основного вещества в субстанции оксациллина по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=5$)

Взято оксациллина, г	Обнаружено, %	Метрологические характеристики
Оксациллина натриевая соль, порошок (субстанция), Aurobindo Pharma Ltd, Индия		
0,4432 * (сер. ОСХ PD0806002)	99,01	$\bar{x}=100,40\%$
	101,00	$S=\pm 1,20$
	102,02	$S_x=\pm 0,54$
	99,01	$\Delta\bar{x}=\pm 1,49$
	101,00	$RSD=\pm 1,2\%$
		$\varepsilon=1,5\%$
		$\delta^*=\pm 0,4\%$

Примечание. * — точное содержание оксациллина указано в сертификате качества (определено по BPh 2009 [24]).

(точная навеска) порошка субстанции ампициллина растворяли в мерной колбе на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси с 8 мл ДМФА и 75 мл воды и доводили объём до метки дистиллированной водой при +20°C. Далее поступали так же, как в методике количественного определения амоксициллина в капсулах.

Содержание основного вещества в субстанции ампициллина тригидрата, X , в %, рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{0,02 \cdot K \cdot 349,40 \cdot (V_0 - V) \cdot 100 \cdot 100\%}{2 \cdot 1000 \cdot m_n \cdot (100 - w_{H_2O})},$$

где V_0 — объём раствора тиосульфата натрия, израсходованный в контрольном опыте, мл;

V — объём раствора тиосульфата натрия, израсходованный в рабочем опыте, мл;

349,40 — молярная масса ампициллина (безводного), г/моль;

K — коэффициент поправки концентрации раствора тиосульфата натрия до 0,0200 моль/л;

m_n — масса навески, г;

w_{H_2O} — содержание воды, % (масс.).

Относительное стандартное отклонение не превышало 1,5% ($\delta=\pm 0,6\%$), ($p=0,95$, $n=5$). Данная методика позволяет осуществлять определение содержания вещества в субстанции (контроль чистоты) препарата без использования стандартных образцов. Результаты анализа ампициллина тригидрата по разработанной методике представлены в табл. 3.

Методика количественного определения оксациллина. Около 0,45 г (точная навеска) субстан-

ции оксациллина растворяли в мерной колбе на 100 мл дистиллированной водой при +20°C. Далее действовали аналогично методике количественного определения амоксициллина.

Содержание основного вещества в субстанции оксациллина рассчитывали по такой же формуле, как при анализе субстанции ампициллина тригидрата, используя в расчётах молярную массу оксациллина (безводного), равную 423,43 г/моль;

Относительное стандартное отклонение не превышало 1,2% ($\delta=\pm 0,4\%$), ($p=0,95$, $n=5$). Данная методика позволяет осуществлять определение содержания вещества в субстанции (контроль чистоты) препарата без использования стандартных образцов. Результаты анализа оксациллина разработанной методикой представлены в таблице 4.

Методика количественного определения тикарциллина в препарате Тиментин™. Около 0,5 г (точная навеска) предварительно высушенного на протяжении 30 мин в вакууме порошка, содержащегося во флаконе, растворяли в мерной колбе на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси с 8 мл ДМФА и 75 мл воды и доводили объём до метки дистиллированной водой при +20°C. Далее действовали аналогично методике количественного определения амоксициллина.

Содержание тикарциллина в пересчёте на кислотную форму в граммах в одном флаконе, X , рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{0,02 \cdot K \cdot 384,43 \cdot (V_0 - V) \cdot 100 \cdot \bar{m} \cdot 100}{m_n \cdot 10 \cdot 10 \cdot 2 \cdot 1000},$$

Таблица 5. Результаты количественного определения тикарциллина в препарате Тиментин по реакции с гидрогенпероксидом сульфатом калия ($p=0,95$, $n=5$)

Взято тикарциллина, г	Обнаружено		Метрологические характеристики
	мг	%	
Тиментин® Smith Kline Beecham (Великобритания)			
3,001*(серия № 456661.)	3,0160	100,5	$\bar{x}$ =2,9979 (99,93%)
	3,0763	102,54	S =±0,0051
	2,9557	98,52	S_x =±0,0226
	2,9858	99,53	$\Delta\bar{x}$ =±0,0627
	2,9557	989,52	RSD =±1,7%
			ε =2,1%
		δ^* =−0.1 %	

Примечание. * – точное содержание тикарциллина, указанное в сертификате Glaxo Smith Kline. Определено по ВРФ 2009 [24].

где 384,43 — молярная масса тикарциллина (кислота), г/моль; все остальные обозначения такие же, как при анализе препаратов амоксициллина.

Результаты анализа препарата Тиментин™ приведены в таблице 5. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,7% ($\delta=+0,4\%$).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Машиковский М.Д.* Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2010; 1216.
2. *Туркевич М., Владимирская О., Лесик Р.* Стероидные гормоны, их синтетические заместители и гетероциклические вещества как лекарственные средства. Фармацевтическая химия. Винница, Новая книга, 2003; 464.
3. *Арзамасцев А.П.* Фармацевтическая химия. М.: ИЭОТАР. МЕД. 2004; 176.
4. Государственная Фармакопея СССР. 10-е изд. М.: Медицина, 1968; 1079.
5. *Рачков С.М.* Международная фармакопея. Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов. М.: Медицина, 1990; 3: 435.
6. Государственная фармакопея Украины. Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр». 1-е изд. Дополнения 2. Харьков.: РИРЕГ, 2008; 357.
7. Государственная фармакопея Украины. Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных препаратов». 1-е изд. Дополнения 4. Харьков.: РИРЕГ, 2011; 367.
8. European Pharmacopoeia. 5th Ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. 2005; 2781.
9. *Демская Е.В., Алексеев В.Г.* Весник ТвГУ. 2005; 2: Химия: 8: 177.
10. *Харитонов С.В.* Успехи химии. 2007; 76: 4: 398.
11. *Шведене Н.В., Боровская С.В.* Журн аналит химии 2003; 58: 11: 1208.
12. *Красникова А.В., Иозел Л.А.* Хим.-фарм журн 2003; 37: 9: 49.
13. *Belal F., El-Kerdaw M., El-Ashry S.M.* Farmaco 2000; 55: 680.
14. *Геохчан Н.О.* Мед наука Армении НАН РА 2011; 2: 87.
15. *Zeng J., Tao F.* Chin J Appl Chem 2005; 22: 6: 195.
16. *Блажеевский Н.Е.* Укр хим журн 2005; 71: 10: 90.
17. *Al-Abachi M.Q., Hadi H.* Iraqi J Sci 2009; 50: 1: 8.
18. *Chivulecku A.I., Badea Doni M.B., Cheregi M.-C., Danet A.F.* Rev Roum Chim 2011; 56: 3: 247.
19. *Injac R., Kočevan N., Štrukelj B.* Croat Chem Acta 2009; 82: 3: 685.
20. *Алексеев В.Г., Нерсесова А.Ф., Халупина Я.М.* Журн прикл химии 2005; 78: 4: 613.
21. *Ricard I.S., Anton-Fos G.M., Duart M.J., Garcia Mateo J.V., Zamora L., Martinez Catalayund J.* Talanta 2007; 72: 378.
22. *Лапшин С.В., Шляхова Ю.Н., Алексеев В.Г.* Весник ТвГУ 2008; 8: Химия: 6: 78.
23. *Spiro M.* Electrochem Acta 1979; 24: 313.
24. British Pharmacopoeia. V. 1—4. London: The Stationary Office. 2009; 10952.

Сравнительное исследование иммуномодулирующей активности пептидов — тинростима и тималина

Т. А. КУЗНЕЦОВА, Н. Н. БЕСЕДНОВА, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ, Т. П. СМОЛИНА, А. К. ГАЖА, Л. А. ИВАНУШКО

Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова СО РАМН, Владивосток

Comparative Study of Immunomodulatory Activity of Peptides, Tinrostim and Thymalin

T. A. KUZNETSOVA, N. N. BESEDNOVA, T. S. ZAPOROZHETS, T. P. SMOLINA, A. K. GAZHA, L. A. IVANUSHKO

G. P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, Vladivostok

Проведено сравнительное исследование иммуномодулирующей активности пептидных препаратов: тинростима (лекарственной формы), полученного из оптических ганглиев кальмара, и фармакопейного — тималина. Выявлено стимулирующее влияние тинростима при парентеральном введении животным на гуморальный и клеточный иммунный ответ, а также на фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов, сопоставимое по эффекту с тималином. Установлено, что оба пептидных препарата усиливали продукцию про- (TNF α , IL-1) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов в культуре интактных клеток периферической крови. Существенно, что при введении тинростима в 10-кратно различающихся дозах (0,005 мг/кг и 0,05 мг/кг) эффект меньшей дозы был сопоставим с эффектом большей дозы.

Ключевые слова: полипептиды, иммуномодуляторы, гуморальный и клеточный иммунный ответ, нейтрофильные лейкоциты, цитокины.

The immunomodulatory activity of peptide drugs: i.e. tinrostim (dosage form) prepared of squid optical ganglia and pharmacopoeia thymalin was studied. Tinrostim showed a stimulating effect on the humoral and cellular immune responses when administered parenterally in experimental animals, as well as on the phagocytic activity of neutrophils, comparable to the effect of thymalin. It was demonstrated that both the peptide drugs increased the production of pro- (TNF α , IL-1) and antiinflammatory (IL-10) cytokines in the culture of intact cells of peripheral blood *in vitro*. It is essential that when tinrostim was used in 10-fold different doses (0.005 mg / kg and 0.05 mg / kg) in mice, the effect of the lower dose was comparable to the effect of the higher dose.

Key words: polypeptides, immunomodulators, humoral and cellular immune responses, neutrophilic leukocytes, cytokines.

Исследование и внедрение в клиническую практику препаратов на основе иммунорегуляторных пептидов является актуальной проблемой, обусловленной необходимостью коррекции иммунодефицитных состояний, сопровождающих большинство заболеваний. К иммунорегуляторным пептидам относятся низкомолекулярные препараты, полученные на основе экстрактов из различных органов или тканей животных и, в первую очередь, из тимуса, селезёнки, костного мозга [1—3].

Регуляторные пептиды обладают полифункциональностью действия, т. е. способностью вызывать разнообразные по характеру и месту проявления физиологические ответы, действовать практически на все функции организма. Основными преимуществами низкомолекулярных пептидов являются быстрый ответ организма на их введение, высокая активность и отсутствие по-

бочных эффектов. Кроме того, иммунорегуляторные пептиды характеризуются тканеспецифичностью и отсутствием видоспецифичности и иммуногенности [3—6].

В последние годы число выявленных и идентифицированных иммунорегуляторных пептидов быстро увеличивается. Подробное изучение их физико-химических свойств, структуры и спектра биологической активности даёт возможность создания синтетических аналогов на основе природных биополимеров. Широкой известностью в экспериментальной и клинической практике пользуются такие пептидные препараты, как тималин, тимоген, тимозин, тимостимулин, тимоптин, Т-активин и их синтетические аналоги (тимозин альфа, тимоген, тимуноксин др.).

В клиниках России достаточно широко используется тималин — полипептид из тимуса телёнка, содержащий 38 аминокислотных остатков, и проявляющий широкий спектр фармакологической активности. Препарат способствует восстановлению иммунологической реактивности организма, гемопоэза, гомеостаза, нейроэндокринной

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции: 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1.
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова

регуляции и применяется для лечения острых и хронических инфекционных заболеваний, гнойных осложнений хирургических вмешательств, ожогов, невынашивания беременности, гестоза, болезни Альцгеймера, ишемической болезни сердца, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки и других патологических состояний [2, 7–9].

Совместными усилиями дальневосточных учёных получены новые эффективные оригинальные пептиды из морских беспозвоночных и рыб, в частности, тинростим из нервной ткани дальневосточных видов кальмаров. Проведены широкие экспериментальные исследования тинростима. На его основе получена биологически активная добавка к пище «Тинростим-С», разрешенная МЗ РФ к производству, реализации и применению на территории Российской Федерации в качестве иммунокорректора [10, 11], в стадии разработки находится лекарственная форма тинростима.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение иммуномодулирующей активности лекарственной формы тинростима и фармакопейного препарата тималина.

Материал и методы

Объекты исследования — лекарственная форма тинростима (тинростим) и фармакопейный препарат тималин («Самсон-Мед» ООО, Россия). Исследование тинростима проводили в сравнительном аспекте с тималином в соответствии с методическими рекомендациями [12].

Тинростим — комплекс пептидов, полученных из оптических ганглиев кальмаров промысловых видов. Препарат выделен путём экстракции водорастворимых пептидов в слабощелочных растворах с последующим извлечением их с использованием ступенчатой ультрафильтрации, позволяющей разделять и концентрировать пептидные компоненты в зависимости от их молекулярной массы. Тинростим состоит на 84% из низкомолекулярных пептидов с м. м. от 1 до 12,5 кДа и на 16% — из свободных аминокислот, представленных, в основном, аспарагиновой и глутаминовой кислотами и лизином, около 10 % составляет таурин [13]. Экспериментальная партия лекарственной формы тинростима предоставлена ФГУП Тихоокеанским рыбохозяйственным научным центром, произведена в ФГБУ «Пермский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток».

В экспериментах *in vivo* дозы препаратов составили 0,05 мг/кг и 0,005 мг/кг при условии однократного подкожного или внутрибрюшинного введения мышам за сутки до исследования, в экспериментах *in vitro* — 0,1 мкг/мл и 10 мкг/мл.

Экспериментальные исследования по оценке влияния тинростима и тималина на гуморальный иммунный ответ (уровень антителообразующих клеток в селезёнке (АОК) к эритроцитам барана и титров сывороточных антител гемоглобулинов (ГА) и гемолизинов (ГЛ), реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) проведены на мышах линии (СВАхС57В1/6)F₁, на фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов (НФ) — на неинбредных белых мышах-самцах массой 18–20 г. Работа выполнена с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах. Выведение животных из опыта осуществляли с использованием эфирного наркоза.

Влияние препаратов на пролиферативную активность лимфоцитов и на продукцию цитокинов изучали с использованием крови здоровых доноров. Пролиферативную активность лимфоцитов исследовали при помощи метода ДНК-цитометрии [14]. Количество клеток, находящихся в S/G2 M фазах клеточного цикла, определяли с помощью проточного цитофлуориметра (FACS Calibur «Becton Dickinson») и программного обеспечения CellQuest. Концентрацию цитокинов в супернатантах лимфоцитов периферической крови человека, преинкубированных с тинростимом или тималином, определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ООО «Цитокин» (Россия) в соответствии с прилагаемой к наборам инструкцией.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-7».

Результаты и обсуждение

При изучении гуморального иммунного ответа установлено, что парентеральное введение тинростима и тималина в дозе 0,05 мг/кг мышам (СВАхС57В1/6)F₁ оказывало умеренное стимулирующее влияние на процесс антителообразования, что выражалось в статистически значимом по сравнению с контролем увеличении числа АОК в селезёнке и титров антител (ГА и ГЛ) в сыворотке крови. Следует отметить, что в индуктивную фазу стимулирующее влияние тинростима на процесс антителообразования было более выражено по сравнению с таковым у тималина как по числу АОК в селезёнке ($p=0,048$), так и титрам ГА ($p=0,038$). Так, индекс стимуляции антителообразования под влиянием тинростима составил 2,1, под влиянием тималина — 1,4. При введении тинростима в продуктивную фазу стимулирующий эффект на гуморальный иммунный ответ был сопоставим с таковым у тималина (табл. 1).

Исследовано действие тинростима и тималина (концентрация обоих препаратов состави-

Таблица 1. Влияние тинростима и тималина на гуморальные факторы иммунитета мышей (СВАхС57В1/6)F₁

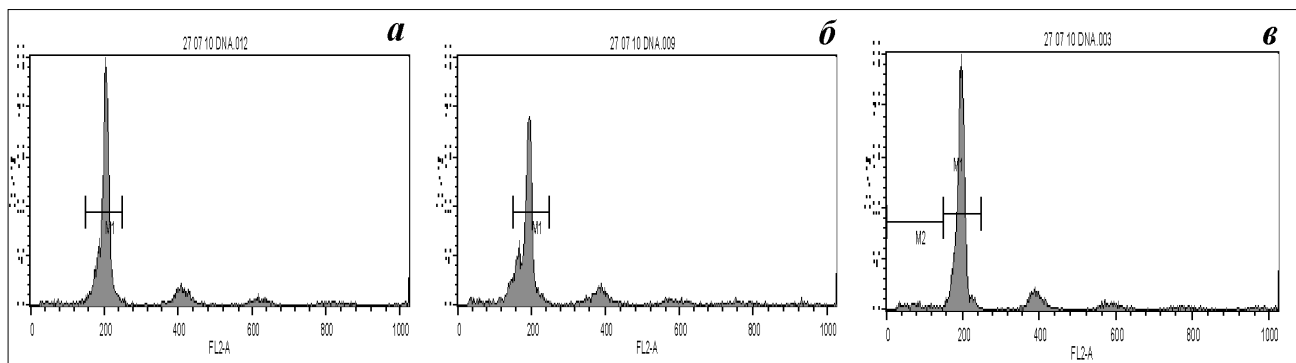
Условия введения	Тинростим			Тималин		
	АОК на селезёнку	ГА (log ₂)	ГЛ (log ₂)	АОК на селезёнку	ГА (log ₂)	ГЛ (log ₂)
Индуктивная фаза	97981±4562	9,33±0,21	8,67±0,33	65679±4217	8,25±0,52	7,5±0,5
<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,001	0,045	0,013
Продуктивная фаза	87897±8083	8,67±0,42	8,5±0,22	94908±8179	8,67±0,49	8,33±0,33
<i>p</i>	0,000	0,002	0,000	0,000	0,003	0,000
Контроль	47271±2652	6,8±0,29	5,8±0,36	47271±2652	6,8±0,29	5,8±0,36

Примечание. Показатели $M \pm m$; *p* — значимость различий по сравнению с контролем; в контрольной группе $n=10$, в опытных группах $n=7$.

Таблица 2. Продукция цитокинов в культуре клеток периферической крови доноров под влиянием тинростима и тималина *in vitro*

Цитокины	Уровень цитокинов в культуре интактных клеток, пг/мл		
	Тинростим	Тималин	Контроль
IL-1 β	1007,3 $\pm$ 401,3	630,5 $\pm$ 387,0	345,7 $\pm$ 206,5
<i>p</i>	0,01	0,034	
TNF α	288,7 $\pm$ 258,5	209,4 $\pm$ 208,1	30,5 $\pm$ 27,3
<i>p</i>	0,035	0,041	
IL-10	569,7 $\pm$ 253,3	403,1 $\pm$ 224,2	82,5 $\pm$ 40,1
<i>p</i>	0,045	0,015	

Примечание. $Me \pm SD$ — медиана $\pm$ среднее квадратичное отклонение; *p* — значимость различий показателей по сравнению с контролем; *n*=6.



Гистограммы, иллюстрирующие влияние тинростима и тималина на пролиферативную активность лимфоцитов крови человека (количество клеток, находящихся в S/G2 M фазах клеточного цикла).

По осям абсцисс — интенсивность флуоресценции клеток (в усл. ед.); по осям ординат — число событий с данным уровнем флуоресценции. Клетки окрашены раствором иодида пропидия в условиях, нарушающих целостность их мембраны. а — тинростим (0,1 мкг/мл); б — тималин (0,1 мкг/мл); в — контроль.

ла 0,1 мкг/мл) на продукцию про- (TNF α , IL-1 β) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов (в системе *in vitro*). Было установлено значительное (7—9-кратное) стимулирующее влияние препаратов на продукцию TNF α ($p=0,035$ и $p=0,041$ соответственно). В меньшей степени проявлялось стимулирующее действие тинростима и тималина на продукцию IL-1 β (увеличение в 2,9 раза, $p=0,01$, и в 1,8 раза, $p=0,034$, соответственно). В отношении IL-10 как тинростим, так и тималин вызывали умеренное (5—6-кратное) по отношению к контролю возрастание продукции этого цитокина ($p=0,045$ и $p=0,015$ соответственно) (табл. 2).

Влияние препаратов на клеточный иммунитет оценивали в двух модельных системах: *in vitro* — по пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови путём определения количества клеток, находящихся в S/G2 M фазах клеточного цикла, и *in vivo* — в реакции ГЗТ.

При оценке влияния тинростима на пролиферативную активность лимфоцитов установлено, что препарат в исследуемых концентрациях не оказывал статистически значимого эффекта: количество лимфоцитов в S/G2 M-фазе клеточного цикла под его влиянием в концентрациях 0,1 мкг/мл и 10 мкг/мл составило 14,4 $\pm$ 3,8% и 15,67 $\pm$ 4,1% соответственно при 14,6 $\pm$ 3,2% в кон-

троле ($p>0,05$). Показатели, отражающие эффект тималина, были аналогичны: количество лимфоцитов в S/G2 M-фазе клеточного цикла под влиянием тималина в концентрациях 0,1 мкг/мл и 10 мкг/мл составило 17,7 $\pm$ 4,4% и 14,69 $\pm$ 3,2% соответственно ($p>0,05$). В качестве примера приведены гистограммы ДНК-цитометрии лимфоцитов периферической крови донора X (рисунок).

Оценка результатов реакции ГЗТ показала, что введение тинростима и тималина в дозе 0,05 мг/кг на стадии сенсibilизации мышей (СВАхС57Bl/6)F₁ не оказывало влияния на интенсивность этой реакции, о чем свидетельствует показатель процента прироста массы лапки, статистически не отличающийся от контрольного. Введение животным препаратов на стадии разрешения реакции ГЗТ приводило к увеличению её интенсивности ($p=0,05$). Статистически значимых различий в эффектах тинростима и тималина на интенсивность реакции ГЗТ при введении препаратов как в стадию сенсibilизации, так и разрешения не было выявлено (табл. 3).

Исследование фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов показало, что при введении мышам тинростима как дозе 0,05 мг/кг, так и в дозе 0,005 мг/кг наблюдалось статистически значимое по сравнению с контролем увеличение фагоцитарного показателя (ФП) и фагоцитарно-

Таблица 3. Влияние тинростима и тималина на клеточные факторы иммунитета мышей (СВАхС57BL/6) F_1 по реакции гиперчувствительности замедленного типа

Условия введения (доза, фаза ответа)	Тинростим		Тималин	
	стадия сенсibilизации, %	стадия разрешения, %	стадия сенсibilизации, %	стадия разрешения, %
Опыт	40,4±3,2	50,6±2,5	41,5±3,8	46,1±2,9
Контроль	34,4±1,2	34,4±1,2	34,4±1,2	34,4±1,2
<i>p</i>	0,105	0,05	0,09	0,05

Примечание. Показатели $M \pm m$; *p* – значимость различий по сравнению с контролем; в контрольной группе $n=10$, в опытных группах $n=7$.

Таблица 4. Влияние тинростима и тималина на фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов перитонеального экссудата мышей

Показатель	Контроль	Тинростим		Тималин	
		0,005 мг/кг	0,05 мг/кг	0,005 мг/кг	0,05 мг/кг
ФП, %	56,67±2,2	75,67±3,55	72,6±0,87	77,75±3,9	75,60±2,6
<i>p</i>		0,001	0,000	0,01	0,006
ФЧ, усл. ед.	1,56±0,12	2,21±0,21	2,57±0,24	2,98±0,40	2,71±0,30
<i>p</i>		0,022	0,003	0,005	0,004

Примечание. Показатели $M \pm m$; *p* – значимость различий по сравнению с контролем; $n=7$.

го числа (ФЧ). Статистически значимых различий по показателям фагоцитарной активности под действием тинростима в 10-кратно различающихся дозах (0,05 мг/кг и 0,005 мг/кг) не выявлено ($p>0,05$). Тималин стимулировал показатели фагоцитоза в той же степени, что и тинростим (табл. 4).

Таким образом, лекарственная форма тинростима при парентеральном введении оказывает влияние на факторы врождённого и адаптивного иммунитета, стимулируя показатели гуморального и клеточного иммунного ответа, фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов, а в системе *in vitro* усиливает продукцию про- и противовоспалительных цитокинов. Стимулирующее действие тинростима на исследуемые показатели иммунного ответа было сопоставимо по эффекту с фармакопейным препаратом тималином.

Анализируя полученные результаты, особо следует остановиться на «рабочих» дозах этих препаратов. Согласно полученным нами ранее данным [15, 16], а также представленных выше результатов, эффективная доза тинростима для парентерального введения животным составляет 0,005–0,05 мг/кг. Следует отметить, что при введении тинростима в 10-кратно различающихся дозах (0,005 мг/кг и 0,05 мг/кг) эффект меньшей дозы был сопоставим с эффектом большей дозы. Исходя из этого, производили расчёт дозировки тинростима при конструировании БАД к пище «Тинростим-С», применение которой «*per os*» в комплексе с базисной терапией при различных соматических и инфекционных заболеваниях давало выраженный клинико-иммунологический эффект [17, 18]. Следует ожидать, что получение лекарственной формы тинростима для паренте-

рального введения приведёт к усилению эффективности действия этого препарата.

Что касается тималина, то рекомендованная для клинического применения доза составляет 10–20 мг на 70 кг или 0,1–0,3 мг/кг. В то же время, по данным В. Ф. Каменева, Ю. И. Журавлёва [19], только применение высоких доз тималина (50 мг на протяжении 4–5 дней) обеспечивало положительную динамику показателей иммунитета и гемостаза при ишемической болезни сердца или кардиальных проявлениях атеросклероза, тогда как низкие и средние дозы этого препарата (до 10 мг) в течение 10 дней не обеспечивали положительной динамики в течении этих заболеваний и не вызывали существенных изменений в иммунной и фибринолитической системах.

Кроме того, неоспоримым преимуществом тинростима, выделенного из нервной ткани кальмара, является отсутствие в его составе животного белка, а следовательно, и риска прионовой контаминации. В этой связи необходимо отметить, что тималин получен из природного сырья животного происхождения, которое может нести в себе опасность контаминации прионами, инфекционными агентами, протоонкогенами или нуклеиновыми кислотами. Для обеспечения максимальной защиты препарата от присутствия инфекционных агентов и ряда других потенциально опасных веществ требуется строгое соблюдение технологии производства тималина с использованием специальных методов экстракции и очистки, которые приводят к полной деградации крупномолекулярных белков и других веществ с сохранением в субстанции, используемой для производства препаратов, только пептидов с молекулярной массой, не превышающей 10 кДа [19].

Заключение

Тинростим (лекарственная форма) при перитонеальном введении экспериментальным животным оказывает стимулирующее влияние

на клеточные и гуморальные факторы врожденного и адаптивного иммунитета, сопоставимое по эффекту с фармакопейным препаратом тималином.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М.* Иммуноактивные пептиды из гидробионтов и наземных животных. Владивосток: ТИНРО-центр. 2004. 248.
2. *Бабиев Г.* Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине. М.: 2009; 228.
3. *Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В.* Пептидные тимомиметики. СПб.: Наука, 2000; 158.
4. *Хавинсон В.Х., Кветная Т.В.* Регуляторные пептиды и гомеостаз. Рос хим журн 2005; XLIX: 1: 112—117.
5. *Цепелев В.Л.* Механизмы действия регуляторных пептидов при иммунодефицитных состояниях и воспалении: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Чита, 2003; 41.
6. *Левицкая Н.Г., Каменский Л.П.* Регуляторные пептиды. Природа. 2003; 10; 20—27.
7. *Бондаренко Ф.Л.* Тималин в комплексной терапии больных гепатитом В. Иммунология 2001; 2: 42—45.
8. *Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х.* Цитомедины. СПб.: 1998; 305.
9. *Хавинсон В.Х., Морозов В.Г.* Геропротекторная эффективность тималина и эпителина. Успехи геронтологии. 2002; 10: 74—84.
10. *Акулин В.Н., Блинов Ю.Г., Эпштейн Л.М. и др.* Патент № 2105504, Российская Федерация. Пищевая биологически активная добавка «Тинростим-С». Заявитель и патентообладатель Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр (ТИНРО-центр), № 96111534/13; 1996.06.05. 1998; 02. 27: 6.
11. Свидетельство о государственной регистрации RU 77.99.11.003.Е. 051620.11.11 от 29.11.2011.
12. *Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Латышева Т.В.* Методические указания по испытанию новых иммуномодулирующих лекарственных средств. Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. 2002; 1: 32.
13. *Эпштейн Л.М., Боровская Г.А., Ковалев Н.Н. и др.* Патент № 2222337, Российская Федерация. Способ получения иммуностимулятора. Заявитель и патентообладатель Тихоокеанский рыбохозяйственный научный центр (ТИНРО-центр) — № 2002117863/13; 2004.07.03; 2004.01.27: 3.
14. *Jayat C., Ratinaud M.H.* Cell cycle analysis by flow cytometry: principles and applications. Biol Cell 1993; 78: 1—2: 15—25.
15. *Гажва А.К.* Иммуноактивный пептид из оптических ганглиев кальмара: Дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 1994; 124.
16. *Запорожец Т.С.* Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов: Дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2006; 350.
17. *Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.М.* Биологически активная добавка к пище тинростим (в помощь практическому врачу). Владивосток: ТИНРО-центр. 2003; 47.
18. *Кузнецова Т.А., Киняйкин М.Ф., Суханова Г.И., Беседнова Н.Н.* Применение тинростима для коррекции нарушений иммунитета и гемостаза в комплексном лечении пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких. Пульмонология. 2010; 1: 106—109.
19. *Каменев В.Ф., Журавлёв Ю.И.* Оценка эффективности лечения больных ишемической болезнью сердца высокими дозами тималина. Фундаментальные исследования. 2009; 4: 42—45.

Динамика контаминации и персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника у новорождённых детей во время антибиотикотерапии и приёма пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3

Л. А. ЛО СКИАВО¹, Н. В. ГОНЧАР², М. С. ФЕДОРОВА¹, А. Н. СУВОРОВ³

¹ Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург

³ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Dynamics of Contamination and Persistence of *Clostridium difficile* in Intestinal Microbiota in Newborn Infants During Antibiotic Therapy and Use of Probiotic Strain *Enterococcus faecium* L3

L. A. LO SCHIAVO, N. V. GONCHAR, M. S. FEDOROVA, A. N. SUVOROV

Children's Municipal Hospital No. 1, St. Petersburg

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg

Research Institute of Experimental Medicine, North-Western Branch of Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg

В условиях стационара наблюдали 94 пациента, из них 39 доношенных новорождённых детей и 55 недоношенных новорождённых детей с очень низкой массой тела. Антибиотики получало большинство наблюдаемых пациентов: доношенные дети получали пенициллины, аминогликозиды, цефалоспорины, недоношенные дети, кроме пенициллинов, аминогликозидов, цефалоспоринов, получали карбапенемы, фторхинолоны, гликопептиды. Доношенные дети были рандомизированы на 2 группы: группа сравнения ($n=18$) получала стандартную терапию; основная группа ($n=21$) дополнительно к стандартной терапии получала жидкий пробиотик *Enterococcus faecium* L3 (с титром 5×10^8 КОЕ/мл) по 1 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Недоношенные дети также были рандомизированы на 2 группы. Группа сравнения ($n=26$) получала стандартную терапию. Основная группа ($n=29$) дополнительно получала внутрь жидкий пробиотик *E. faecium* L3 по 0,5 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Эффективность терапии у доношенных новорождённых оценивали по частоте предупреждения диспептических расстройств; у недоношенных детей — по частоте манифестации инфекционных осложнений и частоте эпизодов пищевой непереносимости. Микробиоту кишечника детей изучали методами ПЦР в реальном времени и бактериологического исследования фекалий: у доношенных детей при поступлении в стационар и через 10 дней лечения (периоды 1—2), у недоношенных детей при поступлении в стационар, затем двукратно с интервалом 14 дней (периоды 1—2—3). Установлено, что использование пробиотического штамма *E. faecium* L3 на фоне антибиотикотерапии у недоношенных детей способствует достоверному снижению частоты инфекционных осложнений; у доношенных новорождённых уменьшает риск развития диспептических расстройств. Проведённые исследования выявили снижение персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника новорождённых детей, получающих антибиотикотерапию в сочетании с пробиотиком *E. faecium* L3, что сопровождалось сохранением и нарастанием бифидо- и лактофлоры и снижением количества условно-патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: доношенные и недоношенные новорождённые дети, инфекционные осложнения, антибиотикотерапия, микробиота кишечника, *Clostridium difficile*, пробиотики, *Enterococcus faecium*.

Ninety four infants were observed as inpatients. Thirty nine of them were mature neonates and 55 were premature infants with a very low body weight. The majority of the patients were treated with antibiotics. The mature infants were treated with penicillins, aminoglycosides, cephalosporins and the premature neonates were treated in addition with carbapenems, fluoroquinolones, glycopeptides. The mature infants were randomized into 2 groups: the control group ($n=18$) received the standard therapy and the main group ($n=21$) in addition received 1 ml of liquid probiotic *Enterococcus faecium* L3 (with a titer of 5×10^8 CFU/ml) 2 times a day for 10 days. The premature newborn infants were also randomized into 2 groups. The control group ($n=26$) received the standard therapy. The main group ($n=29$) additionally received 1 ml of liquid probiotic *E. faecium* L3 2 times a day for 10 days. The effectiveness of the therapy in the mature neonates was evaluated by the frequency of dyspeptic disorders and in the premature infants by the frequency of infectious complications and the episodes of food intolerance. The intestinal microbiota of the infants was investigated by the real-time PCR and bacteriological analyses of the feces: in the mature infants on admission to the hospital and 10 days after the treatment (periods 1—2), in the premature infants on admission to the hospital and then twice with an interval of 14 days (periods 1—2—3). It was shown that the use of the probiotic strain *E. faecium* L3 during the antibiotic therapy in the premature infants promoted significant reduction in the frequency of infectious complications. In the mature neonates the probiotic therapy reduced the risk of dyspeptic disorders. The studies showed reduction in persistence of

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции:

E-mail: nvgonchar@yandex.ru

Введение

В настоящее время *Clostridium difficile* является наиболее часто выделяемым возбудителем антибиотик-ассоциированных поражений кишечника [1]. Термин «кlostридиозная инфекция» используют в тех случаях, когда в стационарах возникают вспышки диареи у больных, получающих антибиотики широкого спектра. Псевдомембранозный колит рассматривают как одно из самых тяжёлых осложнений антибактериальной терапии и форм «кlostридиозной инфекции».

C.difficile (первоначальное название *Bacillus difficilis*) — строго анаэробная спорообразующая грамположительная палочка, впервые была выделена из кишечника новорождённых детей I. C. Hall и E. O'Tool в 1935 г. и охарактеризована как патогенный анаэроб. Известно, что *C.difficile* является постоянным обитателем кишечника здоровых людей, диких и домашних животных; она может быть выделена из почвы, речной и морской воды. Частота контаминации кишечника *C.difficile* уменьшается с возрастом: у здоровых новорождённых достигает 50—70% [2], у детей старшего возраста и взрослых составляет не более 10% [3]. В 90% случаев выделенные штаммы продуцируют токсины [2]. У недоношенных новорождённых и детей первых пяти месяцев жизни токсигенные штаммы *C.difficile* выявляли при наличии кишечных расстройств и на фоне приёма пероральных форм антибиотиков [4]. Более современные исследования не установили диагностического значения выявления токсигенных штаммов *C.difficile* у детей первого года жизни с диареей [5].

Манифестные формы кlostридиозной инфекции у детей встречаются реже, чем у взрослых, что объясняют отсутствием рецепторов к токсинам *C.difficile* на эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника, а также наличием у детей грудного возраста материнских антикlostридиальных антител [6]. В то же время есть указания, что дети раннего возраста и новорождённые подвержены псевдомембранозному колиту; течение заболевания у доношенных и недоношенных новорождённых детей тяжёлое, с профузной диареей, обезвоживанием, с расстройствами кровообращения [3]. Дети раннего возраста с бессимптомным носительством *C.difficile* могут быть источником кlostридиоза [7].

Кlostридиозную инфекцию у взрослых больных считают нозокомиальной [8], клиническое

значение колонизации и инфекции *C.difficile* у детей менее определённое [9]. Имеются данные об увеличении частоты выявления инфекции *C.difficile* у негоспитализированных пациентов [10], а также данные, не подтверждающие внутрибольничную природу токсигенных штаммов *C.difficile* у детей [11].

С внедрением в практику новых методов обнаружения *C.difficile* появились возможности для уточнения природы гастроэнтерологической патологии. Выявление *C.difficile* в составе кишечной микрофлоры у детей раннего возраста с функциональными расстройствами пищеварения сопровождалось снижением количества бифидобактерий и повышением уровня кальпротектина в кале. Использование в качестве дополнения к питанию больных пробиотика *L.reuteri* способствовало устранению клинических симптомов заболевания, уменьшению степени воспалительных и дисбиотических нарушений [12]. Обнаружение *C.difficile* и её токсинов свидетельствует о нарушениях формирования и/или ослаблении колонизационной резистентности индигенной микрофлоры кишечника [13].

Использование пробиотических средств у недоношенных детей, получающих антибиотики в процессе выхаживания, содействует терапевтическим усилиям по поддержанию иммунитета благодаря нормализации микробиоты кишечника и тем самым снижает риск развития неонатальной инфекции [14].

Цель работы: изучение исходов лечения, динамики контаминации и персистенции *C.difficile* в составе микробиоты кишечника новорождённых детей, получающих антибиотики и пробиотический штамм *E.faecium* L3.

Материал и методы

В специализированном отделении патологии новорождённых детей многопрофильного педиатрического стационара наблюдали 94 пациента, из них 39 доношенных новорождённых детей — мальчиков 13 (33,3%), девочек 16 (66,7%) и 55 недоношенных новорождённых детей с очень низкой массой тела — мальчиков 24 (43,6%), девочек 31 (56,4%). Наблюдаемые дети поступали из родильных домов и отделения реанимации стационара. Антибиотики получало большинство наблюдаемых пациентов: доношенные дети получали пенициллины, аминогликозиды, цефалоспорины, недоношенные дети, кроме пенициллинов, аминогликозидов, цефалоспоринов, получали карбапенемы, фторхинолоны, гликопептиды.

Доношенные новорождённые дети имели нетяжёлые формы перинатальной патологии ЦНС, желтухи различного генеза. Пациенты были рандомизированы на две группы: группа срав-

нения ($n=18$) — 12 (66,7%) мальчиков, 6 (33,3%) девочек получали стандартную терапию; основная группа ($n=21$) — 11 (52,4%) мальчиков, 10 (47,6%) девочек дополнительно к стандартной терапии с профилактической целью получала жидкий пробиотик *Enterococcus faecium* L3 (с титром 5×10^8 КОЕ/мл) по 1 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Пробиотическая форма *E. faecium* L3 (№ RU. 77.99.26.009.E.002272.02.11, «Авена», Россия) используется в производстве немолочных продуктов лечебного питания. На момент поступления возраст детей группы сравнения составил $2,7 \pm 0,6$ дня, возраст детей основной группы — $3,2 \pm 0,7$ дня ($p>0,05$). Грудное вскармливание получали 6 (33,3%) детей группы сравнения и 8 (38,1%) основной группы; смешанное вскармливание получали 8 (44,4%) детей группы сравнения и 5 (28,3%) основной группы ($p>0,05$). На интенсивной терапии более 10 дней находились 2 (11,1%) детей группы сравнения и 1 (4,8%) — основной группы; на интенсивной терапии менее 10 дней находились 8 (44,4%) детей группы сравнения и 12 (57,1%) основной группы ($p>0,05$). Антибактериальную терапию до поступления в стационар получали 16 (88,9%) детей группы сравнения и 20 (95,2%) основной группы ($p>0,05$). Пробиотические препараты до поступления в стационар не получал ни один наблюдаемый пациент. Антибиотики в период стационарного лечения курсом менее 7 дней получали 6 (33,3%) детей группы сравнения и 9 (42,9%) — основной группы ($p>0,05$); антибиотики курсом более 7 дней получали 10 (55,6%) детей группы сравнения и 11 (52,4%) — основной группы ($p>0,05$).

Недоношенные новорождённые дети с очень низкой массой тела со сроком гестации от 28 до 34 недель (средний гестационный возраст — $29,0 \pm 0,3$ нед.) не имели в анамнезе искусственной вентиляции лёгких более 10 дней, не имели грубых пороков развития, требующих хирургической коррекции, не имели тяжёлых перинатальных поражений ЦНС. Возраст пациентов на момент поступления составил $3,3 \pm 0,5$ дня, масса тела — $1204,0 \pm 26,6$ г; длина тела — $37,0 \pm 0,4$ см. Стандартная программа выхаживания недоношенных детей включала адекватную первичную реанимацию, респираторную поддержку с применением сурфактанта, тепловой режим, раннее обеспечение нутриентами, включая полное или частичное парентеральное питание, антибактериальную терапию, раннее энтеральное питание с использованием принципа минимального трофического питания грудным молоком. Перевод детей на энтеральное питание предусматривал последовательное использование питательных формул Алфаре, ПреНАН, НАН Гипоаллергенный (и/или грудное молоко).

Недоношенные пациенты были рандомизированы на две группы. Группа сравнения ($n=26$) получала стандартную терапию. Основная группа ($n=29$) при объёме энтерального питания 5 мл и более с профилактической целью дополнительно получала

внутри жидкий пробиотик (с титром 5×10^8 КОЕ/мл) на основе *E.faecium* L3 по 0,5 мл 2 раза в день в течение 14 дней. В группе сравнения грудное молоко в питании получали 7 (26,9%) детей, в основной группе — 1 (37,9%) детей, из них 8 (27,6%) грудное молоко вместе с питательными формулами. Недоношенные пациенты указанных групп были сопоставимы между собой, они достоверно не отличались по полу, возрасту на момент поступления, гестационному возрасту, массе и длине тела на момент рождения, оценке по шкале Апгар на 1 и 5 мин жизни. Центральный венокатетер более 10 дней имели 24 (92,3%) пациента группы сравнения и 27 (93,1%) основной группы 2; центральный венокатетер менее 10 дней имели 2 (7,7%) пациента группы сравнения и 3 (6,9%) основной группы ($p>0,05$). Антибиотики курсом более 10 дней получали 24 (92,3%) пациента группы сравнения и 26 (89,7%) основной группы; антибиотики курсом менее 10 дней получали 2 (7,7%) пациента группы сравнения и 3 (10,3%) основной группы ($p>0,05$). Смену курсов антибиотиков имели 20 (76,9%) пациентов группы сравнения и 24 (82,8%) основной группы ($p>0,05$).

Эффективность использования пробиотика *E.faecium* L3 на фоне антибиотикотерапии у доношенных новорождённых пациентов оценивали по частоте предупреждения желудочной и кишечной диспепсии; у недоношенных детей с очень низкой массой тела проводили анализ частоты манифестации инфекционных осложнений и возникновения ситуаций пищевой непереносимости.

Микрофлору кишечника изучали методами бактериологического исследования фекалий и ПЦР в реальном времени. Бактериологическими методами определяли наличие и количество *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, общее количество *Escherichia coli* (в том числе *E.coli* с нормальной ферментативной активностью, со сниженной ферментативной активностью, лактозонегативные, сахарозопозитивные, гемолитические), *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus saprophiticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*. При этом использовали селективные и дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, маннитол солевой агар, агар MacConkey, m-Enterococcus агар, MRS агар (Difco, США), среда Blaurock (Nutrient medium, Россия). После подсчёта колоний на чашках анализировали от 3 до 4 колоний с различными микроскопическими признаками. Эти различные морфотипы выделяли и подвергали микроскопическому исследованию, окрашивая по Граму чистые культуры бактерий. Выполнялись также биохимические тесты с помощью систем идентификации ERBA Lachema (Германия). Более детальную идентификацию бактерий проводили методом ПЦР в реальном времени, используя видоспецифические ДНК праймеры (таблица). ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе (Bio-rad, США) с активным регулированием. ПЦР смесь инкубировали

ДНК праймеры и зонды для идентификации признаков бактерий				Размер ПЦР продуктов (bp)
Бактерии	Лидирующий праймер 5' 3'	Последовательности олигонуклеотидов		Тапман - проба 5' 3'
		Противоположный праймер 5' 3'		
<i>Lactobacillus</i> spp.	TCGGCTATCACT TCTGGATGGA	CCATTGTGGAAG ATTCCCTACTGC	ATCGGSCACATTGGGACTGAGAC	166
<i>Bifidobacterium</i>	GGGTGCTTAACACATGCAAGTC	CACCCGTTTCCAGAGAGATAAT	TCAGGCATTACTACCCGTTTCGCC	126
<i>Enterococcus</i> spp.	ATCAGAGGGGGATTAACACTT	ACTCTCATCCTTGTTCTTTC	TTGAAAGGCGCTTCGGGT	342
<i>Escherichia coli</i>	CATGCCCGCTGTATGAAGAA	CGGCTAACGCTCAATGAGCAA	TATTAACTTACTCTCTCCGCCGTGAA	96
<i>Proteus vulgaris</i>	AACTCTCTGGTGG(G/A)CTGCAT	AAGACTTGGCCAGAGAGCAA	GCGGTTTCYGTGTGTAATGCC	190
<i>Proteus mirabilis</i>	AACTCTCTGGTGG(G/A)CTGCAT	GAGCTCACGACAGACGTTTCG	GCGGTTTCYGTGTGTAATGCC	253
<i>Klebsiella</i> spp.	AATAACACCCGAGCAGAGAGTT	CAATGGCCGAATAAATAAGCA	CGCTCAATCCAGGCTATGCGC	276
<i>Clostridium difficile</i>	TTGAGCGATTACTTCGGTAAAGA	TGTACTGGCTCACCTTTGATATTCA	GTAACTACCCCTGTACACACG	114

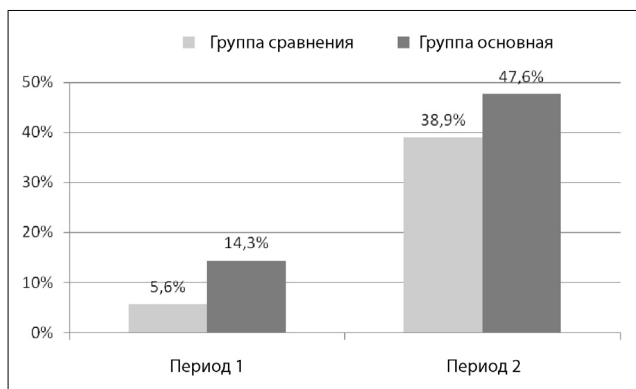


Рис. 1. Частота выявления *C.difficile* в фекалиях у доношенных детей в процессе лечения в стационаре (по оси ординат — частота выявления *C.difficile* в фекалиях; по оси абсцисс — периоды исследований).

при 94°C в течение 5 мин. Прибор программировали на цикл денатурации при 94°C на 3 секунды, цикл отжига праймеров — при 58°C на 6 с, цикл синтеза ДНК при 72°C на 10 с. Последовательность таких циклов повторялась 40 раз.

У доношенных детей забор кала для исследования проводили двукратно: при поступлении и через 10 дней лечения (периоды 1—2). У недоношенных детей забор кала проводили трёхкратно: при поступлении в отделение, затем двукратно с интервалом 14 дней (периоды 1—2—3). В основной группе исследование 2 (период 2) проводили после завершения терапии пробиотической формой *E.faecium* L3. Результаты оценивали методом дисперсионного анализа и методом Wilcoxon для парных выборок (не ограниченного условием нормального распределения данных).

Результаты и обсуждение

По результатам исследования микрофлоры кишечника доношенных новорождённых детей наличие *C.difficile* в фекалиях в периоде 1 было выявлено у 1 (5,6%) пациента группы сравнения и у 3 (14,3%) — основной группы. В периоде 2 частота обнаружения *C.difficile* (частота контаминации) увеличилась (рис. 1): в группе сравнения в 6,9 раз, в основной группе — только в 3,3 раза. Изучение количества *C.difficile* в динамике наблюдения (персистенции) и сравнение полученных данных в группах детей методом дисперсионного анализа показало достоверное снижение уровня *C.difficile* у детей основной группы — с $4,0 \times 10^9 \pm 1,2 \times 10^9$ до $5,6 \times 10^8 \pm 6,4 \times 10^8$ КОЕ/г ($p < 0,05$) и отсутствие достоверного снижения количества *C.difficile* у детей группы сравнения — с $4,0 \times 10^8 \pm 2,0 \times 10^9$ до $1,7 \times 10^8 \pm 7,7 \times 10^8$ КОЕ/г ($p > 0,05$).

Исследование состава индигенной и условно-патогенной микрофлоры кишечника в динамике наблюдения и сравнение полученных данных методом дисперсионного анализа выявило значимое увеличение количества лактобацилл (по данным бактериологического исследования фекалий) у детей основной группы — с $4,3 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^8$ до $7,2 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^8$ КОЕ/г ($p < 0,05$) и, напротив, снижение лактобацилл у детей группы сравнения — с

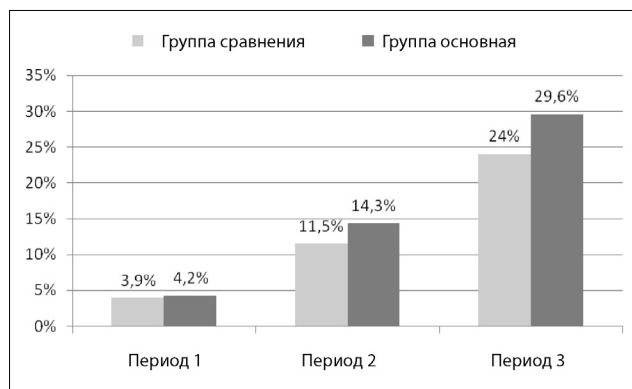


Рис. 2. Частота выявления *C.difficile* в фекалиях у недоношенных детей в процессе выхаживания в стационаре (по оси ординат — частота выявления *C.difficile* в фекалиях; по оси абсцисс — периоды исследований).

$5,6 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^8$ до $3,4 \times 10^8 \pm 1,1 \times 10^8$ КОЕ/г ($p > 0,05$). У детей основной группы на фоне лечения отмечено достоверное снижение количества золотистого стафилококка — с $5,0 \times 10^5 \pm 2,1 \times 10^5$ до $7,7 \times 10^3 \pm 1,5 \times 10^5$ КОЕ/г ($p < 0,05$).

Изучение изменений микрофлоры кишечника доношенных новорождённых детей под влиянием использованных программ терапии методом Wilcoxon выявило у детей основной группы нарастание количества лактобацилл ($n=13$; $p=0,05$) по данным бактериологического исследования и нарастание количества бифидобактерий ($n=20$; $p < 0,05$) по данным ПЦР-исследования фекалий. Изменения условно-патогенной микрофлоры кишечника у детей основной группы характеризовались повышением общего количества клебсиелл ($n=10$; $p < 0,05$) по данным бактериологического исследования; однако по данным ПЦР-оценки количества *K.pneumoniae* в фекалиях изменений не установлено ($n=10$; $p=0,88$). У детей группы сравнения достоверных изменений состава индигенной и условно-патогенной микрофлоры кишечника методом Wilcoxon в динамике наблюдения не было отмечено.

Сравнение результатов использованных программ терапии доношенных детей показало, что у 5 (27,8%) пациентов группы сравнения было зафиксировано кратковременное изменение характера стула, появление умеренного вздутия живота и необильных срыгиваний. В то же время ни у одного ребенка основной группы, не было зарегистрировано признаков желудочной и кишечной диспепсии.

По результатам исследования микробиоты кишечника недоношенных новорождённых детей частота выделения *C.difficile* из фекалий была сопоставима в основной группе и группе сравнения (рис. 2). Отмечено увеличение частоты выявления *C.difficile* в динамике наблюдения: в периоде 2 — в основной группе в 3,4 раза, в группе

сравнения в 2,9 раза; в периоде 3 — в основной группе в 7,4 раза, в группе сравнения в 6,2 раза. Исследование количества *C.difficile* в составе микрофлоры кишечника и сравнение полученных данных в периоде 1 и периоде 2 методом дисперсионного анализа показало достоверное снижение уровня *C.difficile* у детей основной группы — с $2,0 \times 10^{10} \pm 4,6 \times 10^9$ до $5,5 \times 10^9 \pm 2,2 \times 10^9$ КОЕ/г ($p < 0,01$) и отсутствие достоверного снижения количества *C.difficile* у детей группы сравнения — с $5,0 \times 10^9 \pm 4,4 \times 10^9$ до $1,3 \times 10^8 \pm 2,5 \times 10^9$ КОЕ/г ($p > 0,05$). Сравнение результатов оценки количества *C.difficile* в периоде 2 и периоде 3 у пациентов основной группы выявило дальнейшее снижение уровня *C.difficile* — с $5,5 \times 10^9 \pm 2,2 \times 10^9$ КОЕ/г до $1,9 \times 10^9 \pm 1,5 \times 10^9$ КОЕ/г ($p > 0,05$), а у пациентов группы сравнения слабую тенденцию к нарастанию уровня *C.difficile* — с $1,3 \times 10^8 \pm 2,5 \times 10^9$ КОЕ/г до $2,6 \times 10^8 \pm 1,8 \times 10^9$ КОЕ/г ($p > 0,05$).

Изучение динамики состава индигенной и условно-патогенной микробиоты кишечника недоношенных детей методом дисперсионного анализа не выявило достоверных различий в наблюдаемых группах. Количество бифидобактерий у пациентов основной группы в периоде 1 составило $1,1 \times 10^9 \pm 1,8 \times 10^{10}$ КОЕ/г; в периоде 2 — $1,4 \times 10^9 \pm 1,6 \times 10^{10}$ КОЕ/г ($p > 0,05$); в периоде 3 — $2,8 \times 10^9 \pm 1,7 \times 10^{10}$ КОЕ/г ($p > 0,05$). Количество бифидобактерий у пациентов группы сравнения в периоде 1 составило $4,2 \times 10^{10} \pm 1,7 \times 10^{10}$ КОЕ/г, в периоде 2 — $2,0 \times 10^9 \pm 1,8 \times 10^{10}$ КОЕ/г ($p > 0,05$), в периоде 3 — $8,1 \times 10^9 \pm 1,8 \times 10^{10}$ ($p > 0,05$). Количество лактобацилл у пациентов основной группы в периоде 1 составило $1,7 \times 10^9 \pm 9,3 \times 10^8$ КОЕ/г; в периоде 2 — $1,6 \times 10^9 \pm 8,4 \times 10^8$ КОЕ/г ($p > 0,05$); в периоде 3 — $4,5 \times 10^8 \pm 8,8 \times 10^8$ КОЕ/г ($p > 0,05$). Количество лактобацилл у пациентов группы сравнения в периоде 1 составило $3,4 \times 10^9 \pm 9,4 \times 10^8$ КОЕ/г; в периоде 2 — $8,2 \times 10^8 \pm 9,6 \times 10^8$ КОЕ/г ($p > 0,05$); в периоде 3 — $1,4 \times 10^9 \pm 9,2 \times 10^{10}$ КОЕ/г ($p > 0,05$). Количество клебсиелл у пациентов основной группы в динамике наблюдения существенно не менялось: в периоде 1 — $4,1 \times 10^5 \pm 2,7 \times 10^7$ КОЕ/г; в периоде 2 — $1,7 \times 10^6 \pm 2,0 \times 10^7$ КОЕ/г ($p > 0,05$); в периоде 3 — $1,1 \times 10^6 \pm 2,0 \times 10^7$ КОЕ/г ($p > 0,05$). Количество клебсиелл у пациентов группы сравнения в периоде 1 составило $1,3 \times 10^6 \pm 3,1 \times 10^7$ КОЕ/г; в периоде 2 — $6,4 \times 10^7 \pm 2,4 \times 10^7$ КОЕ/г ($p > 0,05$), в периоде 3 — $2,1 \times 10^6 \pm 2,2 \times 10^7$ КОЕ/г ($p > 0,05$).

Изучение динамики состава индигенной и УПМ кишечника недоношенных детей в парных выборках методом Wilcoxon в основной группе выявило достоверное нарастание количества клебсиелл при сравнении данных исследования в периодах 1 и 3 ($n=10$; $p < 0,05$). У детей группы сравнения установлено достоверное снижение ($p < 0,05$) количества бифидобактерий при сравне-

нии результатов исследований в периодах 1 и 3 ($n=20$; $p < 0,05$) и увеличение количества клебсиелл ($p < 0,05$) при сравнении данных исследований в периодах 1 и 2 ($n=7$; $p < 0,05$).

Сравнение исходов выхаживания недоношенных детей наблюдаемых групп показало, что инфекционные осложнения (внутриутробная инфекция, внутриамниотическая инфекция, некротический энтероколит) суммарно достоверно чаще были верифицированы в группе сравнения — 14 (53,8%) случаев против 6 (20,7%) в основной группе ($p < 0,05$). При этом развитие некротического энтероколита отмечено только у 2 (7,7%) детей группы сравнения. «Срывы питания» у недоношенных детей, сопровождающиеся симптомами пищевой непереносимости, были результатом развития острой функциональной непроходимости кишечника, требовавшей прекращения энтерального питания и возврата к парентеральному питанию; они чаще имели место у пациентов группы сравнения — 10 (38,5%) случаев против 6 (20,7%) в основной группе ($p > 0,05$).

Анализ клинических результатов использования у доношенных новорождённых детей пробиотического штамма *E.faecium* L3 на фоне антибиотикотерапии в условиях стационара выявил снижение риска побочных эффектов в виде диспептических нарушений, что объясняется положительными сдвигами в составе микробиоты кишечника и согласовывается с данными других исследований [12]. Частота выявления *C.difficile* в составе микрофлоры в динамике наблюдения детей, получающих пробиотик во время антибиотикотерапии в условиях стационара, увеличивалась менее значительно, чем у пациентов группы сравнения, и сопровождалась достоверным снижением количества *C.difficile*. Включение пробиотика *E.faecium* L3 в программу лечения способствовало пролиферации индигенной микрофлоры (лактобацилл, бифидобактерий) и снижению содержания условно-патогенных микроорганизмов (золотистого стафилококка) в составе микробиоты кишечника.

Сравнительный анализ исходов выхаживания в стационаре недоношенных детей с очень низкой массой тела выявил преимущество использования пробиотического штамма *E.faecium* L3 в комплексной терапии, что имело выражение в достоверном снижении частоты инфекционных осложнений.

Полученные результаты совпадают с выводами С. Hammerman, М. Kaplan, 2006 [14], полученными на основании анализа многочисленных исследований, посвящённых изучению роли особенностей микробной колонизации кишечника у недоношенных детей и её нормализации с помощью пробиотиков, назначаемых с профилактической целью, в снижении час-

тоты и тяжести некротического энтероколита. В динамике наблюдения у недоношенных детей основной группы и группы сравнения на фоне антибиотикотерапии было отмечено нарастание частоты контаминации *C.difficile*. Персистенция *C.difficile* в динамике достоверно снижалась у пациентов основной группы, дополнительно получающих пробиотик. Изменения индигенной микробиоты кишечника недоношенных детей на фоне антибиотикотерапии характеризовались достоверным снижением количества бифидобактерий у пациентов группы сравнения и отсутствием таковых у пациентов основной группы. В обеих группах наблюдаемых детей было отмечено значимое нарастание клебсиелл, являющихся яркими представителями нозокомиальной флоры. Следует отметить, что использование пробиотика *E.faecium* L3 во время антибиотикотерапии у недоношенных детей достоверно сдерживало пролиферацию клебсиелл, как это показали результаты исследований в периодах 2 и 3. Угнетающее воздействие контаминации и персистенции *C.difficile* на индигенную микробиоту кишечника недоношенных детей было более глубоким, чем у доношенных новорожденных.

Заключение

Использование пробиотического штамма *E.faecium* L3 у новорожденных детей во время антибиотикотерапии в условиях стационара повышает эффективность выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела, способствуя достоверному снижению частоты инфекционных осложнений; уменьшает частоту возникновения ситуаций пищевой непереносимости у недоношенных детей и риск развития диспептических расстройств у доношенных новорожденных. Прием жидкого пробиотика *E.faecium* L3 доношенными новорожденными пациентами не снижает частоту контаминации *C.difficile*, но значительно уменьшает персистенцию *C.difficile* в составе микробиоты кишечника, что сопровождается достоверным нарастанием количества бифидо- и лактофлоры, снижением пролиферации золотистого стафилококка и обеспечивает профилактику диспепсии. У недоношенных новорожденных детей использование пробиотического штамма *E.faecium* L3 на фоне антибиотикотерапии существенно снижает содержание *C.difficile* в составе микробиоты кишечника, сдерживает угнетение бифидофлоры и пролиферацию клебсиелл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Малов В. А. Антибиотик-ассоциированные поражения кишечника. Врач 2000; 10: 16—19.
2. Bryant K., McDonald L.C. *Clostridium difficile* infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 145—146.
3. Учайкин В. Ф., Нусевич Н. И., Шамшова О. В. Инфекционные болезни и вакцинопрофилактика у детей: учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007; 485—489.
4. Cardines R., Luzzi I., Menichella G., Virgili Q., Mastrantonio P. *Clostridium difficile* in preterm neonates. *Microbiologica* 1988; 11: 3: 259—261.
5. Tang P., Roscoe M., Richardson S. E. Limited clinical utility of *Clostridium difficile* toxin testing in infants in a pediatric hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52: 2: 91—94.
6. Захарова И. Н., Мазанкова Л. Н. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: проблема и решение. Учебное пособие для врачей. М.: 2011; 47.
7. Hecker M. T., Riggs M. M., Hoen C. K., Lancioni C., Donskey C. J. Recurrent infection with epidemic *Clostridium difficile* in a peripartum woman whose infant was asymptotically colonized with the same strain. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 6: 956—957.
8. Kuijper E.J., Coignard B., Brazier J.S., Suetens C., Drudy D. et al. Update of *Clostridium difficile*-associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe. *Eurosurveillance* 2007; 12: 6: 163—166.
9. Enoch D. A., Butler M. J., Pai S., Aliyu S. H., Karas J. A. *Clostridium difficile* in children: colonisation and disease. *J Infect* 2011; 63: 2: 105—113.
10. Garey K. W., Jiang Z. D., Yadav Y., Mullins B., Wong K., Dupont H. L. Peripartum *Clostridium difficile* infection: case series and review of the literature. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199: 4: 332—337.
11. Burgner D., Siarakas S., Eagles G., McCarthy A., Bradbury R., Stevens M. A prospective study of *Clostridium difficile* infection and colonization in pediatric oncology patients. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 12: 1131—1134.
12. Корниенко Е. А., Кубалова С. С., Суворова М. А. Возможности коррекции функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста. Материалы 14-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург-ГASTPO-2012», Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2012; 2—3: M43.
13. Щеглов В. С., Оришак Е. А. Выявление токсина *Clostridium difficile* у пациентов, обследуемых по поводу дисбиоза кишечника. Материалы 14-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург-ГASTPO-2012», Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2012; 2—3: M45.
14. Hammerman C., Kaplan M. Probiotics and neonatal intestinal infection. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 3: 277—282.

Коррекция иммунного дисбаланса у детей, часто болеющих повторными респираторными инфекциями

Л. А. ХАРИТОНОВА, О. Е. ИСРАФИЛОВА, М. Г. РОМАНЦОВ

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова», Москва
ГБОУ ВПО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург

Correction of Immunity Dysbalance in Children with Frequent Recurrent Respiratory Infection

L. A. KHARITONOVA, O. E. ISRAFILOVA, M. G. ROMATSOV

N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow
I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg

Актуальной медицинской и социальной проблемой педиатрии являются дети, часто болеющие острыми респираторными инфекциями (ОРИ). Частые ОРИ способствуют снижению иммунной резистентности организма, срыву компенсаторно-адаптивных механизмов, нарушению физического и нервно-психического развития ребёнка, его социальной дезадаптации, формированию хронической патологии органов дыхания. Отмечена высокая эффективность циклоферона, применяемого с целью коррекции иммунного и интерферонового ответа у часто болеющих детей.

Ключевые слова: часто болеющие дети, иммунитет, ОРИ, циклоферон.

Children with frequent recurrent acute respiratory infections represent an actual medical and social problem. Frequent respiratory infections provoke the host lower immunity, disturbance of the compensatory-adaptative mechanisms, impairment of the physical and neuropsychic development of the child, the social disadaptation, chronic pathologic processes in the respiratory organs. High efficacy of cycloferon in correction of the immune and interferon responses in the frequently ill children was noted.

Key words: frequently ill children, immunity, acute respiratory infection, cycloferon.

Введение

Острые респираторные инфекции (ОРИ) у детей наиболее частая причина обращения к врачу, их удельный вес достигает 90% среди всех острых инфекций верхних дыхательных путей. Количество детей, часто болеющих ОРИ, колеблется в пределах от 15 до 50% среди всех детей, представляя собой не только медицинскую, но и социальную проблему, поскольку частые ОРИ могут нарушать физическое и нервно-психическое развитие детей, способствуют затяжному и осложнённому течению инфекционного процесса с формированием хронических воспалительных заболеваний [1–3].

Ранее в группу часто болеющих детей (ЧБД) относили детей, исходя из критериев, предложенных А. А. Барановым и В. Ю. Альбицким, которые основаны на «допустимой» частоте ОРИ в течение года в зависимости от возраста ребёнка (табл. 1) [4].

В современных условиях в категорию ЧБД следует включать «пациентов с рекуррентным

(повторным ОРЗ), болеющих 8 и более раз в год» [5]. Кроме того, в категории ЧБД необходима дифференциация на группы с выделением «истинно ЧБД» с индексом резистентности выше 0,5, продолжительном и осложнённом течении, наличии сопутствующих заболеваний, болеющих повторными ОРИ 8 и более раз в год. К группе «условно ЧБД» необходимо относить и лиц с индексом резистентности 0,4–0,49, болеющих повторными ОРИ не более 5 раз в год [6].

Основной функцией иммунной системы (ИС) является способность поддерживать постоянную внутреннюю среду организма путём распознавания и элиминации из организма чужеродных веществ антигенной природы как экзогенного (бактерии, вирусы, химические вещества и др.), так и эндогенного происхождения (эмбриональные, злокачественные и подвергшиеся старению клетки). У ЧБД изменяется клеточный состав иммунограммы: снижается содержание CD4, CD8, CD95, CD16 T- и В-лимфоцитов, изменяется содержание IgA, IgM и IgG. Нарушается фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ) за счёт депрессии процессов поглощения и переваривания бактериальных ан-

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции: 11799 Москва, ул. Островитянова, д. 1.
РНИМУ им. Н. И. Пирогова

Таблица 1. Критерии включения детей в группу ЧБД (В. Ю. Альбицкий, А. А. Баранов, 1986)

Возраст детей	Частота ОРИ (эпизодов/год)
1-го года жизни	4 и более
До 3 лет	6 и более
4—5 лет	5 и более
Старше 5 лет	4 и более

тигенов; выявляется существенный дефицит активно фагоцитирующих НГ. Имеет место также снижение индуцированной продукции сывороточного интерферона (IFN- α и IFN- γ , цитотоксической активности и продукции IFN- γ); а также активности Th-клеток (хелперов) первого типа. Все это уменьшает эффективность противовирусной защиты, способствует развитию бактериальных осложнений [7—9].

У «истинно» ЧБД предполагают наличие наследственно обусловленного «позднего старта» иммунной системы (транзиторная семейная дисфункция). Причиной частых ОРИ может быть незрелость иммунной системы ребёнка, проявляющаяся количественным и/или функциональным дефицитом Т-лимфоцитов, временным дефицитом иммуноглобулинов классов А и G. Для своевременной диагностики и адекватного подбора лекарственных средств (ЛС) при ОРИ необходимо учитывать эти возрастные особенности развития ИС в детском возрасте.

У «ложно» ЧБД не удается найти нарушений иммунной системы, выходящих за рамки физиологических особенностей. При этом одна из причин высокой распространённости повторных инфекций у них кроется в контактах с больными в организованных коллективах. Кроме того, неправомерно частое назначение антибиотиков детям при неосложнённых формах ОРИ маскирует клинические проявления транзиторных иммунодефицитов. В связи с этим назначение при лечении или профилактике ОРИ неспецифических иммуномодуляторов является патогенетически обоснованным [1, 6].

Нормальное функционирование иммунной системы строится на балансе Т-хелперов (Th1 и Th2) иммунного ответа. Ведущую роль в этом играют лекарственные средства, относящиеся к группе индукторов эндогенного интерферона (ИИФН), способных индуцировать при их введении в организм интерфероны 1- и 2-го типов. Помимо этиотропного действия, ИИФН обладают выраженной иммуномодулирующей активностью, стимулируют или подавляют синтез про- и противовоспалительных цитокинов, являющихся регуляторами цитокиновой сети, что позволяет отнести их к бифункциональным препаратам. ИИФН активируют макрофаги, цитотоксические клетки, Т- и В- лимфоциты и естественные киллеры. Они формируют стойкую резистентность ор-

ганизма к вирусам, которая сохраняется в течение длительного времени после их выведения [10, 12].

Динамика качественного состава и интенсивности маркёров прогрессирования иммунокомплексной патологии у ЧБД, на фоне приёма иммуномодуляторов, описана в работе И. В. Сарвилиной и М. Г. Романцова [13]. В частности, приём циклоферона повышает интенсивность компонентов Rho-Ras-сигнальных путей при значимом снижении количества белков старения в протеомном профиле крови, что указывает на эффективную работу индуцируемого циклофероном интерферона- γ , т.е. контроль противовирусного действия препарата. Это позволяет повысить эффективность и безопасность применения препаратов за счёт выявления мишеней при разработке средств иммунокоррекции у этой группы детей.

В связи с этим индукторы ИФН, представляя самостоятельный класс гетерогенных по составу высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений, объединённых способностью «включать» систему интерферона и вызывать в клетках и организме в целом синтез собственных (эндогенных) интерферонов, являются препаратами первого выбора при коррекции дисфункции иммунного ответа у ЧБД [6, 14, 15].

ИИФН отличаются между собой не только по химической структуре, но и по влиянию на различные иммунорегуляторы. Так, амиксин индуцирует синтез ИФН главным образом Т-клеток, тогда как циклоферон, действуя на В-клетки, макрофаги и нейтрофилы, стимулирует выработку как ИФН- α (1 тип), так и ИФН- γ (II тип), что обеспечивает ему более широкий спектр противовирусной защиты, с сохранением уровня эндогенного ИФН- α и ИФН- γ до 72 часов. Препарат обладает высокой биодоступностью, отсутствием негативных реакций и высокой доказательной базой, что делает его препаратом выбора в детской практике [12, 16].

Цель настоящего исследования — изучение эффективности циклоферона при его применении для коррекции иммунного ответа у часто болеющих респираторными инфекциями детей.

Материал и методы

Под наблюдением находилось 98 детей, часто болеющих повторными ОРИ, в возрасте от 3 до 14 лет, из них 54 мальчика и 44 девочки. Проведено клиническое наблюдение за детьми, исследование у них уровня ИФН (сывороточного, спонтанного, α - и γ -интерферонов), а также показателей клеточного и гуморального иммунного ответа и показателей

Таблица 2. Показатели продукции интерферонов в зависимости от возраста у детей, $M \pm m$

ИФН	Группы по возрасту (лет)				Норма
	I группа (1–3)	II группа (4–7)	III группа (8–11)	IV группа (12–14)	
Сывороточный	2,0	2,4±0,54	3,33±2,4	2,33±2,4	2–8
Спонтанный	1,8	1,8±0,02	11,96±10,0	1,9±0,01	0–2
α	240,0±80,0*	223,5±0,83*	226,67±93,3*	236,7±83,3*	320–640*
γ	16,0*	15,2±1,83*	13,33±2,7*	15,33±3,7*	64–128*

Примечание. Здесь и в табл. 3: * – $p < 0,05$ по отношению к референтным значениям

Таблица 3. Показатели продукции интерферонов в зависимости от возраста у детей, $M \pm m$

Показатели	I группа (0–3 лет)	II группа (4–7 лет)	III группа (8–14 лет)	Референтные значения
	n=25	n=38	n=24	
CD3	3,96±0,75*	2,46±0,15*	2,50±0,45*	0,9–2,2
CD4	1,14±0,56	1,44±0,14	1,26±0,10	0,6–1,9
CD8	1,39±0,19*	1,89±1,02*	1,14±0,27*	0,3–0,8
CD19	1,36±0,43*	0,62±0,1*	0,72±0,37*	0,12–0,45
CD3 DR	0,08±0,005	0,08±0,04	0,06	0–0,1
HLA-DR	1,37±0,43*	0,58±0,09	2,63±1,49*	0,15–0,5
CD16	0,64±0,47*	1,76±1,25*	0,37±0,05	0,3–0,6
ЕК-Т	0,06 ±0,02*	0,04±0,02*	0,12	0–0,1
Лейкоц./Т-лимф.индекс	2,42±0,27*	2,93±0,19*	2,23	4–7
НСТ-тест	11	15,0±4,91	2,0	12–30 усл. ед
НСТ-стим	30*	32,55±6,11*	10,0*	40–95 усл. ед
CD4/CD8	1,54±0,21	1,74±0,29	1,13±0,17*	1,2–2,5
C3	164±18	183,5±7,90	142,0±44,0	90–180 мг/ДЛ
ЦИК	173±6	195,0±34,98*	219,0±49,0*	50–200
C4	34±2	32,50±1,27	28,0±2,0	10–40
IgA	0,64±0,15*	1,99±0,79	1,20±0,36	0,7–5 г/л
IgM	0,45±0,11	1,87±0,84	0,85±0,17	0,2–2,0 г/л
IgE	164 ±163 *	132,63 ±68,10*	10,25±3,05	0–100 ед/мл
IgG	—	10,78±1,69	—	7–20 г/л

неспецифической резистентности (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, ЕК-Т, CD25, CD56, CD95, C3, C4, IgA, IgM, IgG, IgE, ЦИК, НСТ-тест, НСТ-стим). Рассчитывались индексы (лейкоциты/Т-лимфоциты, CD4/CD8) до и после лечения циклофероном. Препарат назначали в таблетках, в суточной возрастной дозировке согласно инструкции по медицинскому применению.

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета «Statistica 6.0». Различия среднеарифметических величин считали достоверными при $p < 0,05$. При проведении корреляционного анализа рассчитывали соответствующие коэффициенты, достоверными считали результаты при $p < 0,05$. Значения ранговой корреляции (Спирмена) значимые различия ($p < 0,05$) составляли при $r > 0,82$.

Результаты исследований

Среди ЧБД преобладали дети до 7 лет, дети младшего школьного и подросткового возраста болели примерно в одинаковых соотношениях (71 – 72,4%; 13 – 13,3%; 13 – 13,3% соответственно). У всех наблюдаемых нами детей отмечено снижение показателей продукции α - и γ -интерферонов (табл. 2).

Достоверно менялись абсолютные и относительные показатели иммунного статуса. При этом у детей отмечалось повышения уровня антигенпрезентирующих Т-лимфоцитов (CD3), Т-супрессоров (CD8) на фоне снижения Т-хелперов (CD4), естественных киллеров, IgA, НСТ-теста, что свидетельствует не только о физиологической недостаточности факторов им-

мунного ответа, но и срыве компенсаторных реакций. Эти изменения сопровождались повышением иммунорегуляторного индекса в сторону иммуносупрессии и повышением показателя циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), что указывает на формирование хронического воспалительного процесса (табл. 3).

После лечения циклофероном восстановление показателей иммунного ответа (ИФН- α и γ ; IgA; НСТ-теста, ЕК) наблюдалось у 54 из 63 (85,7%) детей дошкольного возраста, также отмечалась нормализация отдельных показателей иммунного ответа у 9 (9,1%) нормализовались показатели Т-хелперов, у 19 (19,4%) – ИФН- γ , у 43 (43,9%) человек – НСТ-тест.

Анализ причин низкой эффективности лечения циклофероном у детей школьного возраста показал, что только у 47 (48,1%) наблюдаемых нами детей ОРИ протекала в классическом варианте, в остальных случаях имело место осложнённое течение заболевания, что требовало либо повторного курса применения препарата, либо комбинации с иммуномодулирующими средствами.

При расчёте коэффициента ранговой корреляции Спирмена выявлена высокая связь между течением ОРИ и эффективностью лечения циклофероном. У детей с неосложнённым течением ОРИ отмечена высокая прямая корреляционная

связь ($r=0,87$; $p<0,01$), а при сочетании ОРИ с отитами и пневмониями — отмечена средняя корреляционная зависимость ($r=0,37$; $p<0,05$). Детям с осложнённым течением ОРИ назначался повторный курс циклоферона с интервалом в 2 недели. Были получены достоверные изменения в иммунном и интерфероновом ответах с высокой степенью корреляционной связи ($r=0,76$; $p<0,05$).

Частые ОРИ у детей раннего возраста обусловлены физиологическими особенностями иммунной системы — супрессорной направленностью иммунного ответа, незрелостью факторов местного иммунитета. Повторные ОРИ у них сопровождаются срывом компенсаторных функций, однако эти явления крайне редко сопровождаются хронизацией воспалительного процесса. Из осложнений ОРИ чаще встречаются отиты. Очевидно, что это обуславливает высокую эффективность лечения циклофероном у детей этого возраста.

Чем старше становится ребенок, тем большее влияние на течение ОРИ оказывают, кроме физиологических особенностей, факторы окружающей среды. ОРИ осложняются не только бактериальными инфекциями верхних дыхательных

путей (тонзиллиты, аденоидиты и др.), но и пневмониями, с изменением факторов местной иммунологической защиты и/или подавлением / активацией гуморального звена ИС (IgM, IgG, активацией комплемента по классическому пути — C3, C4, C5 и др.). Очевидно, что именно этим обусловлен недостаточный эффект одного курса циклоферона в соответствующих группах детей. В случаях осложнённого течения ОРИ у ЧБД необходимо проведение повторных курсов циклоферона с интервалом в 2 недели. Во всех случаях назначения циклоферона дети переносили препарат хорошо. Непредвиденных негативных эффектов выявлено не было.

Таким образом, отмечена высокая эффективность циклоферона при его применении для коррекции иммунного ответа у часто болеющих детей. При включении в комплексную терапию ЧБД повторными ОРИ циклоферона отмечается быстрая нормализация показателей неспецифического звена иммунитета. Проведение повторных курсов циклоферона часто болеющим детям с осложнённым течением ОРИ обеспечивает предотвращение хронизации патологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Романцов М.Г., Еришов Ф.И. Клиническая характеристика часто болеющих детей. Часто болеющие дети: современная фармакотерапия. М.: 2009; 30—42.
2. Барычева Л.Ю., Голубева М.В., Погорелова Л.В. Острые респираторные инфекции у детей. Ростов/Дон. 2012; 150—180.
3. Краснов В.В. Инфекционные болезни в практике педиатра. Нижний Новгород. 2008; 204—218.
4. Острые респираторные заболевания у детей: лечение и профилактика / Под ред. А. А. Баранова, Б. С. Каганова, А. В. Горелова. М.: 2004; 76—82.
5. Брейди М. Респираторные вирусные инфекции / Под ред. Д. Марри. Инфекционные болезни у детей. М.: 2006; 604—629.
6. Мельникова И.Ю., Смагина А.Н., Шульдяков А.А. Синдром «часто болеющий ребенок» / Под ред. М. Г. Романцова. Синдром воспаления дыхательных путей у детей. Краснодар. 2012; 136—152.
7. Горностаева Ю.А. Тактика ведения больных с частыми простудными заболеваниями. Справ поликлин врач 2007; 2: 7—9.
8. Заплатников А.Л. Клинико-патогенетическое обоснование иммунотерапии и иммунопрофилактики вирусных и бактериальных заболеваний у детей. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.: 2003.
9. Moss M.H. Immunotherapy: first do no harm. Immunol Allergy Clin North Am 2005; 25: 2: 421—439.
10. Абатуров А.Е. Роль интерферона в защите респираторного тракта Здоровье ребенка. 2007; 5: 13—17.
11. Сологуб Т.В., Романцов М.Г. Клиническая характеристика противовирусных препаратов: интерфероны и их индукторы / Под ред. О. И. Киселева, Л. М. Цыбаловой, В. И. Покровского. Грипп: эпидемиология, диагностика, лечение, профилактика. М.: 2012; 395—401.
12. Еришов Ф.И. Индукторы интерферонов / Под ред. О.И.Киселева, И.Н.Жилинской. Вопросы общей вирусологии. С-Пб.: 2007; 290—301.
13. Сарвилина И.В., Романцов М.Г. Протеомный профиль и неспецифическая иммунопрофилактика ОРЗ у часто болеющих детей. Вестник РАМН 2012; 2: 69—74.
14. Романцов М.Г., Мельникова И.Ю. Экстренная и неспецифическая профилактика, этиотропная и патогенетическая терапия гриппа и ОРВИ у детей. С-Пб.: 2012; 27.
15. Saunders P., Smith F., Schusky R. *Echinacea purpurea* L. in children: safety, tolerability, compliance, and clinical effectiveness in upper respiratory tract infections. Can J Physiol Pharmacol 2007; 85: 11: 1195—1199.
16. Романцов М.Г., Коваленко А.Л. Двадцать лет успеха на фармацевтическом рынке. Фармацевтическая промышленность. 2013; 4: 4—6.

Множественная резистентность микобактерий к антибактериальным препаратам у впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания

Б. С. КИБРИК, А. В. ЗЕНЧЕНКОВА, Л. М. ТЕРЕХИНА, О. Ю. СОСНИНА, Е. В. ИВАНОВА

Кафедра туберкулеза Ярославской Государственной медицинской академии МЗ РФ, Ярославль

Multiple Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* Isolated from New Cases of Respiratory Tract Tuberculosis

B. S. KIBRIK, A. V. ZENCHENKOVA, L. M. TEREKHINA, O. YU. SOSNINA, E. V. IVANOVA

Tuberculosis Department, Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl

Проведено исследование резистентности микобактерий туберкулёза у впервые выявленных больных в течение 2007—2012 гг. Установлены высокие темпы роста множественной лекарственной устойчивости с 28% в 2007 году до 64% в 2012 году. Низкая эффективность лечения этой категории больных является основанием к пересмотру стратегии борьбы с туберкулёзом и поиску препаратов новых фармакологических групп.

Ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, множественная лекарственная устойчивость, инфекционный контроль, эффективность лечения.

Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from new cases registered during a period from 2007 to 2012 was estimated. High rate of the *M. tuberculosis* multiple drug resistance increase was observed: from 28% in 2007 to 64% in 2012. Low efficacy of the treatment of such patients requires revision of the tuberculosis control strategy and search for new pharmacological agents groups.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, multiple drug resistance, infection control, treatment efficacy.

Введение

Развитие устойчивости микобактерий туберкулёза к противотуберкулёзным препаратам в условиях длительного лечения больных является реальным фактом нашего времени. Именно лекарственная устойчивость микобактерий туберкулёза (МБТ) явилась основной причиной использования комбинации препаратов в режиме лечения и постоянного поиска новых лекарств.

К настоящему времени проблема множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) приобрела глобальный характер. Появились сообщения об абсолютной лекарственной устойчивости (АЛУ) [1]. Существует такое понятие как «скрытая» лекарственная устойчивость, т.е. ситуация, когда в резецированной каверне у микобактерий обнаруживалась резистентность к большему числу препаратов, чем это определялось в мокроте при бактериологическом исследовании [2].

В последнее десятилетие появились сообщения о значительном распространении МЛУ МБТ среди впервые выявленных больных. Так, по дан-

ным авторов [3], доля таких больных с бактериовыделением МЛУ в 2004 году составляла 8,1%, а по данным других авторов [4], МЛУ микобактерий туберкулёза отмечена у 17,1% больных с впервые выявленным туберкулёзом органов дыхания.

Наряду с оценкой эпидемиологического показателя заболеваемости туберкулёзом важно учитывать критерий и уровень инфекционной опасности, который выражается в характере МЛУ микобактерий туберкулёза. Доля впервые выявленных больных с первичной МЛУ микобактерий туберкулёза составляла 7,1% в 2000 году, нарастала до 11,4% в 2008 году, к 2010 году увеличилась до 17,3%, а в 2011 году достигла 19,4% [5].

Стабильно нарастающая лекарственная устойчивость микобактерий у впервые выявленных больных в предшествующие годы позволяет оценивать фактор резистентности как показатель, имеющий существенное значение в стихийном формировании эпидемического процесса. Однако оценить истинную картину МЛУ микобактерий туберкулёза у больных с впервые в жизни установленным диагнозом туберкулёза органов дыхания, даже в пределах отдельных территорий, тем более в Российской Федерации, не представляется возможным [5—7]. Так, в статистических

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции:
E-mail: Kibrik@mail.ru

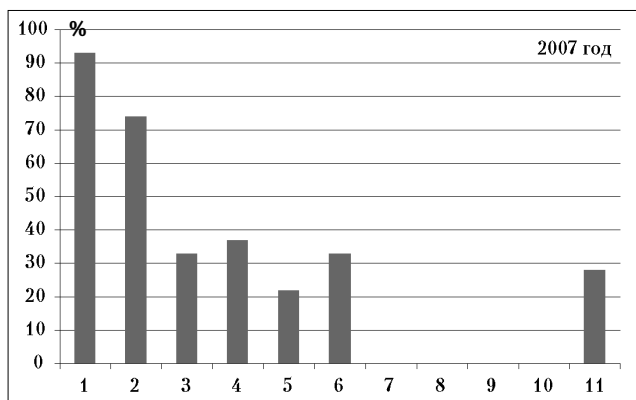


Рис. 1. Структура антибиотикорезистентности МБТ у впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 101 пациент; резистентность — у 28%.

Здесь и на рис. 2–6: 1 — стрептомицин; 2 — изониазид; 3 — рифампицин; 4 — этамбутол; 5 — протионамид; 6 — канамицин; 7 — офлоксацин; 8 — циклосерин; 9 — капреомицин; 10 — ПАСК; 11 — МЛУ.

показателях «Ресурсы и деятельность противотуберкулёзных учреждений» [8], множественная лекарственная устойчивость на 100 тыс. населения РФ в 2008 г. составила 3,3, в 2009 г. — 4,0, в 2010 г. — 3,9 с разбросом от <1 до 10 в Приморском крае. При определении доли больных с МЛУ среди обследованных на лекарственную чувствительность больных с впервые в жизни установленным диагнозом туберкулёза органов дыхания разброс показал следующие результаты: по России в целом в 2010 г. он составил 18,4%, в Брянске — 28,2%, значительно снижаясь по другим территориям до единичных значений [8]. Существующие различные оценочные критерии не позволяют определить истинное положение и оценить проблему. Это входило в нашу задачу и определило цель исследования.

Материал и методы

Изучены результаты бактериологических исследований по определению МЛУ микобактерий туберкулёза у впервые выявленных больных туберкулёзом лёгких в 2007–2012 гг. В исследование вошли наблюдения при выявлении первичной лекарственной устойчивости не менее, чем к одному препарату. Исследована МЛУ у 779 больных с бактериовыделением методом абсолютных концентраций в лаборатории Областной клинической туберкулёзной больницы г. Ярославля (рис. 1–6).

МЛУ определялась только при наличии лекарственной устойчивости одновременно к двум препаратам — рифампицину и изониазиду.

Результаты и обсуждение

Анализ данных по структуре резистентности микобактерий туберкулёза у впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания к назначаемым противотуберкулёзным препаратам

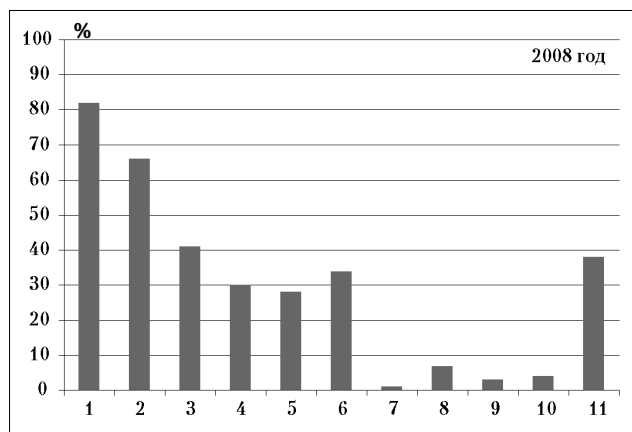


Рис. 2. Структура антибиотикорезистентности МБТ у впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 143 пациента; резистентность — 38%.

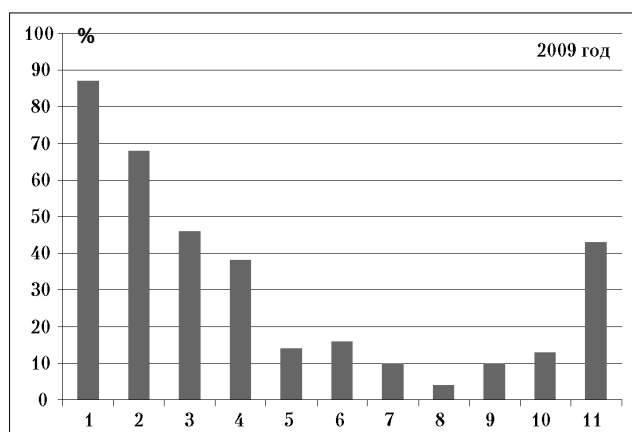


Рис. 3. Структура антибиотикорезистентности МБТ у впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 136 пациентов; резистентность — 42%.

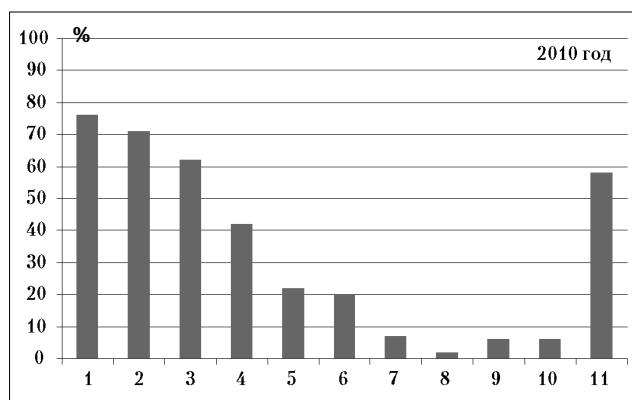


Рис. 4. Структура антибиотикорезистентности МБТ у выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 131 пациент; резистентность — 58%.

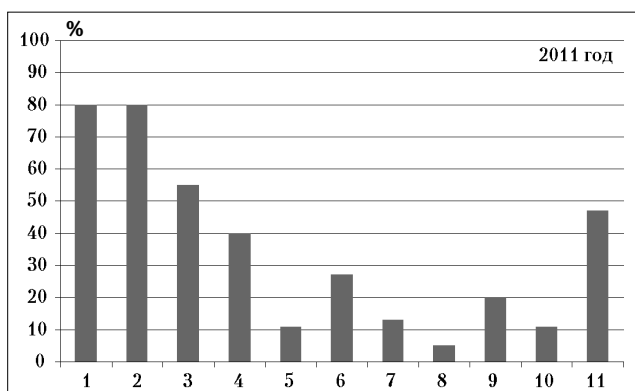


Рис. 5. Структура антибиотикорезистентности МБТ впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 125 пациентов; резистентность — 47%.

показал, что наиболее высокая резистентность микобактерий, более 80%, определяется к таким препаратам, как стрептомицин и изониазид. К рифампицину резистентность микобактерий туберкулёза была выявлена у 64% больных. Резистентность микобактерий к этамбутолу была выявлена у 59%, канамицину — у 30%, протионамиду — у 23%, капреомицину — у 15%, офлоксацину — у 23% и к ПАСК — у 9% больных. К циклосерину резистентность была на минимальном уровне — в 5% случаев. На этом фоне определялся критически высокий показатель первичной МЛУ к изониазиду и рифампицину, который составил 63%. Показатель множественной лекарственной устойчивости коррелирует с критически низким уровнем эффективности лечения (менее 50%) больных, которым потребовалось закрытие полостей с впервые выявленными деструктивными процессами в лёгких [3, 5, 9, 10].

Заключение

Анализ наших данных показал высокие темпы роста множественной лекарственной устойчивости у впервые выявленных больных туберку-

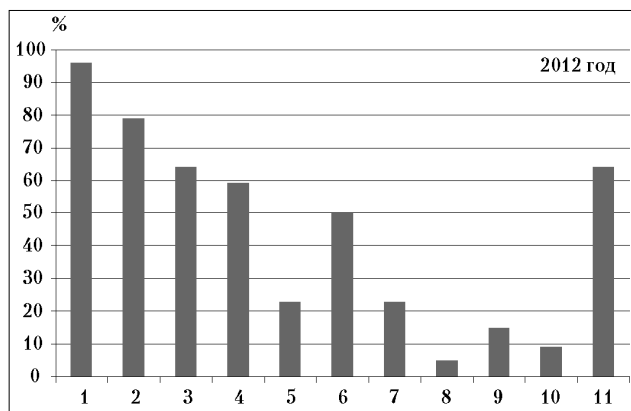


Рис. 6. Структура антибиотикорезистентности МБТ впервые выявленных больных туберкулёзом органов дыхания.

Всего бактериовыделителей — 143 пациента; резистентность — 64%.

лёзом органов дыхания за последние 6 лет — с 2007 по 2012 гг. — с 28 до 64%. Такая структура резистентности сопровождается резким снижением эффективности лечения больных. Представленные данные по темпам роста МЛУ указывают на нарастающий кризис использования в лечении туберкулёза апробированного в течение многих десятилетий «золотого стандарта» — комбинации препаратов изониазида с рифампицином. Наши данные позволяют утверждать, что те авторы, которые показывают высокий рост лекарственной устойчивости, отражают серьёзность реальной ситуации. Низкий уровень МЛУ, который представлен в статистических материалах Центрального НИИ организации и информации здравоохранения [8], указывает на накопление «скрытой критической массы», которая однажды проявит себя эпидемией неконтролируемого туберкулёза. Наши материалы указывают на необходимость повышения уровня инфекционного контроля во фтизиатрии. Необходимо придать ускорение поиску новых эффективных противотуберкулёзных препаратов на фоне прогрессирующего роста лекарственнорезистентных форм туберкулёза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пантелеев А.М., Иванов А.К., Пантелеева О.В., Нечаев В.В. Бактериовыделение и лекарственная устойчивость при туберкулёзе у ВИЧ-инфицированных в Санкт-Петербурге. СПб Государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова, 2008.
2. Хоменко А.Г. Эффективность химиотерапии туберкулёза лёгких с лекарственно-устойчивыми МБТ. Проблемы туберкулёза. 1996; 6: 42—44.
3. Шилова М.В. Туберкулез в России в 2004г. М.: 2005; 107.
4. Данилова Е.В. Особенности клинического течения и эффективность лечения больных туберкулёзом органов дыхания с первичной лекарственной устойчивостью возбудителя. Автореферат, диссертация к.м.н. М.: 2005; 24.
5. Шилова М.В. Туберкулёз в России в 2007 г. М.: 2008; 143.
6. Брагина В.В. и др. Эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу в Краснодарском крае. Кубанский научный медицинский вестник. 2001; 4: 5—7.
7. Нечаева О.Б., Скачкова Е.И. Причины и факторы формирования лекарственной устойчивости при туберкулёзе лёгких. Проблемы туберкулеза. 2003; 9: 6—9.
8. Вопросы и деятельность противотуберкулёзных учреждений. Статистические показатели ЦНИИ организации и информатизации здравоохранения. М.: 2011; 83—84.
9. Кибрик Б.С., Челюкова О.Г. Иммунохимиотерапия туберкулёза. Бифункциональный препарат тубосан. Ярославль: 2011; 154.
10. Кибрик Б.С., Захаров А.В., Крейцберг Г.Н. Наноконкомпозит «isoniasidi + Ag» в лечении туберкулёза *in vitro*, *in vivo*. Ярославль: 2010; 190.

Алгоритм идентификации атипичных форм стафилококков (SSCVs) — возбудителей хронических гнойно-воспалительных процессов у людей

Л. Н. ЧУРКИНА¹, С. И. БИДНЕНКО², МАРИО ВАНЕЧУТТЕ³, Л. В. АВДЕЕВА¹,
А. С. МАКУШЕНКО⁴, О. Б. ЛЮТКО², Н. М. ОЗЕРЯНСКАЯ², Н. Б. ПЕРУНОВА⁵

¹ Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

² Институт ортопедии и травматологии АМН Украины, Киев

³ Гентский университет, Бельгия

⁴ Институт эпидемиологии и инфекционных болезней АМН Украины, Киев

⁵ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Российская Федерация

Algorithm of Identification of Atypical Variants of Staphylococci, Pathogens of Chronic Pyo-Inflammatory Processes in Humans

L. N. CHURKINA, S. I. BIDNENKO, M. VANECHOUTTE, L. V. AVDEEVA,
A. S. MAKUSHENKO, O. B. LUTKO, N. M. OSERJANSKAJA, N. B. PERUNOVA

Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of the Ukraine, Kiev

Institute of Traumatology and Orthopedics, Medical Academy of Sciences of the Ukraine, Kiev

Gent University, Gent, Belgium

Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, Medical Academy of Sciences of the Ukraine, Kiev

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Urals Branch of Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Стафилококки — возбудители таких хронических рецидивирующих инфекций, как кистозный фиброз лёгких и остеомиелит, характеризуются атипичной морфологией колоний (атипичные формы стафилококков) и представляют собой субпопуляцию в клинически важных стафилококках. В связи с утратой в процессе мутаций ряда важных для рода *Staphylococcus* фенотипических характеристик идентификация этих вариантов стафилококков усложнена, а иногда невозможна. Разработан алгоритм идентификации атипичных форм SCVs *S. aureus*, показаны преимущества молекулярных методов, в частности tRNA — PCR анализа, а также использования диагностического препарата Диастаф для корректной идентификации атипичных форм стафилококков.

Ключевые слова: атипичные формы стафилококков (SSCVs), идентификация, Диастаф.

Staphylococcal pathogens of chronic relapsing infections, such as cystic pneumosclerosis and osteomyelitis are characterized by atypical morphology of the colonies (atypical variants of staphylococci) and present a subpopulation in clinically significant staphylococci. Since the loss of some phenotypic characteristics important for the genus *Staphylococcus* due to mutations, identification of such staphylococcal variants is difficult and sometimes impossible. An algorithm of identification of atypical variants of *S. aureus* (SSCVs) was developed. The advantages of the molecular methods and in particular the tRNA-PCR analysis, as well as the use of the diagnostic preparation Diastaph for correct identification of *Staphylococcus* atypical variants were shown.

Key words: atypical variants of staphylococci (SSCVs), identification, algorithm, Diastaph.

Введение

Инфекции, вызванные *Staphylococcus aureus*, обычно носят острый характер, это эндокардиты, пневмонии, сепсисы [1–3]. Однако существуют стафилококки, которые могут вызывать и хронические рецидивирующие инфекции, такие как остеомиелит, кистозный фиброз лёгких [4, 5], парапроктитную инфекцию [6]. Возбудителями таких инфекций являются атипичные формы *S. aureus* — small colony variants (SSCVs). Атипичные формы стафилококков могут быть изолированы непосред-

ственно с места локализации инфекционного процесса, или представлять субпопуляцию в клинических штаммах. Эти варианты медленно растут, в результате чего формируются очень маленькие непигментированные, негемолитические колонии. SCVs имеют и другие атипичные характеристики, которые не свойственны метаболически нормальным стафилококкам [7, 8]. Поэтому их легко можно пропустить, или не идентифицировать общепринятыми в клинических лабораториях методами.

Цель исследования — выявление SCVs в первичных культурах *S. aureus*, выделенных от больных хроническим остеомиелитом, изучение их физиолого-биохимических особенностей и разработка алгоритма их идентификации.

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции:

E-mail: Churkina@imv.kiev.ua

Некоторые биохимические характеристики атипичных форм стафилококков (SCVs)

Характеристики	Штаммы SCVs															
	<i>S. aureus</i> 238	<i>S. aureus</i> 302	<i>S. aureus</i> 322	<i>S. aureus</i> 338	<i>S. aureus</i> 339	<i>S. aureus</i> 340	<i>S. aureus</i> 364	<i>S. aureus</i> 384	<i>S. aureus</i> 385	<i>S. aureus</i> 784	<i>S. aureus</i> 810	<i>S. aureus</i> 830	<i>S. aureus</i> 851	<i>S. aureus</i> 900	<i>S. aureus</i> 936	
Диаметр колоний (мм)	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	
Пигментация колоний	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Аэробный рост	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D-манит	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D-манноза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D-трегалоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
α -лактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D-фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
D-глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Восстановле																
ние нитрата	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Фосфатаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Уреаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Коагулаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
(кроличья плазма)																
Лецитиназа	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Гемолиз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Материал и методы

Биопсия костной и мышечной ткани у пациентов с остеомиелитом в Институте ортопедии и травматологии АМН Украины, г. Киев, была проведена как часть стандартного медицинского обследования, что было одобрено Комитетом по этике Института ортопедии и травматологии АМН Украины (Протокол №2 от 6 декабря 2011).

Кусочки костной и мышечной ткани культивировали на Columbia агаре с 5% отмытых овечьих эритроцитов. SSCVs (20 изолятов) были выявлены в популяции родительских штаммов как медленно растущие точечные колонии ((0,1—0,3 мм) после 24—48 ч инкубации при 37°C среди большого числа колоний с нормальной для *Staphylococcus* морфологией, рассматриваемых как родительские колонии.

Морфологию колоний и пигментацию исследовали методом W. E. Kloos et al. [9], образование кислот из углеводов и ферментативные активности (фосфатазная, уреазная, нитрат-редуктазная) были изучены с помощью API-Staph galleries (API System, Biomerieux, Франция), ферментация глюкозы была изучена с использованием метода R. Hugh и E. Leifson [10], каталазная активность была определена инокуляцией небольшого количества исследуемой культуры в капле 3% H₂O₂. Оксидазная активность была изучена по методу A. Faller и K. H. Schleifer [11]; коагулазная активность определялась по методу W. H. Sperber и S. R. Tatini [12]; определение лецитиназной активности проводили в соответствии с рекомендациями А. К. Акатова и В. С. Зуевой [13]; гемолитическая активность определялась на агаре с 5% отмытых кроличьих эритроцитов.

Для оценки аукоотрофности изоляты высевали на агар Мюллера—Хинтона с 2 мкг/диск и 10 мкг/диск гема и менадиона соответственно [14].

Генотипическую идентификацию осуществляли методом tRNA-PCR анализа [15, 16].

Результаты и обсуждение

Идентификация изолятов с нормальной морфологией колоний, выделенных из образцов тканей, показала их принадлежность к *S. aureus* (штаммы 238, 302, 322, 338, 339, 340, 364, 384, 385, 784, 810, 826, 830, 851, 887, 900, 909, 916, 920, 936). Пигментация родительских колоний *S. aureus* была типично желтой. Все 20 выделенных из них SSCVs вырастали в виде беспигментных, нередко каталазоотрицательных колоний а также демонстрировали ряд других характеристик, не свойственных метаболически нормальным стафилококкам: у них отсутствовала лецитиназная (за исключением штаммов *S. aureus* 338, 385, 810, 830), фосфатазная (кроме штаммов 302, 340, 784, 936) и гемолитическая активности. У SCVs *S. aureus* 302, 874, 900, 936 коагулазная активность была выражена слабо (таблица).

Несмотря на то, что коагулазный тест рассматривается как золотой стандарт при идентификации *S. aureus* [17], проведенные исследования показывают, что он является ненадежным при идентификации SSCVs, что является проблемой для лабо-

раторий, не имеющих возможности провести ДНК исследования. Кроме того, у изученных SSCVs стафилококков изменена модель потребления таких углеводов, как сахароза, лактоза, фруктоза (см. таблицу), что согласуется с данными литературы [7].

Выделение и идентификация атипичных форм осложняется ещё тем, что они являются ауксотрофами по гемину, аминокислотам, жирным кислотам. На богатых средах, содержащих в необходимых количествах эти компоненты, SSCVs достаточно быстро реверсируют в свое исходное состояние [8, 18]. Из изученных нами на ауксотрофность 15 штаммов 70% были ауксотрофами по гемину, 26% — по менадиону и 4% по тимидину. Следует отметить, что гемин и менадион вовлечены в формирование электронно-транспортной цепи в клетках атипичных стафилококков [7, 17].

Итак, все изученные SSCVs штаммы теряли ряд типичных для данного рода и вида свойств и характеризовались изменённой морфологией колоний, замедленным ростом, отсутствием пигментации, плазмокоагулязной и лецитиназной активности, а также изменённой формой утилизации углеводов. Эти фенотипические характеристики микроорганизмов усложняют и во многих случаях делают невозможной их идентификацию общепринятыми в клинических лабораториях методами. Поэтому разработка алгоритма идентификации атипичных форм является важной задачей.

Алгоритм выделения и идентификации атипичных форм стафилококков имеет существенные особенности по сравнению с исследованием метаболически нормальных представителей этого рода (рис. 1).

Для выявления атипичных форм проводили высев клинического материала на Columbia agar с 5% отмытых овечьих эритроцитов и инкубировали от 24 до 72 ч. При этом SSCVs вырастали как субпопуляция в популяции родительских штаммов в виде очень маленьких непигментированных, негемолитических колоний. Микроскопически это были грамположительные полиморфные кокки, некоторые — каталазоположительные. На первом этапе диагностики это единственный критерий, ориентируясь на который можно допустить принадлежность бактерий к стафилококкам.

Если у бактериологов нет возможности провести ДНК исследования, а этот метод имеет преимущества перед фенотипическими методами идентификации в случае атипичных форм стафилококков, следует обратить внимание на способность SSCVs к реверсии и провести пассажи на 5% кровяном и триптозном агаре соответственно для ауксотрофов по гемину и менадиону. Через 2—3 пассажа на чаш-

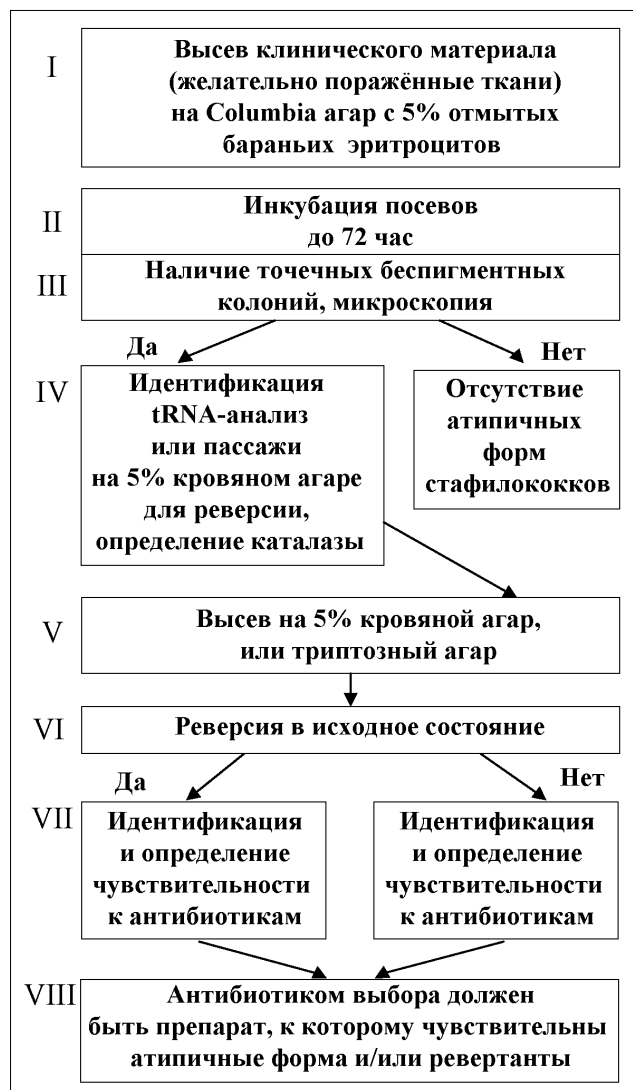


Рис. 1. Алгоритм идентификации атипичных форм стафилококков.

ках вырастают ревертанты, что и позволяет отнести выросшую субпопуляцию к SSCVs. По нашим данным, 90% SSCVs способны к реверсии. Затем проводится идентификация ревертантов общепринятыми для стафилококков методами и тестирование на чувствительность к антибиотикам (рис. 1).

Идентификация атипичных форм стафилококков может также быть осуществлена с помощью генотипических методов. На рис. 2. представлены результаты идентификации SCVs штаммов *S.aureus* с использованием tRNA — анализа полиморфизма длины нуклеотидных последовательностей. Все исследуемые штаммы были идентифицированы как *S.aureus*. Однако, по данным W. J. Looney [17], даже методы молекулярной идентификации не всегда позволяют корректно идентифицировать эти микроорганизмы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для атипичных форм стафилококков оп-

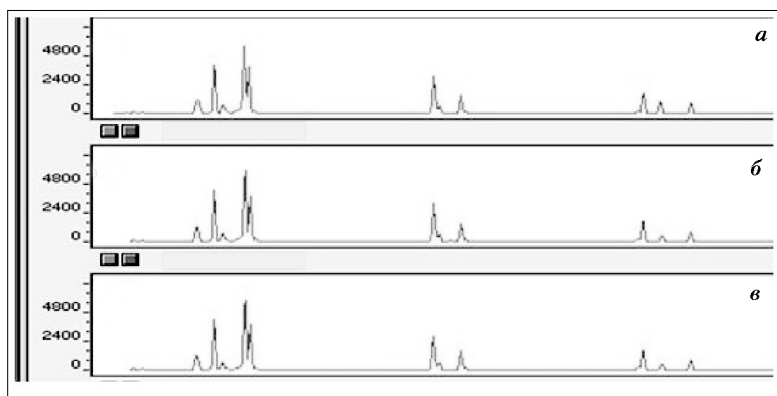


Рис. 2. Результаты анализа tRNA-PCR отпечатков (размеры фрагментов от 50 до 100 т. п. н.) 3 штаммов SCVs *S. aureus*.

Подписи: отпечатки сопоставлены; X — длина амплифицированного tRNA межгенной области; Y — интенсивность амплифицированных фрагментов в флуоресцентных единицах: а — SCVs *S. aureus* 238; б — SCVs *S. aureus* 810; в — SCVs *S. aureus* 900.

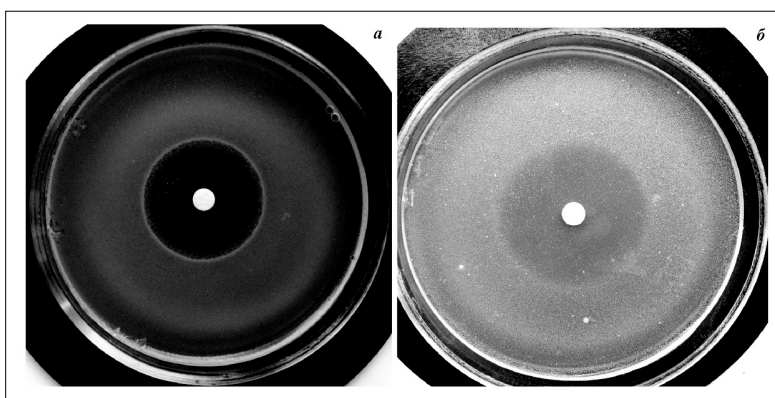


Рис. 3. Идентификация метаболически нормального стафилококка и атипичных форм *S. aureus* (SCVs) с помощью препарата Диастаф.

а — *S. aureus* 238 SA-SCVs 238 (зона задержки роста вокруг диска 30 мм); б — SA-SCVs 238 (зона задержки роста вокруг диска 35 мм).

тимальным подходом к идентификации является полифазный анализ.

Проведённые нами ранее исследования показали, что препарат «Диастаф» (бумажные диски, содержащие 5 мкг на диск антибиотика батумина) обеспечивает быструю и надёжную идентификацию микроорганизмов рода *Staphylococcus* с нормальной морфологией колоний. Было показано, что зоны задержки роста для *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* и ряда других *Staphylococcus* spp. были 17–29 мм, тогда как все другие грамположительные микроорганизмы: *Demacoccus* spp. (5 изолятов), *Enterococcus faecalis* (84), *Kocuria* spp. (17), *Kytococcus* spp. (3), *Micrococcus* spp. (84), *Planococcus* spp. (1), *Streptococcus pyogenes* (36) и *Streptococcus viridans* (30) не образовывали зон задержки роста. Исключение составляли 10 изолятов

Corynebacterium xerosis, которые дали зону задержки роста диаметром 10 мм [19].

Представлялось интересным расширить знания о возможности применения препарата Диастаф для идентификации SSCVs. Присутствие зоны задержки роста вокруг диска с батумином от 17 и более мм говорит о том, что исследуемый изолят относится к роду *Staphylococcus* (рис. 3). Все 20 SSCVs дали зоны задержки роста вокруг диска с батумином диаметром 25 мм и более, что свидетельствует о том, что изученные штаммы принадлежат к роду *Staphylococcus*.

Надёжность идентификации SSCVs с помощью препарата «Диастаф» была подтверждена методом молекулярной идентификации с использованием tRNA-анализа полиморфизма длины нуклеотидных последовательностей.

Диски, пропитанные батумином надёжно идентифицировали SCVs *S. aureus*, хотя последние существенно отличались от родительских штаммов и трудно поддавались идентификации стандартными методами. Идентификация SSCVs с помощью дисков, пропитанных батумином, технически проста и может облегчить работу практических врачей.

Заключение

Все изученные SCVs *S. aureus* по своим физиолого-биохимическим характеристикам существенно отличались от родительских штаммов и не соответствовали описанию рода *Staphylococcus*. Изоляты характеризовались изменённой морфологией колоний, замедленным ростом, отсутствием пигментации, плазмокоагулазной и лецитиназной активности, а также изменённой формой утилизации углеводов, поэтому их идентификация общепринятыми в клинических лабораториях методами затруднена, а во многих случаях невозможна.

Нами разработан алгоритм идентификации этого патогена, показаны преимущества молекулярных методов, в частности tRNA-PCR анализа, а также препарата «Диастаф». Диагностический препарат надёжно идентифицирует SCVs, которые принадлежат к роду *Staphylococcus*, о чём свидетельствуют зоны задержки роста культуры вокруг диска, пропитанного батумином, диаметром ≥ 25 мм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wei H.H., Wu K.G., Sy L.B., Chen C.J., Tang R.B. Infectious endocarditis in pediatric patients: analysis of 19 cases presenting at a medical center. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; 43: 430–437.
2. Meyer E., Schwab F., Gastmeier P. Nosocomial methicillin resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia — epidemiology and trends based on data of a network of 586 German ICUs (2005–2009). *Eur J Med Res*. 2010; 15: 514–524.
3. van Hal S.J., Jensen S.O., Vaska V.L. et al. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 2: 362–386.
4. von Eiff C., Bettin D., Proctor R.A., Rolaufts B., Lindner N., Winkelmann W., Peters G. Recovery of small colony variants of *Staphylococcus aureus* following gentamicin bead placement for osteomyelitis. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 1250–1251.
5. Kahl R., Herrmann M., Schulze Everding A., Koch H.G., Becker K., Harms E., Proctor R.A., Peters G. Persistent infection with small colony variants strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 1998; 177: 1023–1029.
6. Бідненко С.І., Лютко О. Б., Озерянська Н. М., Чуркіна Л. М. Мікрофлора навколопротезних тканин за асептичної нестабільності ендопротезу кульшового суглоба та особливості її чутливості до антибіотиків. *Biomed Biosocial Anthropol* 2010; 15: 87–91.
7. McNamara P.J., Proctor R.A. *Staphylococcus aureus* small colony variants, electron transport and persistent infections. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 117–122.
8. Чуркіна Л.Н., Бідненко С.И., Марио Ванечутте и др. Характеристики атипичных форм стафилококков (SCVs), выделенных от больных остеомиелитом. *Антибиотики и химиотер* 2010; 55: 5–6: 36–40.
9. Kloos W.E., Schleifer K.H. Genus *I.V.* *Staphylococcus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2 / Ed. Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E., Holt J.G. Baltimore, Williams & Wilkins; 1986; 1013–1035.
10. Hugh R., Leifson E. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative Gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 1953; 66: 24–26.
11. Faller A., Schleifer K.H. Modified oxidase and benzidine tests for separation of staphylococci. *J Clin Microbiol* 1981; 13: 1031–1035.
12. Sperber W.H., Tatini S.R. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl Microbiol* 1975; 29: 502–505.
13. Акамов А. К., Зуева В. С. Стафилококки. Изд-во «Медицина», М.: 1983.
14. Proctor R.A., van Langevelde P., Kristjansson M. et al. Persistent and relapsing infections associated with small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 95–102.
15. Vanechoutte M., Boerlin P., Tichy H.-V. et al. Comparison of PCR-based DNA fingerprinting techniques for the identification of *Listeria* species and their use for atypical *Listeria* isolates. *Int J Syst Bacteriol* 1998; 48: 127–139.
16. Supre K., De Vlieghe S., Sampimon O.C., Zadoks R.N., Vanechoutte M., Baele M., De Graef E., Piepers S., Haesebrouck F. Use of tRNA-intergenic spacer PCR combined with capillary electrophoresis to identify coagulase-negative *Staphylococcus* species originating from bovine milk and teat apices. *J Dairy Sci* 2009; 92: 3204–3210.
17. Looney W.J. Small colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Br J Biomed Sci* 2000; 57: 317–322.
18. Baumert N., von Eiff C., Schaaff F. et al. Physiology and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* small colony variants. *Microb Drug Resist* 2002; 1: 253–260.
19. Churkina L., Kiprianova E., Bidnenko S. et al. Antibiotic batumin for diagnostics of staphylococci and treatment of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Врачебное дело* 2009; 1–2: 55–61.

Новый подход к постэкспозиционному лечению бешенства комплексом иммуно- и химиотерапии в Беларуси

Н. П. МИШАЕВА¹, В. И. ВОТЯКОВ¹, Л. П. ТИТОВ¹, В. А. НАРАЛЕНКОВ²,
М. Р. НЕХАЙ², В. В. СИНКЕВИЧ³, А. И. КУРЛУКОВ³, В. А. ГОРБУНОВ¹

¹ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск
Региональные центры гигиены и эпидемиологии Гомельской² и Витебской³ областей, Гомель, Витебск

A New Approach to Postexposure Treatment of Rabies by Complex of Immuno- and Chemotherapy in Belarus

N. P. MISHAYEVA, V. I. VOTYAKOV, L. P. TITOV, V. A. NARALENKOV,
M. R. NEKHAY, V. V. SINKEVICH, A. I. KURLUKOV, V. A. GORBUNOV

Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk
Regional Centers of Hygiene and Epidemiology of Gomel and Vitebsk Regions, Gomel, Vitebsk

Разработан метод превентивного лечения бешенства с использованием комплекса иммуно- и химиопрепаратов. В качестве этиотропного химиопрепарата применен рифампицин, у которого в эксперименте выявлены свойства удлинять инкубационный период и повышать выживаемость лабораторных животных, заражённых фиксированным и уличным штаммами вируса бешенства. Защитные механизмы рифампицина против бешенства могут быть связаны с ингибированием транскрипции РНК, а также иммуномодулирующей функцией макрофагов, дендритных клеток, В- и Т-клеток. С 1992 г. рифампицин с разрешения Минздрава Республики Беларусь применяется в комплексе с антирабической вакциной для постэкспозиционного лечения бешенства у лиц, тяжело укушенных больными животными (волки, лисы, собаки). За 18-летний период (1992—2009 гг.) применения комплексной химио- и иммунотерапии в Беларуси не было ни одного случая заболевания гидрофобией людей даже при тяжелейших укусах волков, несовместимых с жизнью (проникающие ранения черепа, скальпирование, множественные укусы).

Ключевые слова: бешенство, постэкспозиционное лечение, антирабическая вакцина, рифампицин.

A method for preventive treatment of rabies with a complex of immuno- and chemotherapeutics was developed. Rifampicin was used as an etiotropic drug. In the experiments on laboratory animals infected with fixed and street strains of rabies virus it was shown to prolong the incubation period and to increase the survival rate. The protective mechanisms of rifampicin against rabies should be associated with inhibition of RNA transcription, as well as immunomodulating function of macrophages, dendritic cells, B- and T-cells. Since 1992, after the approval of the Ministry of Health of Belarus rifampicin is used in complex with antirabic vaccine for postexposure treatment of rabies in people after severe bites by infected animals (wolves, foxes, dogs). For an 18-year period (1992—2009) of integrated application of chemo- and immunotherapy in Belarus there was not registered any case of hydrophobia in people even after the heaviest wolf bites, incompatible with life (penetrating injuries of the skull, scalping, multiple bites).

Key words: rabies, postexposure treatment, antirabic vaccine, rifampicin.

Введение

Актуальность проблемы бешенства в Республике Беларусь, как и в мире в целом, неуклонно нарастает в последние 15—20 лет.

Считается, что применение противовирусных химиопрепаратов может быть эффективным именно при бешенстве, так как всегда известен момент инфицирования человека и имеется реальная возможность подавить репродукцию ви-

руса на самых ранних этапах его проникновения в организм. В Республике Беларусь на базе РНПЦ эпидемиологии и микробиологии с 1980 г. в системе *in vivo* проводился поиск ингибиторов вируса бешенства среди готовых лекарственных форм препаратов. В результате исследований установлено, что рифампицин оказывал выраженный ингибирующий эффект на репродукцию вируса бешенства, вызывая повышение выживаемости подопытных животных, заражённых 10—100 LD₅₀ вируса фиксированного бешенства, на 50—83,4% и среднюю продолжительность жизни в 1,7—2,3 раза. При низкой инфицирую-

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции:
E-mail: mishaeva@rambler.ru

шей дозе (2—5 LD₅₀) выживаемость животных составляла 100% [1, 2]. Аналогичные данные получены чешскими исследователями [3] в опытах как с фиксированными, так и с дикими штаммами рабического вируса. Биологический эффект рифампицина реализуется на уровне специфической ингибиции функции ДНК-зависимой РНК-полимеразы без нарушения функции таковой клеток хозяина.

Результаты экспериментальных исследований послужили основой внедрения рифампицина в практику здравоохранения Беларуси. Было получено разрешение Фармкомитета Минздрава СССР (Протокол № 13 от 22.07.1988 г) на медицинское применение рифампицина: «по дополнительным показаниям — в качестве противовирусного средства для протективного комплексного лечения бешенства в инкубационном периоде». Препарат рекомендовано применять в фармакопейных дозах с первого дня обращения укушенных лиц в течение 5—7 дней в зависимости от тяжести укусов, нанесённых больными бешенством животными на фоне пассивно-активной иммунизации (антирабическая вакцина, АИГ).

Цель исследования — анализ результатов применения в Беларуси рифампицина в постэкспозиционной комплексной профилактике гидрофобии у лиц, тяжело покусанных животными с лабораторно подтвержденным диагнозом «бешенство».

Материал и методы

Рифампицин: в экспериментах использовали рифампицин производства ОАО «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь), в виде капсул для системного лечения.

Вакцины: для вакцинации использовали культуральную очищенную инактивированную сухую вакцину «Rabivac-Внуково-32» с активностью не менее 2,5 МЕ производства России (г. Уфа). Схема иммунизации включала 6 инъекций, ревакцинация — на 10-й и 20-й дни после последней инъекции.

Иммуноглобулин: для пассивной иммунизации использовали АИГ — антирабический гетерологичный иммуноглобулин производства «Биолек» (г. Харьков, Украина) с титром специфических антител не ниже 150 МЕ/мл. Вводился в дозе 40 МЕ на 1 кг массы тела взрослого или ребёнка.

Схема использования рифампицина: рифампицин для протективного лечения бешенства применяли согласно Инструкции, утвержденной Фармкомитетом МЗ СССР 2.XI.88 г. (вместо Инструкции от 5.06.87 г.). Препарат взрослым назначали внутрь в суточной дозе 0,45–0,6 г. при оцарапывании или лёгких повреждениях. Длительность лечения составляла 5–7 дней. При тяжёлых укусах (скальпирование, укус в лицо, шею, ампутация пальцев рук и т. д.) рекомендована доза 0,9 г в день в течение 7–10 дней. Детям до 12-летнего возраста рифампицин назначали из расчёта 8–10 мг/кг. Суточную дозу делили на 2–3 приёма. Во всех случаях рифампицин был рекомендован для использования с первого дня обращения укушенного пациента. Одновременно с рифампицином в день обращения пострадавшие получали АИГ — антирабический иммуноглобулин (гетерогенный — 40 МЕ / кг), а через 24 часа делали первую инъекцию антирабической вакцины «Rabivac-Внуково-32».

Экспериментальные данные лаборатории: экспериментальная работа проводилась на белых мышах разной массы,

которые были заражены фиксированным вирусом бешенства (штамм CVS). Заражённых вирусом бешенства мышей лечили: а) рифампицином, б) рифампицином в комплексе с вакциной, в) комплексом рифампицин + вакцина + иммуноглобулин. В качестве контрольной группы были использованы заражённые мыши, не получавшие лечения.

Пациенты: статистические данные о людях, которые были укушены больными животными, представлены Республиканским центром эпидемиологии, гигиены и общественного здоровья (www.rcheph.by).

Клинические данные: информация о клиническом течении заболеваний пациентов была собрана из медицинских записей пациентов с диагнозом «бешенство» (адрес электронной почты: GIKB@mail.ru).

Статистический анализ: различия между сравниваемыми показателями $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение

Комбинированная иммуно-химиотерапия бешенства. Впервые рифампицин как средство экстренной профилактики гидрофобии был применен (совместно с антирабическими вакцино-сывороточными препаратами) в 1992 г. по жизненным показаниям у женщины, тяжело покусанной бешеным волком.

Пример 1. Пострадавшая К., 65 лет, поступила в стационар 10.XI.92 г. с диагнозом: скальпирование волосистой кожи черепа, множественные рваные и глубокие раны верхних конечностей и туловища, травматическая ампутация IV и V пальцев левой кисти и V пальца правой кисти, сквозная рана нижней губы и преддверия рта, множественные укушенные раны рук, лица, шеи, туловища. По жизненным показаниям женщине было наложено 27 швов. С первого же дня больной был назначен рифампицин по 0,9 г в день, введен антирабический иммуноглобулин (АИГ). Рифампицин был назначен потому, что нанесённые раны были несовместимы с жизнью: прежде такие увечья всегда заканчивались смертью [4]. Пациентка получала рифампицин 7 дней на фоне антирабической вакцины.

Учитывая тяжесть травм, пациентка находилась в стационаре 35 дней. Выписана в удовлетворительном состоянии, а спустя 2,5 месяца после окончания курса прививок в ожоговом центре ей была успешно сделана пластическая операция по пересадке кожи.

В связи с этим приводим аналогичный случай тяжёлых укусов женщины волком, приведшей к гибели пострадавшей, несмотря на своевременно назначенный курс иммунизации антирабической вакциной и введение больших доз иммуноглобулина (но без рифампицина).

Пример 2. Пострадавшая Р., 63 года, была покусана бешеным волком, причём характер повреждений был практически такой же, как и в примере 1: вся волосистая часть головы вместе с кожей отсутствовала, на левой руке не было трёх пальцев, на правой — двух; лицо представляло сплошную бесформенную рану: не было ни носа, ни щек, ни губ; на

Таблица 1. Исходы бешенства у лиц, покусанных больными животными (диагноз подтвержден лабораторно), до и после применения рифампицина для экстренной профилактики инфекции

Периоды (годы)	Число покусанных	Источник инфицирования	Обращение за антирабической помощью	Лечение		Исход (летальность среди лиц, своевременно получивших антирабическую помощь)
				АИГ	Вакцина	
До применения рифампицина (1975—1991 гг.)	3	Лисица	Не обращались (7 чел.)	Не назначался	Не получали	Гидрофобия с летальным исходом
	2	Кошка				
	2	Укусы отрицали	Обращались (9 чел.)	по 45 мл по 5 мл по 5 мл	По 5 мл ежедневно в течение 25 дней	9/16 (56,3±16,52%)
	3	Волк				
	3	Кошка				
После применения рифампицина (1992—2009 гг.)	3	Лисица	Обращались	Вакцина + АИГ + рифампицин		Гидрофобия предотвращена
	16	Волк				
	38	Лисица				
	52	Собака				
	16	Кошка				
Всего	125	Енотовидная собака				125 (0±5,21%)

Примечание. * При сравнении показателей летальности в группах, получавших лечения вакциной с АИГ, но без рифампицина (56,3%) и при лечении комплексом иммуно- и химиотерапии (летальность 0%) различия статистически достоверны (< 0,01).

теле множественные раны, на левом предплечье рана размером 10 x 5 см. Пострадавшей был введен АИГ дважды в дозе 22,5 мл и 45 мл, она получила также 6 инъекций вакцины (но без рифампицина). После окончания курса иммунизации в сыворотке крови пострадавшей. Р. были выявлены вируснейтрализующие антитела (в разведении 1:200). Учитывая это, пациентка была госпитализирована в ожоговый центр для пластической операции (пластика дефекта тканей в области головы). При попытке её проведения у больной развилась гидрофобия с летальным исходом.

Пример 3. Второй случай применения рифампицина был связан с лечением маленького ребенка (1 год и 8 мес.), тяжело покусанного в шею домашней бешеной собакой. Дополнительно к вакцине и АИГ по жизненным показаниям пациенту был назначен рифампицин в дозе 0,15 мг 2 раза в сутки в течение 5 дней. После проведенного комплексного лечения ребенок остался жив, чувствует себя удовлетворительно. Однако в тот момент, как отмечал впоследствии лечащий врач, назначивший комплексное лечение в связи с тяжестью укуса, было опасение, что организм маленького ребенка не выдержит такой нагрузки, а иммунная система в связи с укусом в шею не успеет своевременно отреагировать выработкой антител на введенную вакцину. И только назначение рифампицина — активного ингибитора вируса бешенства — помогло, по мнению лечащего врача, сохранить ребенку жизнь.

После успешного исхода применения рифампицина в комплексе с антирабической вакциной и АИГ для постэкспозиционного лечения взрослого и ребенка, состояние которых в связи с тяжёлыми укусами опасной локализации, врачи считали безнадежным, рифампицин

начали назначать в других районах Республики Беларусь при любых тяжёлых повреждениях, нанесённых бешеными животными с лабораторно подтверждённым диагнозом. В табл. 1 представлены результаты применения рифампицина в комплексе с антирабической вакциной с 1992 по 2009 г. в сравнении с предыдущим периодом (1975—1991 гг.), когда рифампицин не применялся. Из неё видно, что в период до применения рифампицина от укусов бешеными животными погибли 16 человек. Из них 7 не обращались за антирабической помощью, а 9 погибли от бешенства, несмотря на своевременное обращение за медицинской помощью и проведённый полный курс антирабического лечения вакциной в комбинации с АИГ.

Наблюдение 4. В июле 1976 г. гр-ку С., 53 лет, укусила кошка в нижнюю треть правой голени. Пострадавшая своевременно обратилась за антирабической помощью, ей был назначен АИГ и полный курс прививок вакциной. Несмотря на своевременно начатое лечение иммунопрепаратами (но без рифампицина), через 7 месяцев у больной развилась гидрофобия с летальным исходом.

Считается, что развитие гидрофобии у привитых после укусов кошками связано с заражениями их в сельской местности от лисиц, среди которых циркулируют высоковирулентные штаммы лиссавирусов. В таких случаях даже своевременно начатое лечение антирабической вакциной и АИГ не всегда эффективно.

Случай 5. 24 июля 1975 г. мужчина 49 лет был на рыбалке. Уснул на сене, проснулся от сознания, что его кто-то укусил в надбровную дугу. Увидел убежавшего лисёнка. В тот же день обратился за медицинской помощью. У левого виска на лбу были видны 3 поверхностные ранки. Пострадавшему вве-

Таблица 2. Применение рифампицина в комплексной профилактике бешенства в Беларуси в 2001–2009 гг.

Показатели оказания антирабической помощи	2005 г.	2006 г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	Итого
Обратились с жалобами на укусы животных, абс. число	27415	25391	25603	23414	23793	125616
Из них пострадали от животных с установленным диагнозом «бешенство», абс. (%)	1388 (5,1)	378 (1,5)	751 (2,9)	875 (1,5)	1106 (2,9)	4498 (3,58)
Назначено антирабических прививок из числа обратившихся, абс. (%)	6818 (24,9)	6544 (24,7)	6269 (24,1)	9770 (34,1)	10849 (42,6)	40250 (32,04)
Количество лиц, получивших прививку и рифампицин от общего числа прививаемых, абс. (%)	3259 (55,6)	3794 (60,2)	3923 (66,0)	4325 (64,1)	5656 (56,2)	20057 (49,83)
Количество лиц, получивших рифампицин в виде монопрепарата* (абс.,%)	—	16 (0,42)	137 (3,49)	234 (16,04)	1071 (5,41)	1458 (7,26)

Примечание. * — не отмечено ни одного случая заболевания.

ден АИГ (20 мл) и назначен полный курс вакцинации. Вакцину вводили амбулаторно, ревакцинацию провели на 10-й и 20-й дни. Несмотря на это, через 4 дня после ревакцинации у пострадавшего появились симптомы гидро- и аэрофобии, через 7 дней пациент умер. Диагноз: бульбарная форма бешенства.

С 1992 г. по 1998 г. комбинированная схема лечения (вакцина + рифампицин + АИГ) была применена нами у 125 человек (см. табл. 1), покусанных волками (16), лисицами (38), енотовидными собаками (3), домашними собаками (52) и кошками (16). Назначение рифампицина в комплексе с вакциной и АИГ позволило предотвратить у пострадавших развитие случаев заболеваний, несмотря на тяжёлые укусы, в том числе нанесённых и лисами.

Случай 6. В сентябре 1995 г. гражданин Л. был покусан лисицей (бешенство подтверждено лабораторно) в область ногтевой фаланги 2-го и 3-го пальцев правой кисти. Хотя раны были размером 0,3×0,3 см, такие лисьи укусы считаются тяжёлыми. Пострадавшему были назначены рифампицин по 0,9 г в сутки в течение 7 дней и антирабическая вакцина (без АИГ). Комплексное лечение (вакцина + рифампицин) оказалось эффективным. Пострадавший не заболел.

Постепенно препарат рифампицина начали применять и в других областях республики при тяжёлых укусах или позднем обращении пострадавших за антирабической помощью. В 1999 г. рифампицин был официально разрешен Министерством здравоохранения Беларуси (Приказ № 64) для комплексного применения при бешенстве. При множественных повреждениях рифампицин рекомендовано назначать в комплексе с вакциной и специфическим АИГ. Данные о возможности применения рифампицина при бешенстве с 1993 г. включены в пособие для врачей «Лекарственные средства» М. Д. Машковского [5].

В настоящее время рифампицин широко применяется в комплексном лечении бешенства на всей территории Беларуси [6, 7]. Как видно из данных, представленных в табл. 2, рифампицин назначается более чем 50% лиц от числа получивших назначение на прививки, при этом с каждым годом частота назначений рифампицина возрастает.

Практика показала, что применение рифампицина в комплексе с антирабической вакциной позволяет предупредить развитие гидрофобии даже при позднем обращении пострадавших за антирабической помощью.

Случай 7. Гр-ку Т.Е., 61 года, проживающую в пригороде Минска (15 км от города), в январе 1997 г. покусала лисица, которая проникла в сарай, где содержались куры, и застряла между досками. Хозяйка вытащила лисицу, убила её и сняла шкуру. При этом лисица покусала и ослепила женщину. И хотя у лисицы лабораторно было подтверждено бешенство, пострадавшая отказалась от прививок. И только через 20 дней после случившегося, по настоянию приехавшей в деревню дочери, которой она рассказала про укус, потерпевшая обратилась за медицинской помощью и была госпитализирована в клинику больницы. Там ей был назначен рифампицин по 0,3 г х 3 раза в день в течение 5 дней параллельно с вакцинотерапией. В настоящее время гр. Т. Е. жива, чувствует себя хорошо (срок наблюдения 7,5 года).

Случай 8. Позднее начало лечения ребёнка, покусанного бешеной собакой.

Пострадавший А., в возрасте 2 лет, был тяжёло покусан домашней собакой в подбородок и околоушную область. Лечение не было назначено, так как собака была домашняя и за ней установили наблюдение. Спустя 15 дней у собаки изменилось поведение, она сорвалась с цепи и покусала хозяина. При вирусологическом обследовании мозга собаки выявлены тельца Негри. С момента укуса ребёнка прошло 2 недели. Он срочно был госпитализирован, назначено интенсивное комплексное лечение антирабической вакциной с АИГ и рифампицином по схемам, описанным выше. Ребёнок не заболел, чувствует себя удовлетворительно (срок наблюдения 14 лет).

Монохимиотерапия бешенства. За период, прошедший со времени внедрения рифампицина в антирабическую практику Беларуси, нередко отмечались случаи, когда покусанные неизвестными животными (лисицы, бродячие собаки и кошки) категорически отказывались от прививок. Таким пострадавшим с 2006 г.

врачи начали назначать рифампицин в виде монопрепарата, от приёма которого пострадавшие лица обычно не отказывались. За 4 года рифампицин в виде монопрепарата был назначен 1458 лицам, отмечавшим контакт с подозрительными на бешенство животными (7 лисиц, 1 енотовидная собака, забредшие в населённые пункты, с которыми играли дети или которых пытались отловить взрослые; остальные случаи — лёгкие укусы, ослюнение или оцарапывание бродячими кошками и собаками). Пострадавшие отказывались от прививок, но сами просили назначить им рифампицин. Во всех указанных случаях не отмечено ни одного случая заболевания таких пострадавших. За этот же период в республике от бешенства погибло семь человек при менее опасных повреждениях (снятие шкуры с лисиц, укус собакой, кошкой, енотовидной собакой), среди которых пять человек не обращались за медицинской помощью, а двоим своевременно было назначено лечение (иммуноглобулин + вакцина, но без рифампицина). При этом у 10-летнего ребёнка, укушенного бродячей кошкой, смерть наступила в процессе иммунизации, а у 67-летней женщины, покусанной домашней собакой, гидрофобия развивалась через 3 мес. после окончания курса прививок.

Локальное применение рифампицина для обработки мест укусов, нанесённых бешеными или подозрительными на бешенство животными. Известно, что бешенство — не только нейровирусная, но и раневая инфекция. В приступе бешенства животные наносят человеку множественные укушенные и рваные раны, иногда обширные, которые обильно инфицированы вирусом бешенства и представляют собой своеобразное «депо», из которого возбудитель продолжительное время поступает в ЦНС. Кроме того, в слюне животных присутствуют патогенные аэробные и анаэробные бактерии (*Capnocytophaga canimorsus*, *Eikenella corrodens*, *Pasteurella multocida* и др.), вызывающие лимфоаденопатию региональных лимфоузлов, боль и уплотнение в месте укуса, иногда хроническую инфекцию и септицемию с подъёмом температуры [8].

Согласно рекомендациям ВОЗ укушенные раны следует немедленно промыть струей воды с мягким мылом, обработать края раны 70%-ным спиртом или водным раствором йода, после чего рекомендуется применять антирабический иммуноглобулин с тщательной инстилляцией вглубь раны или инфильтрацией вокруг раны.

В связи с тем, что в Беларуси антирабический иммуноглобулин не производится, а закупается за рубежом в ограниченном количестве в связи с его высокой стоимостью, для обработки ран в ре-

спублике он не применяется. В результате полного обеззараживания укушенных ран не наблюдается, часто развиваются осложнённый нагноительный процесс или флегмона (при запоздалом обращении), что требует длительного лечения.

Нами для подавления вируса бешенства в ротах инфекции и предотвращения развития осложнений использовался рифампицин, учитывая, что он эффективно подавляет размножение бактерий и грибов. Как показал опыт применения рифампицина для обработки мест укусов [9—11], во всех случаях наблюдали более быстрое заживление ран, при этом в 80% случаев препарат предохранял от развития нагноительного процесса, образования больших рубцов. При такой обработке раны заживали, чаще всего, первичным натяжением, послеоперационный период протекал, как правило, без осложнений, швы снимались через 6—7 суток [11]. Это позволило рассматривать рифампицин как альтернативу антирабическому иммуноглобулину при локальном применении [10].

Обсуждение результатов

Стратегия предупреждения развития бешенства у инфицированных рабическим вирусом людей со времен Л. Пастера базируется на комбинированной иммунотерапии антирабической вакциной и АИГ. Однако известно, что АИГ, применяемый для создания пассивного иммунитета в случаях, когда ожидается короткий инкубационный период, интерферирует с вакциной и блокирует индукцию вирусспецифических CD8+ цитотоксических Т-клеток [12], что, возможно, является причиной неудач антирабического лечения [13]. Это особенно актуально на современном этапе, когда во всем мире наблюдается рост числа пациентов с иммунодефицитами, в том числе ВИЧ-инфицированных, когда назначение вакцины не эффективно [14—16]. Кроме того, АИГ, особенно гетерологичный, реактогенен и имеет ряд противопоказаний. В подобных случаях дополнительную (а может быть — основную) роль могут сыграть этиотропные химиопрепараты. Как показал 18-летний опыт применения рифампицина, в Беларуси не было ни одного случая заболевания или осложнения даже при нанесении человеку бешеными животными повреждений, не совместимых с жизнью. Рифампицин, как указывалось выше, обладает как противовирусным, так и антибактериальным эффектом, что значительно повышает возможности его применения в борьбе с бешенством.

В то же время при назначении АИГ с вакциной (но без химиопрепаратов с противовирусной активностью) нередко имели место случаи развития гидрофобии даже при лёгких укусах большими животными [13]. Так, в России, по данным



Алгоритм комплексной химио- и иммунопрофилактики бешенства при контакте с дикими и домашними животными (больными или подозрительными на бешенство).

А. А. Мовсесянца и Т. А. Бектемирова [14], из 148 случаев гидрофобии, развившихся у лиц, получивших лечение вакцино-сывороточными препаратами (без химиопрепаратов), 51 (34,5%) человек умер в процессе иммунизации, а 97 (65,5%) — после полного курса специфического лечения, при этом среди полностью привитых 38 (39,2%) человек умерли через 10—29 дней после окончания лечения. По нашим наблюдениям, в Беларуси заболеваемость гидрофобией среди лиц, получивших после укусов бешеными животными от 5 до 45 мл АИГ и полный курс антирабической вакцины (но без рифампицина), составила 56,3%. А за последующие 18 лет (1992—2009 гг.) из 20057 лиц, тяжело покусанных больными бешенством животными, получивших прививки и рифампицин, не было зарегистрировано ни одного случая заболевания или осложнения даже при нанесении человеку повреждений, не совместимых с жизнью.

В заключение приводим «невероятный» случай успешного предотвращения гидрофобии у женщины, жестоко покусанной волком в 2003 г. и получавшей лечение рифампицином локально и системно.

Случай 9. В хирургическое отделение была доставлена гражданка М. 66 лет, покусанная волком, с диагнозом: множественные обезображивающие раны лица и скальпированные раны волосистой час-

ти головы, частичный отрыв носа, открытый перелом основания черепа (повреждение решетчатой кости), отрыв левой ушной раковины, верхнего и нижнего века правого глаза, обширные дефекты кожи лба. Травматический шок.

В приёмном покое раны были обильно промыты мыльным раствором, затем раствором рифампицина. Края ран обработаны раствором йода, раны обколоты сначала раствором рифампицина, а затем и АИГ. Ввиду явных косметических дефектов на раны после обработки рифампицином и АИГ были наложены наводящие швы. Введен АИГ внутривенно. Назначен рифампицин в капсулах по 0,45 г два раза в день в течение 9 дней. Согласно инструкции, назначена вакцина, хотя известно, что при попадании рабического вируса в ЦНС назначение вакцины бессмысленно. Тяжесть нанесённых волком повреждений была такова, что перевязки женщине делали под наркозом. При перевязках пострадавшей проводилась дополнительная обработка открытых участков ран сухим рифампицином, в результате раны зажили первичным натяжением, лишь в области углов ран отмечены единичные нагноения. Через 2 мес. после окончания курса лечения пациентке в ожоговом центре проведена аутодермопластика повреждённых частей головы и лица. В настоящее время состояние больной удовлетворительное.

Этот беспрецедентный случай спасения человека от заболевания бешенством заслуживает внимания наличием тяжелейших повреждений, при которых инкубационный период сокращается до нескольких дней и антирабическая вакцина обычно не эффективна. Это и внутримозговое инфицирование (открытая черепно-мозговая травма с переломом решетчатой кости, повреждение глаза), и множественные укусы головы (скальпирование, отрыв носа, ушной раковины и слюнной железы), и 65-летний возраст (антитела в таком возрасте образуются в низких титрах, медленно), и серьёзное хирургическое вмешательство (аутодермопластика), которое часто провоцирует развитие гидрофобии. Мы считаем, что только комбинированное локальное и системное применение рифампицина и АИГ (антитела тоже являются ингибиторами внеклеточного вируса) позволило спасти жизнь потерпевшей.

Из изложенного видно, что применение при бешенстве антивирусных химиопрепаратов местно и локально является лучшим доказательством правильности выбранного белорусскими учеными и практиками направления в борьбе с тяжелейшей инфекцией человека, вселяющей ужас в течение нескольких тысячелетий. Алгоритм постэкспозиционной профилактики бешенства комплексом химио- и иммунопрофилактики, применяемый в Беларуси, представлен на рисунке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубович И. К., Мишаева Н. П., Вотяков В. И. Защитное действие рифампицина при экспериментальной рабической инфекции белых мышей. *Антибиотики и химиотер* 1989; 34: 2: 123—125.
2. Зубович И. К., Мишаева Н. П., Вотяков В. И. О повышении эффективности иммунотерапии бешенства с помощью рифампицина в эксперименте. *Антибиотики и химиотер* 1991; 36: 10: 31—33.
3. Sodja I. Экспериментальная химиотерапия бешенства. Предварительные результаты. *Acta virol* 1986; 1: 63—68.
4. Нехай М. Р., Мишаева Н. П., Грачев Ю. А. Применение рифампицина для предупреждения гидрофобии у лиц с тяжёлыми укусами бешеными животными. Постэкспозиционная профилактика бешенства в Республике Беларусь (вакцинация, химиотерапия, патогенез, диагностика, источники инфекции). Минск, 1998; 221—228.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. 2003; 14 издание. М.: 2: 318.
6. Мишаева Н. П., Вотяков В. И., Зубович И. К. и др. Применение рифампицина для постэкспозиционного комплексного лечения бешенства. Метод реком. Минск, 1998; 26.
7. Мишаева Н. П., Вотяков В. И., Тутов Л. П. Бешенство и другие лиссавирусные инфекции человека. Проблемы иммуно- и химиотерапии. Минск, 2002; 280.
8. Francis D. P., Holmes M. A., Brandon G. *Pasteurella multocida* infections after domestic animal bites and scratches. *T. G Amer Med Ass* 1975; 33: 1: 42—45.
9. Мишаева Н. П., Зубович И. К., Статкевич В. П. и др. Метод антивирусной обработки ран, инфицированных вирусом бешенства. *Достиж. мед. науки в Беларуси*. 2000; 34.
10. Мишаева Н. П., Зубович И. К., Статкевич В. П. и др. Химиопрепараты — альтернатива антирабическому иммуноглобулину при обработке укушенных и рваных ран, нанесённых бешеными животными. V Межд. форум по глобальной вакцинологии «Вакцины и иммунитет». Минск, 2001; 47.
11. Мишаева Н. П., Минина Н. Г., Зубович И. К. и др. Инструкция по антивирусной обработке ран, нанесённых бешеными или подозрительными на бешенство животными. Утв. Минздравом РБ 13 ноября 2000 г. № гос.рег. 125-9911.
12. Грибенча С. В., Зевенко Н. Г., Баринский И. Ф. Влияние ежедневной иммунизации и антирабического гамма-глобулина на формирование иммунных Т-киллеров у линейных мышей, заражённых уличным вирусом бешенства. *Вопросы вирусол* 1988; 5: 576—580.
13. Gacouin A., Bourthy H. Human rabies despite postexposure vaccination. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 3: 233.
14. Мовсисянц А. А., Бектемиров Т. А. Гидрофобия у людей, леченных специфическими иммунопрепаратами. *Вет патол* 2002; 1: 40—44.
15. Tantawichien T., Jaijaroensup W., Khawplod P. et al. V. Failure of multiple-site intradermal postexposure rabies vaccination in patients with human immunodeficiency virus with low CD4+ T-lymphocyte counts. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 10: 122—124.
16. Gibbons R. V., Rupprecht C. E. Postexposure rabies prophylaxis in immunosuppressed patients. *JAMA* 2001; 285: 12: 1575—1579.

Выводы

1. Рифампицин, у которого на модели экспериментальной рабической инфекции белых мышей выявлены противовирусные свойства в отношении фиксированного и уличного штаммов вируса бешенства, может быть с успехом применен у людей для угнетения репродукции дикого вируса и повышения эффекта антирабической вакцины при постэкспозиционном лечении (профилактике) бешенства.

2. При тяжёлых волчьих укусах, несовместимых с жизнью (проникающие ранения черепа, скальпирование, отрыв носа, ушей, пальцев рук), рекомендуется назначение рифампицина локально и системно, что в комплексе с антирабическими вакцино-сыворточными препаратами предотвращает развитие гидрофобии у покусанных, тогда как применение последних без рифампицина не всегда эффективно.

3. Рифампицин, оказывающий одновременно противовирусное и антибактериальное действие, эффективен при обработке мест укусов бешеными животными, так как инактивирует вирус и бактериальные ассоциации, при этом раны заживают первичным натяжением, и швы снимаются на 5—6-е сутки. Это позволило рассматривать рифампицин как альтернативу антирабическому иммуноглобулину при локальном применении.

Молекулярные и клеточные механизмы действия финголимода

А. В. НИКИТИН

Москва

Molecular and Cellular Mechanisms of Fingolimod Action

A. V. NIKITIN

Moscow

Представлены данные о механизме действия, эффективности и безопасности препарата финголимод. Дальнейшее изучение молекулярных, биохимических и клеточных механизмов действия фармакологических регуляторов трансдукции сигналов фосфолипидных медиаторов является важной основой для создания новых иммуномодуляторов и противоопухолевых средств.

Ключевые слова: аутоиммунные заболевания, иммунодепрессанты, финголимод.

The data on the mechanism of action, efficacy and safety of the drug fingolimod are presented. Further study of the molecular, biochemical and cellular mechanisms of action of pharmacological regulators of phospholipid mediators' signal transduction is an important basis for developing new immunomodulators and antitumor agents.

Key words: autoimmune diseases, immunosuppressants, fingolimod.

Разработка новых средств иммунодепрессивной терапии для трансплантологии и лечения аутоиммунных заболеваний является актуальной задачей современной фармакологии. В течение последних десятилетий были установлены основные механизмы внутриклеточной трансдукции сигналов, регулирующих клеточную пролиферацию и дифференцировку, определены молекулярные мишени действия медиаторов и вторичных мессенджеров. Это позволило создать ряд эффективных иммунодепрессантов (сиролимус, такролимус, эверолимус и др.), нашедших применение в клинике.

Выяснение в последние 10 лет основных механизмов действия фосфолипидных медиаторов, в частности сфингозин-1-фосфата (S1P), как важных биологически активных веществ, привело к созданию иммунодепрессанта финголимода (FTY720), применяемого для трансплантации органов и впоследствии рекомендованного для лечения рассеянного склероза. Этим аутоиммунным заболеванием в настоящее время во всем мире страдают более 2,5 миллионов человек, что определяет высокую актуальность разработки средств лечения этой патологии. Финголимод

(первое пероральное лекарственное средство для лечения рассеянного склероза) был разрешён в 2010 году FDA для снижения частоты рецидивов и прогрессирования тяжёлых симптомов рецидивирующих форм рассеянного склероза [1].

Финголимод — 2-амино-2-(2-[4-октилфенил]этил-1,3-пропандиола гидрохлорид — был получен в результате химической трансформации иммунодепрессанта мириоцина (ISP-1, термозимоцидина), выделенного из энтомопатогенного гриба *Isaria sinclairii*. Биодоступность финголимода после перорального приёма превышает 90%. После перорального приёма финголимода в дозах 0,125–5 мг в день его концентрация в плазме крови возрастает линейно. Свыше 99% введённого препарата связывается с белками плазмы крови. Амфифильная природа финголимода определяет его большой объём распределения в различных тканях организма, в том числе в мозге. Финголимод является пролекарством, которое под действие киназы SphK2 и, в меньшей степени, киназы SphK1 превращается в активную фосфорилированную форму финголиода [2, 3]. Финголимод проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и фосфорилируется эндогенными SphK в ЦНС. Фосфорилированный финголимод под действием сфингозинфосфатазы обратно превращается в финголимод, который далее необратимо метаболизируется ферментами цитохрома P450, в

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции: 117105 Москва, Нагатинская ул., д. За.
Редакция журнала

основном CYP4F2, и в меньшей мере CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 и CYP4F12 в неактивные метаболиты карбоновой кислоты, которые затем экскретируются с мочой.

Основной молекулярный механизм действия финголимода состоит в его связывании с рецепторами биологически активного лизофосфолипида S1P. S1P образуется из сфингомиелина в результате последовательных реакций, катализируемых сфингомиелиназой, церамидазой и сфингозинкиназой (SphK), которая существует в виде 2 изоферментов SphK1 и SphK2, отличающихся по кинетическим характеристикам, распределению в тканях и регуляторным функциям. Эритроциты являются основным источником S1P в плазме крови. S1P может также образовываться в результате активации тромбоцитов и свертывания крови, в тучных, эндотелиальных клетках, фибробластах и клетках ЦНС.

S1P участвует в регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки, реорганизации цитоскелета, поддерживает жизнеспособность клеток, регулирует хемотаксис, клеточную подвижность, адгезию и образование межклеточных щелевых контактов. S1P регулирует реакции иммунитета, тонус гладкой мускулатуры сосудов, целостность эндотелиального барьера, морфогенез, функции сердечно-сосудистой и нервной систем. В организме S1P содержится в относительно высоких концентрациях в мозге, селезенке, глазу, плазме крови и лимфе [4].

Внеклеточный S1P по паракринному и аутокринному механизмам взаимодействует с рецепторами S₁P пяти типов, которые являются семейством рецепторов, сопряженных с G-белками. Рецепторы S1P₁, S1P₂ и S1P₃ широко представлены в различных органах и тканях, тогда как S1P₄ экспрессированы, преимущественно в клетках лимфоидной ткани, а S1P₅ — в селезенке и олигодендроцитах (ОДЦ) ЦНС [5].

Взаимодействие S1P с мембранными рецепторами запускает сложную последовательность внутриклеточной трансдукции сигналов, регулирующих процессы жизнедеятельности клеток. Передача сигналов S1P может быть прервана в результате воздействия фосфогидролазы, дефосфорилирующей S1P до сфингозина и/или вследствие фосфорилирования рецепторов S1P, что ведет к их разобщению с G-белком и последующей интернализации рецепторов. Покоящиеся Т и В-лимфоциты экспрессируют S1P₁ и, в меньшей степени, S1P₄ и S1P₃. Профиль экспрессии этих рецепторов аналогичен у CD4⁺, CD8⁺ и CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов. Взаимодействие S1P с S1P₁ играет ведущую роль в регуляции миграции лимфоцитов, особенно их выхода из лимфатических узлов в кровоток.

В норме экспрессия рецепторов S1P на Т-лимфоцитах периферической крови и лимфы (в

условиях относительно низких концентраций S1P) является сравнительно высокой. Экспрессия рецепторов S1P на Т-лимфоцитах возрастает, когда они попадают в лимфатические узлы, где концентрация S1P мала. Таким образом, экспрессия рецепторов S1P на рециркулирующих Т-лимфоцитах характеризуется циклическими изменениями в зависимости от концентрации внеклеточного S1P. Активация Т-лимфоцитов под действием антигена снижает экспрессию S1P₁. Повышение же экспрессии S1P₁ в ходе пролиферации и дифференцировки клеток восстанавливает чувствительность Т-лимфоцитов к градиенту концентрации S1P между лимфатическими узлами и кровотоком и стимулирует выход Т-лимфоцитов в циркуляцию [6].

Финголимода связывается с высоким аффинитетом с 4 из 5 рецепторов S1P (S1P₁, S1P₃, S1P₄ и S1P₅), но не с S1P₂, и непосредственно после связывания проявляет агонизм с рецептором. Однако затем финголимода вызывает нарушение фосфорилирования рецептора и его интернализацию. Рецептор в цитоплазме клетки взаимодействует с убиквитином и затем подвергается разрушению ферментами протеасом. Данный механизм в итоге ведет к развитию физиологического антагонизма финголимода в отношении S1P [7]. В течение некоторого времени после связывания с финголимодом рецепторы ещё могут находиться в активном состоянии и осуществлять регуляторные функции посредством подавления активности аденилилциклазы и фосфорилирования киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK1/2). Подавление экспрессии рецепторов S1P на лимфоцитах снижает чувствительность клеток к градиенту концентрации S1P между лимфатическими узлами и кровотоком, что ведёт к снижению числа лимфоцитов в грудном лимфатическом протоке, периферической крови и селезенке.

По результатам клинических исследований II и III фаз финголимода при лечении больных рассеянным склерозом препарат снизил число лимфоцитов периферической крови в среднем с $1,84 \times 10^9$ /л в начале исследования до $0,49 \times 10^9$ /л через 1 месяц лечения [8, 9]. Лимфопения, вызванная финголимодом, является обратимой. Препарат не снижает абсолютного числа лимфоцитов, но вызывает их перераспределение между кровью и лимфатическими узлами. По данным исследования FREEDOMS, число лимфоцитов периферической крови больных нормализовалось через 6 недель после отмены финголимода [8]. Финголимода, в основном, влияет на Т и В-лимфоциты, слабо или вообще не влияет на гранулоциты, моноциты, эозинофилы, эритроциты и тромбоциты. Препарат влияет на Т-лимфоциты в большей степени, чем на В-лимфоциты. Среди Т-лимфоцитов финголимода преимущественно

воздействует на CD4⁺, чем CD8⁺ Т-лимфоциты, что проявляется в снижении отношения CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов. Финголимод избирательно подавляет рециркуляцию Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CCR7, необходимый для «хоминга» Т-лимфоцитов, а также рецептор CD62L, экспрессированный в «наивных» Т-лимфоцитах, среди которых имеются также Т-лимфоциты, образующие интерлейкин-17 (Th17-лимфоциты). Эти клетки связаны с патогенезом рассеянного склероза и эффективностью его лечения с применением интерферона- β . Лечение больных рассеянным склерозом финголимодом в дозе 0,5 мг в день в течение 6 месяцев вызвало стойкое снижение числа CD45⁺, CD4⁺, CD8⁺ и CD19⁺ Т-лимфоцитов и отношения CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов. Финголимод существенно не влиял на уровни большинства цитокинов у больных [10]. Финголимод в 2,5 раза снизил число иммуноцитов в спинномозговой жидкости (СМЖ) больных рассеянным склерозом через 4 месяца лечения [11]. При этом отмечено более выраженное снижение числа CD4⁺ по сравнению с CD8⁺ Т-лимфоцитами. Наряду с этим наблюдалось снижение числа В и пре-В-лимфоцитов в СМЖ, но не крови больных. Число NK-клеток при этом не изменялось. Средние концентрации S1P снизились с 2,12 нмоль/л до 0,71 нмоль/л в СМЖ и с 399,73 нмоль/л до 310,62 нмоль/л в крови [11]. Лечение финголимодом вызвало снижение в 10 раз числа CD4⁺CCR7⁺ $\gamma\delta$, но не CD4⁺CCR7⁻ $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов. Степень снижения числа $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов была меньше по сравнению с $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами, связанными с адаптивным иммунитетом, что вело к снижению отношения $\gamma\delta/\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, у больных, получавших финголимод. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты периферической крови больных, леченных финголимодом, проявляли повышенную цитотоксичность и снижали образование и секрецию интерлейкина-17 (ИЛ-17) и интерферона- γ (ИФ- γ) Т-лимфоцитами *in vitro* по сравнению с контролем [12]. Таким образом, финголимод повышал число $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, способных ограничивать активность Th1 и Th2 эффекторных Т-лимфоцитов, что может быть новым иммунологическим механизмом действия препарата [12].

В нейронах и их предшественниках экспрессированы S1P₁, S1P₃ и, в меньшей степени, S1P₂. Нокаут гена S1P₁ или комбинированный нокаут генов SphK1 и SphK2 у мышей вызывали тяжёлые нарушения нейрогенеза, апоптоз клеток, снижали пролиферацию нейробластов, что вело к возникновению дефектов невральнoй трубки. S1P/S1P₁ повышали пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток нервной системы и их миграцию в очаги экспериментальных поражений спинного мозга. Воздействие фосфорили-

рованного S1P *in vitro* на кортикальные нейроны и нейроноподобные эмбриональные стволовые клетки зависимо от концентрации повышало фосфорилирование ERK1/2 и транскрипцию мРНК фактора транскрипции CREB и мозгового нейротрофического фактора BDNF [13]. В ОДЦ экспрессируется S1P₅ и, в меньшей степени, S1P₁, S1P₂ и S1P₃.

Воздействие фосфорилированного финголимодом в низких концентрациях на ОДЦ *in vitro* стимулировало их дифференцировку, тогда как S1P в высоких концентрациях, напротив, подавлял миграцию и дифференцировку предшественников ОДЦ. Фосфорилированный финголимод оказывал протективное действие в отношении апоптоза ОДЦ в бессывороточной среде, при отсутствии глюкозы, факторов роста, при воздействии провоспалительных цитокинов или вследствие активации микроглии.

Астроциты по современным представлениям играют ведущую роль в патогенезе рассеянного склероза. Активация металлопротеиназ астроцитов является важным фактором повышения проницаемости ГЭБ. Астроциты экспрессируют молекулы адгезии, секретируют хемокины и способствуют инфильтрации тканей клетками-эффекторами воспаления. Секретция фактора- α некроза опухолей (ФНО- α) и лимфотоксина- α введет к гибели ОДЦ и повреждению аксонов. Астроциты экспрессируют S1P₁, S1P₃ и меньше другие рецепторы S1P. Экспрессия S1P₁ и S1P₃ повышена в очагах поражения ЦНС у больных рассеянным склерозом. Введение S1P мышам интракраниально вызывало у них астроглиоз, тогда как фосфорилированный финголимод *in vitro* подавлял образование провоспалительных цитокинов в культуре астроцитов.

Влияние финголимодом на ремиелинизацию является еще одним важным фактором его терапевтического действия. На моделях рассеянного склероза было показано стимулирующее действие препарата на ремиелинизацию. Финголимод снижал гибель ОДЦ и разрушение миелина, вызванных лизофосфатидилхолином в срезах мозжечка. Полагают, что финголимод предотвращает гибель вновь образующихся олигодендроцитов и способствует ремиелинизации. Финголимод усиливает микроглиоз в нервной ткани, что также способствует ремиелинизации. С другой стороны, положительное влияние финголимодом на ремиелинизацию не подтверждалось на моделях купризоновой демиелинизации спинного мозга крыс, что свидетельствует о том, что действие финголимодом может зависеть от микроокружения очагов демиелинизации [14]. Финголимод повышал число дендритных клеток и моноцитов в периферической крови боль-

ных рассеянным склерозом, снижал образование ФНО- α и ИЛ-12 в дендритных клетках. Финголимод *in vitro* подавлял образование ИФ- γ в стимулированных липополисахаридом дендритных клетках и моноцитах [15].

Иммунодепрессивное действие финголимода связано с повышенным риском инфекционных осложнений у больных, что отражено в рекомендациях FDA по применению препарата [1]. В настоящее время нет данных о повышенном риске развития злокачественных новообразований, связанных с применением финголимода, однако в экспериментах показана возможность снижения противоопухолевого иммунитета. Трансгенные мыши, экспрессирующие Т-клеточные рецепторы, распознающие опухолеспецифические антигены миеломы МОРС 315 и В-клеточной лимфомы F 9, были устойчивы к развитию этих опухолей после их подкожной инокуляции. При этом после инокуляции активировались CD4⁺ Т-клетки, которые затем приобретали Th1 фенотип, мигрировали в опухоли и секретиовали ИФ- γ . Эти процессы вели к усилению макрофагальной инфильтрации и эрадикации опухолевых клеток. Финголимод подавлял отторжение опухолей, препятствуя миграции CD4⁺ Т-клеток в опухоли и активации макрофагов. Однако в этих экспериментах финголимод был использован в дозах 1–2 мг/кг/день, значительно превосходящих его терапевтические дозы у человека [16].

Финголимод и его метаболиты существенно подавляют транспортную активность Р-гликопротеина в капиллярах и способствуют снижению выведения и повышению накопления лекарственных препаратов в ткани мозга. Финголимод в 5 раз повышал накопление верапамила, лоперамида и паклитакселя в перфузируемом мозге крыс по сравнению с контролем. Этот новый механизм действия финголимода может быть использован для повышения транспорта лекарственных препаратов через ГЭБ и накопления их в ЦНС [17].

Побочное действие финголимода во многом обусловлено его влиянием на рецепторы S1P. S1P₁, S1P₂ и S1P₃ являются основными типами рецепторов в сердечно-сосудистой системе. Взаимодействие финголимода с рецепторами S1P предсердий ведет к активации калиевых каналов, активируемых G-белками, гиперполяризации клеточной мембраны, снижению возбудимости и частоты потенциалов действия в кардиомиоцитах. У человека этот эффект связан с S1P₁. По результатам клинических исследований FREEDOMS и TRANSFORMS отмечено снижение частоты сердечных сокращений (максимально на 8 ударов в мин) у больных, получавших финголи-

мод в дозе 0,5 мг в день [18]. Финголимод может вызывать зависимое от дозы нарушение атрио-вентрикулярной проводимости. Среднее время удлинения интервала P–R составило 4,5 мс и 11 мс (атриовентрикулярная блокада I степени) у больных, получавших препарат в дозах 0,5 мг и 1,25 мг в день соответственно. Эндотелиальные клетки экспрессируют в основном S1P₁ и, в меньшей степени S1P₂ и S1P₃. Действие финголимода на эндотелиальные клетки носит разнонаправленный характер и может вести как к повышению, так и к снижению барьерных функций эндотелия. Воздействие финголимода на S1P₃ вызывает сокращение гладкомышечных клеток сосудов, однако стимулирует образование оксида азота в эндотелии, поэтому интегральный эффект финголимода обусловлен взаимодействием этих разнонаправленных процессов. По данным фазы III клинических исследований, финголимод вызывал незначительное повышение систолического и диастолического артериального давления в первые 6 месяцев лечения. Влияние финголимода на дыхательную систему проявляется в кашле (у 5–10% больных, получавших препарат по сравнению с 4–8% в контроле), диспноэ (у 2–7% леченных больных по сравнению с 2–5% в контроле), снижении объема форсированного выдоха на 3,1% у леченных больных и 2,0% в контроле), диффузионной способности для СО (на 3,8% в дозе 0,5 мг и 2,7% в контроле). Финголимод может вызывать обратимое повышение активности печеночных ферментов, преимущественно аланинаминотрансферазы. Возрастание активности аспаратаминотрансферазы и повышение концентрации билирубина в сыворотке крови является редким. По результатам клинических исследований повышение активности аланинаминотрансферазы в 3 раза и более и в 10 раз и более отмечалось у 8 и 0,2% больных соответственно, получавших препарат в дозе 0,5 мг. Финголимод в дозах 0,5 мг и 1,25 мг вызывал развитие макулярного отека у 0,3 и 1,1% больных соответственно [13].

Изучение механизмов действия финголимода и связи «структура–активность» в ряду его аналогов привели к разработке антагониста рецепторов S1P 1-(гидроксиметил)-3-(3-октилфенил)циклобутана (VPC03090). В экспериментах было установлено противоопухолевое действие препарата на карциному Льюиса и карциному молочных желез 4T1 у мышей, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального противоопухолевого средства [19].

Дальнейшее изучение молекулярных, биохимических и клеточных механизмов действия фармакологических регуляторов трансдукции сигналов фосфолипидных медиаторов является важной основой для создания новых иммуномодуляторов и противоопухолевых средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. NDA 02257-FDA approved labeling text for Gilenya (fingolimod) capsules/ September 21, 2010. <http://www.accessdata.fda.gov>.
2. Billich A., Bonmancin F., Devay P. et al. Phosphorylation of the immunomodulatory drug FTY720 by sphingosine kinase. *J Biol Chem* 2003; 278: 47408—47415.
3. Paugh S.W., Payne S.G., Barbour S.E. et al. The immunosuppressant FTY720 is phosphorylated by sphingosine kinase type 2. *FEBS Lett* 2003; 554: 189—193.
4. Spiegel S., Milstein S. Sphingosine-1-phosphate: an enigmatic signalling lipid. *Nat Res Mol Cell Biol* 2003; 4: 397—407.
5. Ishii I., Fukushima N., Ye X., Chung J. Lysophospholipid receptors: signalling and biology. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 321—354.
6. Schwab S.R., Pereira J.P., Matloulia M. et al. Lymphocyte sequestration through S1P lyase inhibition and disruption S1P gradients. *Science* 2005; 309: 1735—1739.
7. Oo M.L., Thangada S., Wu M-T. et al. Immunosuppressive and anti-angiogenic sphingosine-1-phosphate receptor-1 agonists induce ubiquitinylation and proteasomal degradation by internalized S1P1 receptors. *Nat Chem Biol* 2009; 5: 428—434.
8. Kappos L., Radue E-W., O, Konnor P. et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2010; 362: 387—401.
9. Cohen J.A., Barkhof F., Comi G. et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2010; 362: 402—415.
10. Dehmel T., Opgenoorth B., Hartung H. et al. The effect of fingolimod on peripheral blood mononuclear cell phenotypes: a prospective study (P02.122). *Neurology* 2012, 78 (Meeting abstracts 1): P02.122.
11. Sehr T., Hainke U., Thomas K. et al. Differential immunological changes in peripheral and CNS compartments during fingolimod therapy in MS (P02.087). *Neurology* 2012, 78 (Meeting abstracts 1): P02.087.
12. Darlington P., Ouamara N., Stonebridge I. et al. Fingolimod treatment in multiple sclerosis increases the ability of circulating $\gamma\delta$ T cells to regulate pro-inflammatory Th1 and Th2 T cell responses (S31.003). *Neurology* 2012, 78 (Meeting abstracts 1): S31.003.
13. Cohen J.A., Chun J. Mechanisms of fingolimod's efficacy and adverse effects in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2011; 69: 759—777.
14. Kipp M., Amor S. FTY720 on the way from the base camp to the summit of the mountain: relevance for remyelination. *Mult Scler* 2012; 18: 258—262.
15. Thomas K., Sehr T., Hainke U. et al. Differential effects of natalizumab and fingolimod on the innate immune system of MS patients (P04.125). *Neurology* 2012, 78. (Meeting abstracts 1): P04.125.
16. Lorvik K.B., Bogen B., Corthay A. Fingolimod blocks immunosurveillance of myeloma and B-cell lymphoma resulting in cancer development in mice. *Blood* 2012; 119: 2176—2177.
17. Cannon R.E., Pearle J.C., Hawkins B.T. et al. Targeting blood-brain barrier sphingolipid signalling reduces basal P-glycoprotein activity and improves drug delivery to the brain. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2012; 109: 15930—15935.
18. Di Marco J.P., O'Connor P., Cohen J.A. et al. First dose effect of fingolimod: pooled safety data from two phase 3 studies (TRANSFORMS and FREEDOMS) (P830). *Mult Scler* 2010; 16: Suppl 10.
19. Kennedy P.C., Zhu R., Huang T. et al. Characterization of a sphingosine-1-phosphate receptor antagonist prodrug. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 879—889.

Рецензия на книгу Я. М. Галла «Георгий Францевич Гаузе (1910—1986)»

Review of the book «George F. Gause (1910—1986)» by Ya. M. Galla

XX век отличается великими открытиями в области естествознания, в ряду которых достойное место занимают труды выдающегося учёного Георгия Францевича Гаузе, столетие со дня рождения которого в 2010 г. широко отмечалось научной общественностью.

Книга Я. М. Галла — первое описание научной биография Г. Ф. Гаузе, охватывающее весь его жизненный путь, начиная с юношеского периода. Знания в области биологии и математики, владение иностранными языками, природная любознательность и целеустремленность способствовали становлению большого учёного. Хорошо известны и многократно переизданы на разных языках труды Г. Ф. Гаузе в области экологии популяций, эколого-эволюционного синтеза, в определении понятия экологической ниши, исследования, посвящённые борьбе за существование, конкуренции и естественного отбора, экспериментальному исследованию искусственно создаваемых популяций простейших («микрокосмоса» — по определению В. И. Вернадского). Написанная в возрасте 22 лет и через два года опубликованная на английском языке книга Г. Ф. Гаузе «The struggle for existence» до сих пор является одной из наиболее цитируемых книг в естествознании, послужившей базой для развития современной экологии и заложившей основы экспериментального подхода в экологии и математической обработке полученных данных. Принцип конкурентного исключения, известный как «закон Гаузе», вошёл во все учебники, и в современном кратком прочтении его можно представить следующим образом: «Два вида не могут длительное время существовать вместе» или «Один вид — одна экологическая ниша».

Помимо перечисленных выше основополагающих работ в области теории эволюции и экологии, Г. Ф. Гаузе известен работами по асимметрии протоплазмы, которым также была дана эволюционная оценка, по сопоставлению роли мутаций и модификаций, а также исследованиями в области антибиотиков. Начав эти исследования в предвоенные годы и понимая их огромную практическую значимость, Г. Ф. Гаузе заложил основы новой науки и создал отечественную школу биологов — специалистов в области науки об антибиотиках.

Возглавляемый им Институт по изысканию новых антибиотиков РАМН, ныне носящий имя Г. Ф. Гаузе, разработал и внедрил в медицин-

скую практику, наладил производство 16 антибиотиков медицинского назначения. Первый отечественный антибиотик (грамцидин советский — грамицидин S) широко применялся уже в годы войны, спасая раненых от гнойных инфекций, но и в настоящее время он продается во всех аптеках под названием «граммидин». Работа Института — памятник организационным способностям Г. Ф. Гаузе, создавшего коллектив не только специалистов, но и единомышленников, что помогло Институту сохраниться в тяжёлые годы перестройки.

Следствием широты научных интересов Г. Ф. Гаузе были его многочисленные научные контакты с учёными всего мира. В нашей стране можно отметить совместные исследования Г. Ф. Гаузе с Московским государственным университетом им. М. В. Ломоносова, Институтом химии природных соединений АН СССР (ныне Институтом биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН), Институтом биологии развития АН СССР (ныне Институтом биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН).

Автор книги Я. М. Галл известен как замечательный биограф Г. Ф. Гаузе, который не только свободно ориентируется в научных трудах Г. Ф. Гаузе, но на протяжении десятилетий был знаком лично и много общался с Георгием Францевичем, а также со многими ведущими сотрудниками Института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, что позволило ему быть в курсе основных направлений исследований науки об антибиотиках. Особую ценность представляет собранная Я. М. Галлом обширная библиография трудов Г. Ф. Гаузе.

Книга Я. М. Галла представляет научный глубокий труд, серьёзность и глубина анализа изложенного материала достигнута автором благодаря его длительному, занимающему не одно десятилетие, научному исследованию деятельности Г. Ф. Гаузе.

О. В. Ефременкова, Л. П. Терехова

Редколлегия журнала «Антибиотики и химиотерапия» с удовольствием присоединяется к оценке очень важного вклада академика Г. Ф. Гаузе в биологическую науку и с благодарностью вспоминает его многолетнюю деятельность в качестве члена редколлегии журнала практически со дня его создания.

**МИКРОЧИП ДНК ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДЕТЕРМИНАНТ
АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ
ГЕНОТИП, У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ
ACINETOBACTER BAUMANNII.**

**DNA MICROARRAY FOR GENOTYPING ANTIBIOTIC
RESISTANCE DETERMINANTS IN *ACINETOBACTER
BAUMANNII* CLINICAL ISOLATES / S. DALLY,
K. LEMUTH*, M. KAASE, S. RUPP, C. KNABBE, J. WEILE //
ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY OCTOBER
2013; 57: 10: 4761—4768.**

В последние десятилетия *Acinetobacter baumannii* вызывает большую озабоченность из-за способности приобретать и накапливать устойчивость к антибиотикам. Для лучшего, более точного и своевременного, определения детерминант устойчивости у *A. baumannii* был разработан микрочип, позволяющий обнаружить (в течение 4 ч от начала культивирования до получения результата) 91 целевую последовательность, ассоциированную с антибиотикоустойчивостью. Микрочип был апробирован в проспективном слепом испытании на 60 штаммах *A. baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью. Результаты сравнивали с данными фенотипирования, полученными с помощью системы автоматизированного тестирования чувствительности VITEK2 к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму, имипенему, меропенему, триметоприму/сульфаметоксазолу, амикацину, гентамицину, тобрамицину, ципрофлоксацину и тигециклину. Средние показатели как положительного, так и отрицательного прогнозирования чувствительности и специфичности составляли соответственно 98 и 98, 99 и 94%. В случае карбапенемазных генов сравнение результатов, полученных с помощью микрочипа и по методу singleplex ПЦР в Немецком Национальном референс-центре грамотрицательных патогенов, показало полное совпадение. Предлагаемый микрочип способен выявлять все значимые детерминанты устойчивости *A. baumannii* одновременно. Короткий период выполнения теста — 4 ч от начала культивирования до получения результата — позволяет быстро начать адекватную терапию у критических больных, а также использовать полученные данные для эпидемиологического контроля.

* Department of Molecular Biotechnology, Fraunhofer Institute for Interfacial Engineering and Biotechnology, Stuttgart, Germany.

* Robert Bosch GmbH, Gerlingen, Germany.

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ
ESCHERICHIA COLI И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЦЕЛОГО ГЕНОМА.**

**PREDICTING ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITIES FOR
ESCHERICHIA COLI AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
ISOLATES USING WHOLE GENOMIC SEQUENCE DATA /
N. STOESSER*, E. M. BATTY, D. W. EYRE, M. MORGAN,
D. H. WYLLIE, C. DEL OJO ELIAS, J. R. JOHNSON,
A. S. WALKER, T. E. A. PETO, D. W. CROOK //
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013;
68: 10: 2234—2244.**

Секвенирование целого генома является простым, быстрым и оправданным по цене методом определения механизмов устойчивости, прогнозирования фенотипа и типа штамма в клинических и эпидемиологических целях. Задачей настоящего ретроспективного исследования было определить эффективность прогнозирования механизмов устойчивости к антимикробным препаратам на основании данных секвенирования целого генома *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Были секвенированы (Illumina HiSeq 2000) 74 и 69 штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* соответственно, полученных в графстве Оксфордшир, Великобритания. На основе BLAST-сравнений *de novo* сконструированных смежных областей с базой данных, содержащей более 100 известных локусов, ассоциированных с устойчивостью, включая плазмидные и хромосомальные гены, были предсказаны фенотипы устойчивости в отношении 7 обычно назначаемых антибиотиков: амоксициллина, ко-амоксиклава, цефтриаксона, цефтазидима, ципрофлоксацина, гентамицина и меропенема, и затем полученные данные были сравнены с результатами фенотипирования методом двухкратных разведений в бульоне (BD Phoenix). Различия между дубликатными BD Phoenix результатами, генотипом и фенотипом были подвергнуты анализу по градиенту диффузии. Был идентифицирован широкий круг генов антибиотикоустойчивости, включающий *bla*_{CTX-M}, *bla*_{LEN}, *bla*_{OKP}, *bla*_{OXA}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *aac*(3')-Ia, *aac*(3')-IIa, *aac*(3')-IIe, *aac*(6')-Ib-cr, *aadA1a*, *aadA4*, *aadA5*, *aadA16*, *aph*(6')-Id, *aph*(3')-Ia, *qnrB* и *qnrS*, а также связанные с устойчивостью мутации в хромосомальных генах *gyrA* и *parC*. Чувствительность прогноза устойчивости по геному для всех антибиотиков была равна 0,96 (95% ДИ: 0,94—0,98), специфичность — 0,97 (95% ДИ: 0,95—0,98). Показатели очень больших и больших ошибок соответственно были равны 1,2 и 2,1%. Итак, предложенный метод по чувствительности и специфичности соответствовал обычно применяемым методам фенотипирования. Валидация в сравнении с более полными базами данных, как и оценка стоимости и затрат времени в рутинных лабораторных условиях будут проведены.

* Nuffield Department of Clinical Medicine, University of Oxford, John Radcliffe Hospital (Level 5), Headley Way, Headington OX3 9DU, UK.

* John Radcliffe Hospital Microbiology Laboratory, John Radcliffe Hospital (Level 7), Headley Way, Headington OX3 9DU, UK.

**ПРОТИВОАНАЭРОБНЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ
ПРЕПАРАТЫ: СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ
И ТЕСТИРОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ. ОБЗОР.**

**ANTIANAEROBIC ANTIMICROBIALS: SPECTRUM
AND SUSCEPTIBILITY TESTING / I. BROOK*,
H. M. WEXLER, E. J. C. GOLDSTEIN // CLINICAL
MICROBIOLOGY REVIEWS JULY 2013; 26: 3; 526—546.**

Тестирование чувствительности анаэробных бактерий в отдельных случаях может влиять на выбор антимикробной терапии. Многие лабораторные процедуры, включая тестирование чувствительности анаэробов (ТЧА), были стандартизированы и документированы CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Стандартизация методов тестирования позволяет сравнивать тенденции развития устойчивости между различными лабораториями. Тестировать чувствительность следует у микроорганизмов, выделенных из стерильных участков тела в виде чистой культуры, представляющих клиническую значимость или имеющих вариабельную или уникальную чувствительность. К микроорганизмам, у которых следует тестировать каждый отдельный штамм, относятся высоковирулентные патогены, чувствительность которых непредсказуема, как например, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Clostridium* spp.; *Bilophila wadsworthia*; *Sutterella wadsworthensis*. В обзоре описаны современные методы ТЧА, применяемые в исследовательских и референс-лабораториях: разведений в агаре; микроразведений в бульоне; Е-тест; система спирального градиента пограничных концентраций. Антимикробные средства, эффективные в отношении анаэробных бактерий, включают бета-лактамы, комбинации бета-лактамов с ингибиторами бета-лактамаз, метронидазол, хлорамфеникол, клиндамицин, макролиды, тетрациклины и фторхинолоны. Приведены сведения о спектре эффективности указанных антибиотиков, механизмах и типах устойчивости к ним.

* Department of Pediatrics, Georgetown University School of Medicine Washington, DC, USA.

**IN VITRO АКТИВНОСТЬ НОВОГО МОНОСУЛЬФАТА
BAL30072, ОДНОГО И В КОМБИНАЦИИ
С МЕРОПЕНЕМОМ, В ОТНОШЕНИИ КОЛЛЕКЦИИ
ВАЖНЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ.**

**IN VITRO ACTIVITY OF THE NOVEL MONOSULFAM
BAL30072 ALONE AND IN COMBINATION WITH**

**MEROPENEM VERSUS A DIVERSE COLLECTION
OF IMPORTANT GRAM-NEGATIVE PATHOGENS /
M. HORNSEY, L. PHEE, W. STUBBINGS, D. W. WAREHAM *//
INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
AGENTS OCTOBER 2013; 42: 4: 343—346.**

Проблема устойчивости к антимикробным препаратам хорошо иллюстрируется на примере штаммов грамотрицательных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (MDR). Особым предметом рассмотрения могут служить устойчивые к цефалоспорином расширенного спектра действия штаммы Enterobacteriaceae, эпидемические штаммы *Acinetobacter baumannii*, образующие карбапенемазы OXA- типа и MDR штаммы *Pseudomonas aeruginosa*. Была исследована *in vitro* активность нового моносультфата BAL30072, одного и в комбинации с меропенемом, в отношении коллекции различных грамотрицательных патогенов. Всего был изучен 31 штамм, в т. ч. типовые и клинические штаммы с определёнными механизмами устойчивости к различным антибиотикам, включая карбапенемы, колистин и тигециклин. МПК BAL30072, одного и в присутствии меропенема (1:1, вес/вес), определяли разведениями в агаре, а синергизм или антагонизм взаимодействия — стандартными методами «шахматной доски». Значения МПК BAL30072 в отношении MDR штаммов *A. baumannii*, продуцирующих оксациллиназы класса D, были ≤ 4 мг/л, за исключением штамма, относящегося к английской линии Burn; в отношении 5 штаммов *P. aeruginosa* — в пределах от 0,5 мг/л до > 64 мг/л; а у чувствительных к меропенему штаммов *Escherichia coli*, включая продуцент CTX-M бета-лактамазы расширенного спектра, величина МПК BAL30072 составляла 0,25—2 мг/л. Некоторые штаммы Enterobacteriaceae имели более высокие значения МПК BAL30072. Полученные *in vitro* данные свидетельствуют о потенциальной роли BAL30072 в лечении инфекций, вызванных грамотрицательными патогенами, включая высокоустойчивые к другим препаратам. Кроме того, BAL30072 продемонстрировал высокую синергидную активность в комбинации с меропенемом, что потенциально может расширить возможности лечения инфекций, обусловленных проблемными видами микроорганизмов.

* Antimicrobial Research Group, Centre for Immunology and Infectious Disease, Blizard Institute, Barts & The London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University London, 4 Newark Street, London E1 2AT, UK.

**КОМБИНАЦИЯ ПАНТОТЕНАМИДОВ
С ИНГИБИТОРАМИ ВАНИНОВ КАК НОВАЯ**

СТРАТЕГИЯ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ В ОТНОШЕНИИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ.

COMBINATION OF PANTOTHENAMIDES WITH VANIN INHIBITORS AS A NOVEL ANTIBIOTIC STRATEGY AGAINST GRAM-POSITIVE BACTERIA /

P. A. M. JANSEN, P. H. H. HERMKENS,
P. L. J. M. ZEEUWEN, P. N. M. BOTMAN, R. H. BLAAUW,
P. BURGHOUT, P. M. VAN GALEN, J. W. MOUTON,
F. P. J. T. RUTJES, J. SCHALKWIJK* // **ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY** OCTOBER 2013;
57: 10: 4794—4800.

Появление устойчивости к используемым в настоящее время антибиотикам служит толчком к разработке новых соединений для лечения инфекционных заболеваний. Синтетические пантотенамиды, аналоги пантотена, обладают широкой антибактериальной активностью на минимальной среде. Было показано, что пантотенамиды, являются субстратами такого пути биосинтеза коэнзима А (КоА) у бактерий, который приводит к элиминации КоА и нарушению синтеза жирных кислот. Несмотря на возможность применения и селективность действия пантотенамидов на метаболизм бактерий, они никогда не испытывались в клинике. Было установлено, что пантотенамиды не активны как антибиотики в присутствии сыворотки, т. к. гидролизуются широко распространенными пантетеиназами семейства ванинов. Поэтому были синтезированы серии ингибиторов пантетеиназы на основе пантотената, которые подавляли пантетеиназную активность сыворотки в наномолярных концентрациях. Масс спектрометрический анализ показал, что добавление ингибиторов пантетеиназ предотвращало гидролиз пантотенамидов сывороткой. Комбинации новых пантетеиназных ингибиторов с исходными пантотенамидами, такие как N5-Pan и N7-Pan, оказывали антимикробное действие *in vitro*, в частности, на грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*) даже в присутствии сыворотки. Полученные результаты означают, что пантотенамиды, защищенные от гидролиза пантетеиназами хозяина, представляют потенциально полезные антимикробные препараты.

* Department of Dermatology and Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands.

АКТИВНОСТЬ МК-7655 В КОМБИНАЦИИ С ИМИПЕНЕМОМ В ОТНОШЕНИИ ENTEROBACTERIACEAE И PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

ACTIVITY OF MK-7655 COMBINED WITH IMIPENEM AGAINST ENTEROBACTERIACEAE AND PSEUDOMONAS AERUGINOSA /D. M. LIVERMORE*, M. WARNER, S. MUSHTAQ // **JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY** 2013; 68: 10: 2286—2290.

МК-7655 — новый ингибитор бета-лактамаз класса А и С. Исследовали его способность защищать имипенем. Методом «шахматной доски» были определены значения МПК с помощью разведений в агаре по CLSI для: 1) Enterobacteriaceae, продуцирующих карбапенемазы; 2) Enterobacteriaceae, у которых устойчивость к карбапенемам обусловлена сочетанием непроницаемости мембраны с образованием бета-лактамаз расширенного спектра или AmpC; 3) *Pseudomonas aeruginosa* и других неферментирующих бактерий. При концентрации 4 мг/л МК-7655 снижал МПК имипенема у Enterobacteriaceae, продуцирующих КРС карбапенемазы, с 16—64 мг/л до 0,12—1 мг/л. Синергидное взаимодействие было также установлено в отношении Enterobacteriaceae, у которых устойчивость к карбапенемам была обусловлена непроницаемостью мембраны. Более слабое синергидное действие наблюдалось в отношении штаммов-продуцентов ОХА-48. С другой стороны, МК-7655 не усиливал активность имипенема в отношении Enterobacteriaceae, образующих металлокарбапенемазы. В случае штаммов *P. aeruginosa* со слабой инактивирующей имипенем активностью эндогенной AmpC МК-7655 в концентрации 4 мг/л снижал МПК имипенема у всех штаммов, за исключением продуцентов металлокарбапенемаз, с 1—2 мг/л до 0,25—0,5 мг/л у чувствительных к имипенему *P. aeruginosa* и с 16—64 мг/л до 1—4 мг/л у OprD-дефицитных штаммов. Повышение активности не наблюдалось у хризеобактерий и *Stenotrophomonas maltophilia*. Итак, МК-7655 усиливал активность имипенема в отношении Enterobacteriaceae, образующих КРС карбапенемазы или сочетающих образование бета-лактамаз с непроницаемостью мембраны, но не в отношении продуцентов металлокарбапенемаз. Новый ингибитор увеличивал активность имипенема в отношении *P. aeruginosa* в целом и особенно OprD-мутантов.

* Norwich Medical School, University of East Anglia, Norwich NR4 7TJ, UK.

IN VIVO ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИАПЕНЕМА В КОМБИНАЦИИ С ME1071, НОВЫМ ИНГИБИТОРОМ МЕТАЛЛО-БЕТА-ЛАКТАМАЗ (МБЛ), НА МОДЕЛИ, ИМИТИРУЮЩЕЙ ВЕНТИЛЯТОР-АССОЦИИРОВАННУЮ ПНЕВМОНИЮ, ВЫЗВАННУЮ

**МБЛ-ПРОДУЦИРУЮЩИМ ШТАММОМ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA, У МЫШЕЙ.**

**IN VIVO EFFICACY OF BIAPENEM WITH ME1071,
A NOVEL METALLO- β -LACTAMASE (MBL) INHIBITOR,
IN A MURINE MODEL MIMICKING
VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA CAUSED
BY MBL-PRODUCING *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* /
K. YAMADA, K. YANAGIHARA*, N. KAKU, Y. HARADA,
Y. MIGIYAMA, K. NAGAOKA, Y. MORINAGA,
S. NAKAMURA, Y. IMAMURA, T. MIYAZAKI,
K. IZUMIKAWA, H. KAKEYA, H. HASEGAWA,
A. YASUOKA, S. KOHNO // INTERNATIONAL
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS
SEPTEMBER 2013; 42: 3: 238–243.**

ME1071, производное малеиновой кислоты, — новый специфический ингибитор металло-бета-лактамаз (МБЛ). *In vitro* ME1071 может усиливать активность карбапенемов в отношении МБЛ-продуцирующих штаммов *Pseudomonas aeruginosa*. Для подтверждения клинической эффективности ME1071 была использована модель вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП), обусловленной МБЛ-продуцирующим штаммом *P.aeruginosa*, у мышей, в которой ВАП имитировали помещением пластиковой трубки в бронхи. Биापенем (100 мг/кг) или ME1071+биапенем (каждый по 100 мг/кг) вводили внутрибрюшинно каждые 12 ч спустя 12 ч после инокуляции. Выживаемость оценивали через 7 дней. Через 30 ч после инфицирования сравнивали бактериальную нагрузку по числу жизнеспособных бактерий в лёгких и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ). Был выполнен гистопатологический анализ образцов лёгочной ткани, и определена фармакокинетика ME1071 после начальной терапии. Группа животных, получавшая комбинацию ME1071+биапенем, демонстрировала значительно более продолжительную выживаемость, чем контрольная и получавшая монотерапию биапенемом группы ($p<0,05$). Более того, число жизнеспособных бактерий в лёгких было существенно ниже в этой группе ($p<0,05$), а, по данным гистопатологического анализа, предотвращалось нарастание воспалительного процесса в лёгких. При комбинированной терапии в БАЛ значительно снижалось количество клеток в целом и нейтрофилов в частности, а также уровень цитокинов ($p<0,05$). Показатель (в %) времени превышения значения МПК (%T>МПК) биапенема в отсутствие ME1071 в плазме был равен 0%, но его значение возрастало до 10,8% при добавлении ME1071. Полученные результаты дают основание сделать вывод об активности и эффективности ME1071 при лечении ВАП, вызванной МБЛ-продуцирующими штаммами *P.aeruginosa*.

* Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan.

**СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ УНДЕКАПРЕНИЛ ПИРОФОСФАТ
СИНТАЗЫ ВЛИЯЕТ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
К АНТИБИОТИКАМ, ДЕЙСТВУЮЩИМ
НА КЛЕТОЧНУЮ СТЕНКУ
И НОСИТ СЛОЖНЫЙ ХАРАКТЕР.**

**REDUCING THE LEVEL OF UNDECAPRENYL
PYROPHOSPHATE SYNTHASE HAS COMPLEX EFFECTS
ON SUSCEPTIBILITY TO CELL WALL ANTIBIOTICS /
Y. H. LEE, J. D. HELMANN* // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2013; 57: 9: 4267–4275.**

Ундекапренил-пирофосфатсинтаза (УпфС) катализирует последовательные реакции конденсации фарнезилпирофосфата и образование УПФ, служащего переносчиком C55 липида, необходимого бактериям для биосинтеза пептидогликана. Объектом исследования был выбран устойчивый к ванкомицину (ВАН) мутант *Bacillus subtilis* W168, содержащий точечную мутацию в рибосомальном сайте гена *uppS*, обозначенном как *uppS1*. Опыты по генетической реконструкции показали, что аллель *uppS1* достаточна для обеспечения низкого уровня ВАН-устойчивости и вызывает снижение трансляции УпфС. Пониженный уровень УпфС несколько снижал чувствительность *B.subtilis* ко многим антибиотикам, влияющим на поздние стадии образования клеточной стенки, включая бета-лактамы, и значительно повышал устойчивость к фосфомицину и D-циклосерину, влияющим на самые ранние стадии синтеза клеточной стенки. Далее было показано, что *uppS1* аллель вызывала возростание экспрессии σ^M регулона, возможно, помогающего компенсировать стресс, вызванный снижением уровня УПФ. Существенно, что мутация *uppS1* увеличивала устойчивость к ВАН, фосфомицину и D-циклосерину клеток дикого типа, но этот эффект сильно снижался или исчезал на фоне *sigM* мутации. На основании полученных данных можно предположить, что хотя УпфС является «привлекательной» мишенью для антибиотиков, неполное подавление функции УпфС может повышать устойчивость к некоторым антибиотикам, действующим на клеточную стенку.

* Department of Microbiology, Cornell University, Ithaca, New York, USA.

**АНАЛИЗ ТОЛЕРАНТНОСТИ ПАТОГЕННЫХ
ЭНТЕРОКОККОВ И *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
К АНТИБИОТИКАМ, ДЕЙСТВУЮЩИМ
НА КЛЕТОЧНУЮ СТЕНКУ.**

ANALYSIS OF THE TOLERANCE OF PATHOGENIC ENTEROCOCCI AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TO CELL WALL ACTIVE ANTIBIOTICS /R. LADJOUZI, A. BIZZINI, F. LEBRETON, N. SAUVAGEOT, A. RINCÉ, A. BENACHOUR, A. HARTKE*// JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013; 68: 9: 2083—2091.

Толерантностью называют явление, когда при инкубации с бактерицидными антибиотиками гибель бактерий не значительна. Известно, что энтерококки высокотолерантны к лекарствам бактерицидного действия, но молекулярный механизм устойчивости не выяснен. Ранее было показано, что к проявлению толерантности причастна супероксид-дисмутаза (СОД). Этот вывод был основан на результатах, полученных с одним отдельно взятым штаммом *Enterococcus faecalis*, поэтому задачей настоящего исследования было установить, является ли зависимость толерантности от активности СОД общим явлением для энтерококков и другого грамположительного патогена, *Staphylococcus aureus*. На основе патогенных энтерококков были сконструированы мутанты, дефицитные по СОД. Ген *sodA* дикого типа был клонирован в вектор экспрессии и трансформирован в СОД-дефицитные штаммы для получения штаммов с разными уровнями СОД активности. Таким же образом были получены СОД-дефицитные штаммы *S. aureus*. Была протестирована толерантность полученных мутантов к ванкомицину и пенициллину. Результаты опытов показали, что зависимость между СОД и толерантностью к ванкомицину и пенициллину является общим свойством чувствительных к антибиотикам патогенных энтерококков. Варьированием уровней экспрессии была продемонстрирована прямая корреляция между толерантностью к ванкомицину и СОД активностью. Интересно, что делеция гена *sodA* у нетолерантного штамма *Enterococcus faecalis* не повысила чувствительность мутанта к бактерицидным антибиотикам. И, наконец, было показано, что СОД *S. aureus* также играет роль в проявлении толерантности. Высокая толерантность энтерококков к антибиотикам, действующим на клеточную стенку, может быть аннулирована при создании дефицита СОД.

*Université de Caen Basse-Normandie, EA4655 U2RM-Stress and Virulence, F-14032 Caen, France.

β -ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С ПСБ, ИЗБИРАТЕЛЬНО УСИЛИВАЮТ АКТИВНОСТЬ ДАПТОМИЦИНА В ОТНОШЕНИИ МЕТИЦИЛЛИНОУСТОЙЧИВОГО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

β -LACTAM ANTIBIOTICS TARGETING PBP1 SELECTIVELY ENHANCE DAPTOMYCIN ACTIVITY AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* /A. D. BERTI, G. SAKOULAS, V. NIZET, R. TEWHEY, W. E. ROSE* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY OCTOBER 2013; 57: 10: 5005—5012.

Активность даптомицина (ДАП) в отношении метициллиноустойчивого *Staphylococcus aureus* (MRSA) повышается в присутствии субингибиторных концентраций антистафилококковых бета-лактамов антибиотиков, но механизм этого явления не определен. Бета-лактамы антибиотиков отличаются по профилю связывания с пенициллинсвязывающими белками (ПСБ). Исследовали относительное усиление активности ДАП в отношении MRSA в присутствии бета-лактамов антибиотиков, имеющих различные профили связывания с ПСБ, с целью установить связь между характером профиля связывания с ПСБ и способностью повышать антистафилококковую активность ДАП. Было установлено, что бета-лактамы антибиотиков как широкого, так и узкого спектра действия, связывающиеся с ПСБ1, сильно повышали анти-MRSA активность ДАП, тогда как бета-лактамы антибиотиков с минимальным связыванием с ПСБ1 (цефокситин, цефтриаксон, цефаклор, цефотаксим) были менее эффективны. Возможно, нарушение ПСБ1 бета-лактамами антибиотиками влияет на процесс деления клеток *S. aureus*, что может быть компенсаторным откликом на инсерцию ДАП в мембрану, результатом чего является гиперчувствительность к ДАП.

* University of Wisconsin-Madison School of Pharmacy, Pharmacy Practice Division, Madison, Wisconsin, USA.

АДАПТАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ, КОНЪЮГИРОВАННЫМ С СИДЕРОФОРАМИ.

ADAPTATION-BASED RESISTANCE TO SIDEROPHORE-CONJUGATED ANTIBACTERIAL AGENTS BY *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* / A. P. TOMARAS, J. L. CRANDON, C. J. MCPHERSON, M. A. BANEVICIUS, S. M. FINEGAN, R. L. IRVINE, M. F. BROWN, J. P. O'DONNELL*, D. P. NICOLAU // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2013; 57: 9: 4197—4207.

Мультилекарственная устойчивость грамотрицательных бактерий становится настолько угрожающей, что неотложно требуются новые подходы для преодоления жизнеугрожающих инфекций. В последние годы большое внимание привлекает кон-

цепция конъюгации с сидерофорами, которая облегчает проникновение соединений через наружную мембрану с помощью бактериальных систем, контролирующих поглощение железа. Стандартные методы определения *in vitro* МПК и частоты устойчивости показали высокую активность и широкий спектр антибактериального действия таких конъюгатов и отсутствие угрозы неприемлемо высоких спонтанных уровней устойчивости. В то же время воспроизведение этих результатов на моделях животных может быть ненадёжным, частично из-за различий в оценке доступности железа разными методами. Приведена характеристика МВ-1, нового сидерофор-конъюгированного монобактама, высокоактивного *in vitro* в отношении *Pseudomonas aeruginosa* при испытании в стандартных условиях. Но данные *in vitro* не коррелировали с результатами *in vivo* из-за неэффективности действия МВ-1 на многие штаммы, несмотря на низкие значения МПК. С учётом этого были разработаны новые методы испытаний *in vitro*, прогнозирующие эффективность на моделях мышей, и приведены доказательства наличия конкуренции с нативными сидерофорами, которая может вносить свой вклад в устойчивость некоторых штаммов *P.aeruginosa in vivo*.

* Antibacterials Research Unit, Pfizer Worldwide Research and Development, Groton, Connecticut, USA.

ДАПТОМИЦИН: ПРИМЕНЕНИЕ ВЫСОКИХ ДОЗ И КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ. ОБЗОР.

DAPTOMYCIN: THE ROLE OF HIGH-DOSE AND COMBINATION THERAPY FOR GRAM-POSITIVE INFECTIONS / I. M. GOULD*, J. M. MIRÓ, M. J. RYBAK // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS SEPTEMBER 2013; 42: 3: 202–210.

Даптомицин, циклический липопептид с быстрым бактерицидным действием, рекомендован в дозах 4 и 6 мг/кг для лечения ряда соответствующих заболеваний [осложнённых инфекций кожи и мягких тканей (оИКМТ), вызванных грамположительными бактериями; бактериемии, обусловленной *Staphylococcus aureus* и ассоциированного с ней правостороннего инфекционного эндокардита (ПИЭ)]. Высокие дозы даптомицина и комбинированную терапию испытывали в случае трудно поддающихся лечению инфекций 1) чтобы повысить показатель положительного клинического исхода; 2) при предполагаемой нечувствительности патогенов к стандартным дозам; 3) для мини-

мизации риска развития устойчивости у больных, особенно тех, кому необходимо продолжительное лечение, или кто возможно подвергся субоптимальному хирургическому вмешательству, или у кого возможен неадекватный отклик на первичную антибиотикотерапию. При ограниченности клинических данных о применении даптомицина в дозах выше 6 мг/кг или в комбинации с другими антибиотиками на основании имеющихся публикаций можно говорить об эффективности и хорошей переносимости высоких доз даптомицина и комбинированной терапии. В обзоре исследованы принципы терапии высокими дозами даптомицина и комбинациями с другими антибиотиками и приведены подтверждения показаний к применению и оценка клинической перспективы. Обсуждаются безопасность и эффективность на основе проспективных и ретроспективных клинических исследований ряда инфекций, включая бактериемию, эндокардит, оИКМТ, остеомиелит. Рекомендации экспертов сопровождаются суммированием доказательств. Итак, применение высоких доз даптомицина и комбинированная терапия могут быть полезны в случае трудно поддающихся лечению инфекций, вызванных грамположительными возбудителями, при условии оценки предложенных стратегий лечения.

* Aberdeen Royal Infirmary, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZN, UK.

ВНЕБОЛЬНИЧНАЯ ИНФЕКЦИЯ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* И АНТИБИОТИКИ: МЕТА-АНАЛИЗ.

COMMUNITY-ASSOCIATED *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION AND ANTIBIOTICS: A META-ANALYSIS / A. DESHPANDE*, V. PASUPULETI, P. THOTA, C. PANT, D. D. K. ROLSTON, T. J. SFERRA, A. V. HERNANDEZ, C. J. DONSKEY // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2013; 68: 9: 1951–1961.

Экспозиция с антибиотиками — самый важный фактор риска для инфекции *Clostridium difficile* (CDI). Большинство исследований по оценке факторов риска выполнено в стационарных учреждениях здравоохранения. Задачей настоящего мета-анализа было оценить связь между экспозицией с антибиотиками и внебольничной CDI (CA-CDI) (проявление симптомов без помещения в стационар на протяжении 12 недель), и определить классы антибиотиков наибольшего риска. Были обследованы 4 электронные базы данных по заглавиям и ключевым словам текста, относящимся к CA-CDI и антибиотикам. Для изучения были выделены работы, рассматривающие риски CA-CDI, связанные с применением антибиотиков. Все данные из найденных исследо-

ваний были объединены на основе модели случайных эффектов, и были рассчитаны относительные риски. Из 910 идентифицированных исследований 8 ($n=30184$ больных) отвечали авторским критериям включения. Экспозиция с антибиотиками ассоциировалась с повышенным риском СА-CDI (OR 6,91, 95% ДИ 4,17–11,44, $I^2=95\%$). Наибольший риск наблюдался с клиндамицином (OR 20,43, 95% ДИ 8,50–49,09), затем следуют фторхинолоны (OR 5,65, 95% ДИ 4,38–7,28), цефалоспорины (OR 4,47, 95% ДИ 3,60–12,50), пенициллины (OR 3,25, 95% ДИ 1,89–5,57), макролиды (OR 2,55, 95% ДИ 1,91–3,39) и сульфонамиды/триметоприм (OR 1,84, 95% ДИ 1,48–2,29). Тетрациклины менее всего ассоциировались с повышенным риском CDI (OR 0,91, 95% ДИ 0,57–1,45). Таким образом, экспозиция с антибиотиками является важным фактором риска СА-CDI, но степень риска отличается для различных классов антибиотиков.

* Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, OH 44106, USA.

ПРИМЕНЕНИЕ ЦЕФЕПИМА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ENTEROBACTERIACEAE, ПРОДУЦИРУЮЩИМИ АМРС БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ.

THE USE OF CEFEPIME FOR TREATING AMPC β -LACTAMASE-PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE / P. D. TAMMA*, S. C. T. GIRDWOOD, R. GOPAUL, T. TEKLE, A. A. ROBERTS, A. D. HARRIS, S. E. COSGROVE, K. C. CARROLL // CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 2013; 57: 6: 781–788.

Инфекционные заболевания, обусловленные микроорганизмами, образующими AmpC бета-лактамазу, ассоциируются с тяжёлым течением болезни и высокой летальностью. Устойчивость к цефалоспорином 3-го поколения, индуцируемая экспозицией с данными антибиотиками, осложняет выбор терапии, в таком случае оптимальным выбором считаются карбапенемы. При этом остаётся неясной роль цефепима, что и послужило основанием для проведения сравнения клинических исходов у больных с инвазивными инфекциями, вызванными микроорганизмами-продуцентами AmpC бета-лактамаз, и получавших цефепим или меропенем. В период с февраля 2010 г. по январь 2011 г. из крови, бронхоальвеолярной и внутрибрюшинной жидкостей госпитализированных больных были выделены *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., и выполнена идентификация AmpC-продуцентов с использованием цефотетан-борониевых тест-

дисков и цефотетан-клоксациллин Е-теста, а также сравнены исходы для больных, инфицированных микроорганизмами — гиперпродуцентами AmpC бета-лактамазы (положительный тест по двум методикам) и леченных цефепимом или меропенемом. Перед выполнением регрессионного анализа во избежание предвзятости в выборе лечения для оценки был произведён подбор максимально сходных случаев из групп, получавших цефепим или меропенем в отношении 1:1. Из 399 больных, отвечающих критериям, у 96 (24%) было подтверждена инфекция, обусловленная микроорганизмом — продуцентом AmpC бета-лактамазы. Оценка 32 тщательно подобранных пар больных, инфицированных AmpC-продуцирующими бактериями и получавших цефепим или меропенем, не выявила различий между группами по показателю 30-дневной смертности (OR, 0,63; 95% ДИ, 0,23–2,11; $p=0,36$) и продолжительности нахождения в стационаре (OR, 0,96; 95% ДИ 0,79–1,26; $p=0,56$). Итак, цефепим приемлем при лечении инвазивных инфекций, вызванных AmpC-продуцирующими бактериями, при соблюдении соответствующего контроля происхождения инфекции.

* MD, MHS Johns Hopkins Medical Institutions, Department of Pediatrics, Division of Infectious Diseases, 200 N Wolfe St, Ste 3155, Baltimore, Maryland 21287.

ПОЯВЛЕНИЕ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ КОЛИСТИНОМ УСТОЙЧИВОГО К КОЛИСТИНУ ЧРЕЗВЫЧАЙНО РЕЗИСТЕНТНОГО ACINETOBACTER BAUMANNII, СОДЕРЖАЩЕГО НОВЫЙ ОПЕРОН PMRCAB.

EMERGENCE OF COLISTIN-RESISTANCE IN EXTREMELY DRUG-RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII CONTAINING A NOVEL PMRCAB OPERON DURING COLISTIN THERAPY OF WOUND INFECTIONS / E. LESHO*, E.-J. YOON, P. MCGANN, E. SNESRUD, Y. KWAK, M. MILILLO, F. ONMUS-LEONE, L. PRESTON, K. ST. CLAIR, M. NIKOLICH, H. VISCOUNT, G. WORTMANN, M. ZAPOR, C. GRILLOT-COURVALIN, P. COURVALIN, R. CLIFFORD, P. E. WATERMAN // THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES 2013; 208: 7: 1142–1151.

Колистин представляет клинический интерес, поскольку возрастает необходимость в нём при лечении инфекций, вызванных бактериями, устойчивыми ко всем антибиотикам, и ассоциирующихся с плохими исходами. Сведения, найденные в исследованиях *in vivo*, не многочисленны. В целях повышения качества интенсивных мер контроля за инфекциями были подвергнуты фенотипичес-

кому и молекулярному анализу бактерии с чрезвычайно высокой устойчивостью (XDR). В процессе лечения колистином было выявлено 28 XDR штаммов *Acinetobacter baumannii*, 14 из которых были чувствительны, а остальные 14 — устойчивы к колистину. Приобретение устойчивости к колистину не меняло устойчивости к другим антибиотикам. Штаммы имели низкие значения МПК включённых в исследование аминогликозидов, принадлежали к сиквенс-типу 94, не различались по данным PFGE и оптического картирования, и содержали новую *pmrC1A1B* аллель. Устойчивость к колистину ассоциировалась с точечными мутациями в *pmrA1* и/или *pmrB* генах. Дополнительные гомологи *pmrC*, обозначенные как *eptA-1* и *eptA-2*, находились в отдалённых локусах от оперона. По сравнению с чувствительными к колистину штаммами устойчивые штаммы демонстрировали значительно повышенную экспрессию *pmrC1A1B*, *eptA-1* и *eptA-2*, более низкую скорость роста, пониженный фитнес. Филогенетический анализ предполагает происхождение устойчивости к колистину от одного родительского чувствительного к колистину штамма. Проведённые исследования способствуют пониманию *in vivo* эволюции XDR штаммов *A. baumannii*, выделенных в ходе лечения инфекций, и подчёркивают важность наблюдения за антибиотикотерапией и выполнения контроля.

* 503 Robert Grant Ave, Silver Spring, MD 20910.

ГИПЕРТЕРМИЯ ПОВЫШАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *RHIZOPUS ORYZAE* К ПОСАКОНАЗОЛУ И ИТРАКОНАЗОЛУ ЧЕРЕЗ АПОПТОЗ.

HYPERTHERMIA SENSITIZES *RHIZOPUS ORYZAE* TO POSACONAZOLE AND ITRACONAZOLE ACTION THROUGH APOPTOSIS / F. SHIRAZI, M. A. PONTIKOS, T. J. WALSH, N. ALBERT, R. E. LEWIS, D. P. KONTOYIANNIS* // *ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY* SEPTEMBER 2013; 57: 9: 4360—4368.

Высокая смертность при общепринятой монотерапии мукормикозов повышает интерес к исследованию новых стратегий лечения противогрибковыми препаратами. Помимо амфотерицина В (АМВ) *in vitro* фунгистатической активностью в отношении *Rhizopus oryzae* обладают триазолы — посаконазол (ПКЗ) и итраконазол (ИКЗ). Было высказано предположение, что в случае роста при высокой температуре (42°C) активность ПКЗ и ИКЗ становится фунгицидной и выражается через апоптоз. При 25°C МПК для ПКЗ и ИКЗ в отношении *R. oryzae* была высокой (16—64 мкг/мл), при 37°C она значительно снижалась (8—16 мкг/мл), а при 42°C достигала 0,25—1 мкг/мл. Бо-

лее того, при 42°C дозозависимое подавление прорастания спор было более выражено, чем при 37°C. При экспозиции с антимикотиками при 42°C увеличивалось внутриклеточное содержание реактивных форм кислорода (РФК). Внутриклеточная аккумуляция РФК индуцировала появление характерных признаков апоптоза у *R. oryzae*. В клетках, обработанных ПКЗ или ИКЗ в сочетании с гипертермией (42°C), были обнаружены признаки раннего апоптоза: экстернализация фосфатидилсерина и деполяризация мембраны, визуализированные окрашиванием, соответственно аннексином V и бис-[1,3-дибутилбарбитуровая кислота]триметин оксоном (DiBAC), а также повышенная активность метакаспазы. Кроме того, методом TUNEL (мечение дУТФ-биотин-конца нитевого разрыва под действием терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы) и окрашиванием DAPI (4',6-диамино-2-фенилиндол) были продемонстрированы фрагментация и конденсация ДНК соответственно. Добавление N-ацетилцистеина повышало выживаемость грибка, предотвращало апоптоз, снижало аккумуляцию РФК и активацию метакаспазы. Было сделано заключение, что гипертермия, одна или в сочетании с ПКЗ или ИКЗ, индуцирует апоптоз у *R. oryzae*. Локальная термальная обработка может быть полезным вспомогательным средством при лечении рецидивирующих инфекций.

* Department of Infectious Diseases, Infection Control and Employee Health, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA.

НАНОНИЗАЦИЯ НИСТАТИНА УСИЛИВАЕТ *IN VITRO* И *IN VIVO* ПРОТИВОГРИБКОВУЮ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ *CANDIDA ALBICANS*.

NYSTATIN NANOSIZING ENHANCES *IN VITRO* AND *IN VIVO* ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST *CANDIDA ALBICANS* / A. MELKOUMOV, M. GOUPIL, F. LOUHICHI, M. RAYMOND, L. DE REPENTIGNY, GRÉGOIRE LECLAIR* // *JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY* 2013; 68: 9: 2099—2105.

Разработана лекарственная форма наносуспезии нистатина и проведена сравнительная оценка *in vitro* и *in vivo* противогрибковой активности новой лекарственной формы и коммерческих препаратов. Размер частиц наносуспезии нистатина, полученной измельчением обычной коммерческой суспензии во влажной среде, был определён лазерной диффракцией, а её состав — ВРЖХ. *In vitro* активность оценивали в отношении SC5314 и LAM-1 (12,5—5000 мкг/мл) штаммов *Candida albicans* на чашках с агаром, а эффективность *in vivo* — на модели орального кандидоза у мышей. Мышей

линии DBA/2, иммуносупрессированных кортизо-на ацетатом, перорально инфицировали *C.albicans* штамм LAM-1 и затем лечили обычной суспензией нистатина, наносуспензией нистатина или физиологическим раствором (контроль) в течение 14 дней. Показателями эффективности служили оральная грибковая нагрузка, выживаемость мышей, гистопатологическая картина органов. Выполнено фармакокинетическое исследование разовой дозы антимикотика. Средний размер частиц в суспензии нистатина в результате обработки был понижен с 6577 до 137 нм, содержание нистатина, по данным ВРЖХ, составляло $98,7 \pm 0,8\%$ от исходного. В пределах концентраций 100—5000 мкг/мл *in vitro* активность новой лекарственной формы превосходила активность обычной суспензии. На-

чина с 3-го дня лечения наносуспензией нистатина, грибковая нагрузка *C.albicans* в ротовой полости мышей была значительно ниже, чем в группе сравнения и контроле. Выживаемость животных, леченных наносуспензией нистатина, также была выше. Системной абсорбции не наблюдалось. Таким образом, нанонизация нистатина является новым способом повышения эффективности лечения орального кандидоза.

* Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, H3C 3J7 Montreal, Canada.

Подготовлено Н. С. Бондаревой

Указатель авторов и статей, опубликованных в журнале в 2013 году

Авдеев Л. В. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)
 Авласенко В. С. см. Гельберг И. С. и др. 3—4 (33)
 Агеевец В. А., Партина И. В., Лисицына Е. С., Батыршин И. М., Попенко Л. Н., Шляпников С. А., Ильина Е. Н., Сидоренко С. В. Чувствительность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, к антибиотикам различных групп 3—4 (10)
 Агеевец В. А. см. Сидоренко С. В. и др. 5—6 (55)
 Адонин В. К. см. Васильев А. Н. и др. 9—10 (45)
 Александрова И. А. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Александрова И. В. см. Черненькая Т. В. и др. 5—6 (11)
 Ангелова С. Н. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Анучина Н. М. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Анфимов П. М. см. Тандура С. Н. и др. 1—2 (36)
 Аристова В. А. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Байчоров И. Х. см. Фомин Е. В. и др. 7—8 (34)
 Батыршин И. М. см. Агеевец В. А. и др. 3—4 (10)
 Бидненко С. И. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)
 Бедова А. Ю. см. Белобородова Н. В. и др. 7—8 (48)
 Белобородова Н. В., Осипов А. А., Бедова А. Ю. Биологические свойства некоторых низкомолекулярных ароматических микробных метаболитов, ассоциированных с сепсисом 7—8 (48)
 Белогузова М. Б. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Беседнова Н. Н. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)
 Беседнова Н. Н. см. Кузнецова Т. А. и др. 11—12 (8)
 Блажеевский Н. Е., Карпова С. П., Кабачный В. И. Количественное определение пенициллинов методом йодометрии с использованием гидрогенпероксида моносульфата калия 11—12 (3)
 Блатун Л. А. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Бойченко Э. Г. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Богомолова Н. С. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Богомолова Т. С. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Богуш Т. А., Попова А. С., Дудко Е. А., Игнатова Е. О., Полоцкий Б. Е., Тюлядин С. А., Давыдов М. И. Дискордантность статуса эстрогеновых рецепторов между первичным и метастатическим раком молочной железы — возможные причины и прогностическая значимость 7—8 (40)
 Борисова Л. А. см. Черненькая Т. В. и др. 5—6 (11)
 Булгакова В. Г. см. Виноградова К. А. и др. 5—6 (38)
 Буренкова Л. А. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)
 Бычкова О. П. см. Тренин А. С. и др. 9—10 (3)

Ванечутте Марио см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)
 Василенко И. А. см. Кам Ань Ха и др. 1—2 (3)
 Василенко И. П., Романцов М. Г., Крюков А. И., Григорян С. С., Коваленко А. Л. Циклоферон как средство противорецидивной терапии больных хроническим гиперпластическим синуситом 7—8 (17)
 Васильев А. Н., Гавришина Е. В., Ниязов Р. Р., Снегирева А. А., Адонин В. К. Подтверждение качества, безопасности и эффективности биологических лекарственных препаратов при изменении технологии их производства 9—10 (45)
 Васильева Н. В. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Виноградова К. А., Булгакова В. Г., Полин А. Н., Кожевникова П. А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие 5—6 (38)
 Виноградова Т. И. см. Суханов Д. С. и др. 1—2 (13)
 Волкова А. Г. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Волосников Д. К. см. Серебрякова Е. Н. и др. 7—8 (12)
 Вольф С. Б. см. Гельберг И. С. и др. 3—4 (33)
 Ворошилова Т. М. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Вотяков В. И. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)

Гавришина Е. В. см. Васильев А. Н. и др. 9—10 (45)
 Гажва А. К. см. Кузнецова Т. А. и др. 11—12 (8)
 Гельберг И. С., Вольф С. Б., Суханов Д. С., Авласенко В. С., Шейфер Ю. А. Применение реамберина при химиотерапии туберкулёза и его влияние на показатели функции печени 3—4 (33)
 Глазырина Г. А. см. Серебрякова Е. Н. и др. 7—8 (12)
 Головачева В. Д. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)
 Гомберг М. А. Бактериальный вагиноз и трихомониаз: ведущие мировые руководства по тактике ведения и принципах терапии таких пациентов 1—2 (19)
 Гончар О. О. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)
 Гончар Н. В. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 11—12 (13)
 Горбунов В. А. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)
 Горбунова И. А. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)
 Гостев В. В., Попенко Л. Н., Черненькая Т. В., Науменко З. С., Ворошилова Т. М., Захарова Ю. А., Хохлова О. Е., Круглов А. Н., Ершова М. Г., Ангелова С. Н., Полетаева Е. Д., Молчанова И. В., Сидоренко С. В. Оценка чувствительности MRSA к оксациллину, цефокситину, ванкомицину и даптомицину 9—10 (13)
 Грамматикова Н. Э. см. Кам Ань Ха и др. 1—2 (3)
 Григорян С. С. см. Демченко Е. В. и др. 5—6 (24)
 Григорян С. С. см. Василенко И. П. и др. 7—8 (17)

Давыдов М. И. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)
 Демченко Е. В., Романцов М. Г., Григорян С. С., Коваленко А. Л. Циклоферон в комплексе медикаментозных мероприятий при хроническом ларингите 5—6 (24)
 Долгова Г. В. см. Шаповалова О. В. и др. 9—10 (41)
 Дугина Ю. Л. см. Жавберт Е. С. и др. 5—6 (17)
 Дудко Е. А. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)

Евдокимова А. Г., Жуколенко Л. В., Евдокимов В. В. Новые подходы к лечению инфекции *Helicobacter pylori* (по материалам IV Маастрихтского Консенсуса, Флоренция, 2010) 1—2 (8)
 Евдокимов В. В. см. Евдокимова А. Г. и др. 1—2 (8)
 Ершов Ф. И. см. Романцов М. Г. и др. 5—6 (49)
 Ершова М. Г. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Ефременкова О. В., Терехова Л. П. Рецензия на книгу Я. М. Галла «Георгий Францевич Гаузе (1910—1986)» 11—12 (43)

Жавберт Е. С., Дугина Ю. Л., Эпштейн О. И. Иммунотропные свойства анаферона и анаферона детского 5—6 (17)

Жуколенко Л. В. см. Евдокимова А. Г. и др. 1—2 (8)

Задерей Н. В. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)

Запорожец Т. С. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)

Запорожец Т. С. см. Кузнецова Т. А. и др. 11—12 (8)

Зарубаев В. В. см. Тандура С. Н. и др. 1—2 (36)

Захарова Ю. А. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Звягинцева Т. Н. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)

Зенченкова А. В. см. Кибрик Б. С. и др. 11—12 (23)

Зубаровская Л. С. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Зюзгин И. С. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Иванов В. М., Иванова О. В., Шейкин М. В. Роль внутрикостного введения антибиотиков при лечении местнораспространённого рака слизистой оболочки полости рта 7—8 (30)

Иванова Е. В. см. Кибрик Б. С. и др. 11—12 (23)

Иванова О. В. см. Иванов В. М. и др. 7—8 (30)

Иванушко Л. А. см. Кузнецова Т. А. и др. 11—12 (8)

Игнатова Е. О. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)

Ильина Е. Н. см. Агеев В. А. и др. 3—4 (10)

Ильина Е. Н. см. Любасовская Л. А. и др. 3—4 (25)

Иоффе А. М. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Исрафилова О. Е. см. Харитонова Л. А. и др. 11—12 (19)

Кабачный В. И. см. Блажеевский Н. Е. и др. 11—12 (3)

Казачинская Е. И. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)

Кам Ань Ха, Грамматикова Н. Э., Василенко И. А., Кедик С. А. Сравнительная оценка антибактериальной активности полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и полигексаметиленгуанидина сукцинат-тав опытах *in vitro* 1—2 (3)

Карпова С. П. см. Блажеевский Н. Е. и др. 11—12 (3)

Кедик С. А. см. Кам Ань Ха и др. 1—2 (3)

Кибрик Б. С., Зенченкова А. В., Терехина Л. М., Со-снина О. Ю., Иванова Е. В. Множественная резистентность микобактерий к антибактериальным препаратам у впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания 11—12 (23)

Кимирилова О. Г., Романцов М. Г., Харченко Г. А. Иммунотропная терапия арбовирусных инфекций у детей 3—4 (43)

Киселев О. И. см. Тандура С. Н. и др. 1—2 (36)

Климко Н. Н. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Климович А. В. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Коваленко А. Л. см. Демченко Е. В. и др. 5—6 (24)

Коваленко А. Л. см. Романцов М. Г. и др. 5—6 (49)

Коваленко А. Л. см. Василенко И. П. и др. 7—8 (17)

Кожевин П. А. см. Виноградова К. А. и др. 5—6 (38)

Козлов В. К. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)

Колбин А. С. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Корниенко М. А. см. Любасовская Л. А. и др. 3—4 (25)

Косогова Т. А. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)

Косолапов Д. А. см. Черненькая Т. В. и др. 5—6 (11)

Костюк Г. В. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)

Круглов А. Н. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Крыжановский С. П. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)

Крюков А. И. см. Василенко И. П. и др. 7—8 (17)

Кузнецова Т. А., Запорожец Т. С., Беседнова Н. Н., Тимченко Н. Ф., Крыжановский С. П., Головачева В. Д., Звягинцева Т. Н., Шевченко Н. М. Эффективность нового синбиотического напитка при лечении хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта с сопутствующим дисбактериозом кишечника 9—10 (21)

Кузнецова Т. А., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Смолина Т. П., Гажя А. К., Иванушко Л. А. Сравнительное исследование иммуномодулирующей активности пептидов — тинростима и тималина 11—12 (8)

Курлуков А. И. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)

Лавренов С. Н. см. Тренин А. С. и др. 9—10 (3)

Лисицына Е. С. см. Агеев В. А. и др. 3—4 (10)

Либеранская О. М. см. Романцов М. Г. и др. 5—6 (49)

Локтев В. Б. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)

Ло Скиаво Л. А., Гончар Н. В., Федорова М. С., Суворов А. Н. Динамика контаминации и персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника у новорождённых детей во время антибиотикотерапии и приёма пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 11—12 (13)

Лысенко И. М., Романцов М. Г. Повторная респираторная заболеваемость детей 1—2 (27)

Любасовская Л. А., Корниенко М. А., Припутневич Т. В., Ильина Е. Н., Щеголев А. И. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика коагулазонегативных стафилококков, выделенных у новорождённых отделения реанимации и интенсивной терапии 3—4 (25)

Лютко О. Б. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)

Макушенко А. С. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)

Мальев В. П., Пеньков Д. Б., Чирюкина О. И. Циклоферон в терапии острых и хронических форм вирусного гепатита С 9—10 (34)

Медведева Н. В. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)

Мишаева Н. П., Вотьяков В. И., Титов Л. П., Нараленков В. А., Нехай М. Р., Синкевич В. В., Курлуков А. И., Горбунов В. А. Новый подход к постэкспозиционному лечению бешенства комплексом иммуно- и химиотерапии в Беларуси 11—12 (31)

Молчанова И. В. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Москвитина Г. Г. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Назарчук А. А. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)

Назарчук Г. Г. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)

Нараленков В. А. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)

Науменко З. С. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Неугодова Н. П. см. Шаповалова О. В. и др. 9—10 (41)

Нехай М. Р. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)

Никитин А. В. Молекулярные и клеточные механизмы действия финголимода 11—12 (38)

Никитина О. В. см. Черненькая Т. В. и др. 5—6 (11)

Ниязов Р. Р. см. Васильев А. Н. и др. 9—10 (45)

Новикова В. П. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Новикова Е. Л. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Озерянская Н. М. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)

Осипов А. А. см. Белобородова Н. В. и др. 7—8 (48)

Оюнгелер М. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)

Павлова М. В. см. Суханов Д. С. и др. 1—2 (13)
 Палий Г. К., Назарчук А. А., Палий Д. В., Назарчук Г. Г., Гончар О. О., Сухляк В. В., Трофименко Ю. Ю., Заде-рей Н. В., Стукан О. К. Антимикробные свойства антисептической композиции пролонгированного действия 3—4 (14)

Палий Д. В. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)
 Партина И. В. см. Агеевец В. А. и др. 3—4 (10)
 Партина И. В. см. Сидоренко С. В. и др. 5—6 (55)
 Пеньков Д. Б. см. Малый В. П. и др. 9—10 (34)
 Перунова Н. Б. см. Чуркина Л. Н. и др. 11—12 (26)
 Писарев В. В. Сравнение антибактериальной ак-тивности ингаляционных форм препаратов тобра-мицина 3—4 (19)

Подборонов В. М., Щелканов М. Ю., Смирнова И. П., Буренкова Л. А., Новикова В. П., Аристова В. А., Но-викова Е. Л., Москвитина Г. Г., Иоффе А. М. Бакте-рицидное действие лизоцима 3—4 (22)

Подольцева Э. И. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Полетаева Е. Д. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Полин А. Н. см. Виноградова К. А. и др. 5—6 (38)
 Полоцкий Б. Е. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)
 Попенко Л. Н. см. Агеевец В. А. и др. 3—4 (10)
 Попенко Л. Н. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Попов Д. А., Анучина Н. М., Терентьев А. А., Костюк Г. В., Блатун Л. А., Русанова Е. В., Александрова И. А., Пхакадзе Т. Я., Богомолова Н. С., Терехова Р. П. Ди-оксидин: антимикробная активность и перспекти-вы клинического применения на современном эта-пе 3—4 (37)

Попов С. В. Рациональная антимикробная терапия хронического бактериального простатита 5—6 (32)
 Попова А. С. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)
 Попова М. О. см. Хостелиди С. Н. и др. 7—8 (23)
 Припутневич Т. В. см. Любасовская Л. А. и др. 3—4 (25)
 Пучкова Л. И. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)
 Пхакадзе Т. Я. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)

Разумов И. А., Казачинская Е. И., Пучкова Л. И., Косогова Т. А., Горбунова И. А., Локтев В. Б., Теп-лякова Т. В. Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при эксперимен-тальной герпесвирусной инфекции у белых мы-шей 9—10 (8)

Рей С. И. см. Черненькая Т. В. и др. 5—6 (11)
 Романцов М. Г. см. Лысенко М. И. 1—2 (27)
 Романцов М. Г. см. Кимирилова О. Г. и др. 3—4 (43)
 Романцов М. Г. см. Демченко Е. В. и др. 5—6 (24)
 Романцов М. Г., Ершов Ф. И., Коваленко А. Л., Суха-нов Д. С., Либеранская О. М. Лечение вирусных ин-фекций посредством применения в комплексной терапии индукторов интерферона 5—6 (49)
 Романцов М. Г. см. Василенко И. П. и др. 7—8 (17)
 Романцов М. Г. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)
 Романцов М. Г. см. Харитонова Л. А. и др. 11—12 (19)
 Русанова Е. В. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)

Сапожникова Г. А. см. Шаповалова О. В. и др. 9—10 (41)

Серебрякова Е. Н., Волосников Д. К., Глазырина Г. А. Особенности антибактериальной терапии новорож-дённых с полиорганной недостаточностью 7—8 (12)

Сидоренко С. В. см. Агеевец В. А. и др. 3—4 (10)
 Сидоренко С. В., Партина И. В., Агеевец В. А. Ими-пенем: 30 лет терапии 5—6 (55)

Сидоренко С. В. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)
 Сизова Ж. М. см. Фомин Е. В. и др. 7—8 (34)

Синкевич В. В. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)
 Смирнова И. П. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)
 Смолина Т. П. см. Кузнецова Т. А. и др. 11—12 (8)

Снегирева А. А. см. Васильев А. Н. и др. 9—10 (45)
 Сологуб Т. В. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)
 Соснина О. Ю. см. Кибрик Б. С. и др. 11—12 (23)

Стельмах В. В., Романцов М. Г., Сологуб Т. В., Шуль-дяков А. А., Козлов В. К., Туан Н. Х., Оюнгерел М., Фролов В. М. Сравнительная эффективность этиот-ропной терапии больных HBeAg-позитивным хро-ническим гепатитом В (по материалам междуна-родного сравнительного плацебо контролируемого исследования) 9—10 (27)

Стукан О. К. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)
 Суворов А. Н. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 11—12 (13)
 Суханов Д. С., Павлова М. В., Яблонский П. К., Вино-градова Т. И. Сравнительная эффективность клини-ческого применения реамберина, ремаксоло и аде-метионина у больных туберкулёзом органов дыхания с лекарственными поражениями печени 1—2 (13)
 Суханов Д. С. см. Гельберг И. С. И др. 3—4 (33)
 Суханов Д. С. см. Романцов М. Г. и др. 5—6 (49)
 Сухляк В. В. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)

Тандура С. Н., Зарубаев В. В., Анфимов П. М., Кисе-лев О. И. Противогриппозный химиопрепарат Дей-тифорин 1—2 (36)

Теплякова Т. В. см. Разумов И. А. и др. 9—10 (8)
 Терентьев А. А. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Терехина Л. М. см. Кибрик Б. С. и др. 11—12 (23)

Терехова Л. П. см. Ефременкова О. В. и др. 11—12 (43)
 Терехова Р. П. см. Попов Д. А. и др. 3—4 (37)
 Тимченко Н. Ф. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)

Титов Л. П. см. Мишаева Н. П. и др. 11—12 (31)
 Тренин А. С. Микробная тест-система для поиска ингибиторов биосинтеза стеролов 3—4 (3)

Трофименко Ю. Ю. см. Палий Г. К. и др. 3—4 (14)
 Тренин А. С. Микробная модель *Halobacterium sali-narum* для поиска ингибиторов биосинтеза стеро-лов 5—6 (3)

Тренин А. С. Микробные модели для поиска инги-биторов биосинтеза стеролов 7—8 (3)

Тренин А. С., Цвигун Е. А., Бычкова О. П., Лавренев С. Н. Микробная модель *Halobacterium salinarum* в отборе синтетических аналогов антибиотика турбомицина А, обладающих противоопухолевым действием 9—10 (3)

Туан Н. Х. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)
 Тюляндин С. А. см. Богуш Т. А. и др. 7—8 (40)

Федорова М. С. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 11—12 (13)
 Фомин Е. В., Байчоров И. Х., Ших Е. В., Сизова Ж. М. Доклиническое изучение влияния лекарственных средств на активность цитохрома Р450 и прогнози-рование субстратной принадлежности как способ прогнозирования безопасности применения ком-бинированной терапии 7—8 (34)

Фролов В. М. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)

Харитонова Л. А., Ибрафилова О. Е., Романцов М. Г. Коррекция иммунного дисбаланса у детей, часто болеющих повторными респираторными инфекциями 11—12 (19)

Харченко Г. А. см. Кимирилова О. Г. и др. 3—4 (43)
Хостелиди С. Н., Волкова А. Г., Попова М. О., Богомолова Т. С., Колбин А. С., Бойченко Э. Г., Подольцева Э. И., Климович А. В., Белогурова М. Б., Медведева Н. В., Зюзгин И. С., Зубаровская Л. С., Васильева Н. В., Клишко Н. Н. Мукормикоз у онкогематологических больных в Санкт-Петербурге 7—8 (23)

Хохлова О. Е. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Цвигун Е. А. см. Тренин А. С. и др. 9—10 (3)

Черненко Т. В., Борисова Л. А., Александрова И. В., Рей С. И., Никитина О. В., Косолапов Д. А. Динамика структуры возбудителей бактериемии и сепсиса у реанимационных больных в многопрофильном стационаре скорой помощи 5—6 (11)

Черненко Т. В. см. Гостев В. В. и др. 9—10 (13)

Чирюкина О. И. см. Малый В. П. и др. 9—10 (34)

Чуркина Л. Н., Бидненко С. И., Ванечутте Марио, Авдеев Л. В., Макушенко А. С., Лютко О. Б., Озерян-

ская Н. М., Перунова Н. Б. Алгоритм идентификации атипичных форм стафилококков (SSCVs) — возбудителей хронических гнойно-воспалительных процессов у людей 11—12 (26)

Шаповалова О. В., Долгова Г. В., Неугодова Н. П., Сапожникова Г. А. Использование органических растворителей для определения показателя «Бактериальные эндотоксины» в фармацевтических субстанциях, нерастворимых в воде 9—10 (41)

Шевченко Н. М. см. Кузнецова Т. А. и др. 9—10 (21)

Шейкин М. В. см. Иванов В. М. и др. 7—8 (30)

Шейфер Ю. А. см. Гельберг И. С. и др. 3—4 (33)

Ших Е. В. см. Фомин Е. В. и др. 7—8 (34)

Шляпников С. А. см. Агеев В. А. и др. 3—4 (10)

Шульдяков А. А. см. Стельмах В. В. и др. 9—10 (27)

Щеголев А. И. см. Любасовская Л. А. и др. 3—4 (25)

Щелканов М. Ю. см. Подборонов В. М. и др. 3—4 (22)

Эпштейн О. И. см. Жавберг Е. С. и др. 5—6 (17)

Яблонский П. К. см. Суханов Д. С. и др. 1—2 (13)

**ЕСЛИ ТРЕБУЕТСЯ ЭМПИРИЧЕСКОЕ
ЛЕЧЕНИЕ ГРАМ (+) ИНФЕКЦИЙ...**

КУБИЦИН
даптомицин

MSSA
ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

S. AUREUS
ВЫСОКИЙ
РИСК

S. EPIDERMIDIS
MRSA

- ▶ **MRSA — инфекция почти вдвое повышает риск летального исхода⁹**
- ▶ **Отсроченная терапия бактериемии, увеличивает летальность и длительность госпитализации¹⁰**
- ▶ **«...большинство экспертов готовы предпочесть бактерицидный препарат бактериостатическому при сепсисе/бактериемии...»¹¹**
- ▶ **«...бактерицидная терапия обеспечивает лучший результат за счет более быстрой гибели бактерий...»¹¹**

- ▶ **Быстрый бактерицидный эффект в отношении широкого спектра грамположительных бактерий^{1,2}**
- ▶ **Действует как на MRSA, так и на MSSA^{3,4}**
- ▶ **Действует быстрее стандартной терапии⁵**
- ▶ **Хорошо проникает в биопленки и вегетации^{5,6}**
- ▶ **Хорошо переносится⁸**
- ▶ **Применяется один раз в день⁸**

КУБИЦИН / CUBICIN®. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Регистрационное удостоверение: № ЛСР-005067/09

Лекарственная форма. Даптомицин. Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, 350 мг, 500 мг. Показания. Осложненные инфекции кожи и мягких тканей у взрослых, бактериемия, вызванная *Staphylococcus aureus*, включая установленный или предполагаемый инфекционный эндокардит у взрослых. Противопоказания. Гиперчувствительность к даптомицину или вспомогательным веществам. Способ применения и дозы. Кубицин вводится внутривенно струйно в течение как минимум 2 минут, путем внутривенной инфузии в течение как минимум 30 минут. Осложненные инфекции кожи и мягких тканей. Рекомендуемая доза для взрослых - 4 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7-14 дней или до исчезновения инфекции. Бактериемия, вызванная *Staphylococcus aureus*, включая установленный или предполагаемый инфекционный эндокардит. Рекомендуемая доза для взрослых - 6 мг/кг 1 раз в сутки в течение 2-6 недель по усмотрению лечащего врача. У пациентов с клиренсом креатинина < 30 мл/мин или больных, получающих гемодиализ или непрерывный амбулаторный перитонеальный диализ, интервал между введениями Кубицина должен быть увеличен до 48 часов. Препарат Кубицин следует вводить сразу после выполнения процедуры гемодиализа. Поскольку эффективность и безопасность Кубицина у детей и подростков не установлена, препарат не рекомендуется применять у данной категории больных. С осторожностью. На фоне применения препарата отмечалось развитие анафилактических реакций и реакций гиперчувствительности. Пациенты с явлениями диареи, принимающие препарат Кубицин, требуют повышенного внимания из-за риска развития *Clostridium difficile* инфекции. В случае подозрения/подтверждения диареи, вызванной *Clostridium difficile*, лечение следует прекратить и при необходимости назначить соответствующую терапию. Если на фоне применения препарата Кубицин наблюдаются ухудшение течения или рецидивирование бактериального эндокардита, вызванного *Staphylococcus aureus*, или отмечается низкая клиническая эффективность препарата, следует провести повторное выделение возбудителя из крови пациента. Может потребоваться соответствующее хирургическое вмешательство или назначение другого антибактериального препарата. У пациентов, получающих лечение препаратом Кубицин, возможно развитие резистентности к препарату. При развитии антибиотикорезистентности к даптомицину необходимо принять соответствующие меры. Возможно ошибочное повышение показателя отношения протромбинового времени/международного нормализованного отношения (ПТВ/МНО). При применении препарата Кубицин отмечались случаи поражения мышц (включая рабдомиолиз). Активность креатинин-фосфокиназы (КФК) плазмы крови необходимо определять до начала терапии и во время лечения препаратом Кубицин у всех пациентов, при назначении препарата вместе с миотоксическими ЛМТ-КоА-редуктазы. Определение КФК следует проводить чаще. При развитии симптомов миопатии и повышении активности КФК более чем 1000 МЕ/л или при повышении активности КФК более чем 2000 МЕ/л (10xВН) при отсутствии симптомов миопатии лечение препаратом следует прекратить. На фоне применения препарата повышался риск развития зоонозной пневмонии. При развитии проявлений зоонозной пневмонии на фоне применения препарата Кубицин, необходимо незамедлительно отменить лечение, назначив обследование и соответствующую терапию, включая глюкокортикостероиды. Возможна отмена терапии ингибиторами ТМТ-КоА-редуктазы при совместном назначении с препаратом Кубицин. Необходимо с осторожностью назначать Кубицин пациентам с нарушениями функции почек (КФ < 30 мл/мин), включая тяжелые нарушения функции почек (с 9 баллов по шкале Child-Pugh), а также больным старше 65 лет. Назначать препарат при беременности следует только в тех случаях, когда ожидаемая польза для матери превышает потенциальный риск для плода. На время применения препарата грудное вскармливание следует прекратить. Следует с осторожностью применять Кубицин вместе с потенциально нефротоксичными препаратами, обеспечив дополнительный регулярный контроль функции почек у всех больных (независимо от исходного состояния функции почек). Неизвестности. Редко: смешивать Кубицин с глюкозо-электролитными растворами, а также другими лекарственными средствами, за исключением вышеуказанных. Побочные эффекты. Частота ≥ 1% (10%): грибовидные инфекции (включая кандидоз), инфекции мочевыводящих путей; анемия; тремор; бессонница; головная боль; головокружение; снижение или повышение артериального давления (АД); боль в животе, запор, тошнота, рвота, диарея, вздутие и болезненное напряжение живота; сыпь, зуд; боль в конечностях; реакции в месте введения препарата; повышение температуры тела; астения; повышение активности КФК; нарушения лабораторных показателей функции печени (повышение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ)). Нечасто (≥ 0,1-1%): грибовидный сепсис; тромбоцитоз; знобики; снижение аппетита, гипергликемия; нарушения электролитного баланса; парестезии; головная боль; тошнота, рвота; тахикардия; суправентрикулярная аритмия; «грибовидные» кожные высыпания; диспепсия; крапивница; мышечная боль, мышечная слабость, артралгия; нарушения функции почек, включая почечную недостаточность; вагинит; повышенная утомляемость, озноб; повышение активности лактатдегидрогеназы крови; повышение концентрации креатинина в плазме крови, увеличение МНО. Редко (≥ 0,01-0,1%): желтуха; увеличение протромбинового времени. Данные постмаркетинговых наблюдений: реакции гиперчувствительности, включая зоонозные инфекции в легких, ангионевротический отек, лекарственную сыпь с зоонозными и системными симптомами - DRESS-синдром и анафилактический шоком; периферическая нейропатия; диарея, вызванная *Clostridium difficile*; кашель, возбудительно-буллезная сыпь без поражения слизистых оболочек; зоонозная пневмония, повышение концентрации миоглобина в крови и моче. Применение для врача. Прежде, чем назначить препарат, пожалуйста, прочитайте также инструкцию по медицинскому применению.

НОВАРТИС ФАРМА АГ, ШВЕЙЦАРИЯ, ПРОИЗВЕДЕНА НОВАРТИС ФАРМАСЮТИКАЛЗ ЮК ЛТД, ВЕЛИКОБРИТАНИЯ.

MRSA — метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*.
MSSA — метициллин-чувствительный *Staphylococcus aureus*.
ИКМТ — инфекции кожи и мягких тканей.

* Ванкомицин/полусинтетические пенициллины.

ЛИТЕРАТУРА: 1. Rybak MJ et al. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, linezolid, and quinupristin-dalfopristin against staphylococci and enterococci, including vancomycin-intermediate and -resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:1062-6. 2. Tedesco KL and Rybak MJ. Daptomycin. *Pharmacotherapy*. 2004;24:41-57. 3. Arbeit RD et al. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. *Clin Infect Dis*. 2004;38:1673-81. 4. Fowler VG et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med*. 2006;355:653-65. 5. Chaftari A-M et al. Efficacy and safety of daptomycin in the treatment of Gram-positive catheter-related bloodstream infections in cancer patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Aug;36(2):182-6. Epub 2010 May 8. 6. Raad I et al. Comparative Activities of daptomycin, linezolid and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus bacteremia* isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:1656-1660. 7. Marco F et al. Daptomycin is effective in treatment of experimental endocarditis due to methicillin-resistant and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; Jul; 52 (7): 2538-43. 8. Инструкция по медицинскому применению препарата Кубицин. 9. Whitby M. et al. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *MJA* 2001; 175: 264-267. 10. Lodise TP et al. Outcomes analysis of delayed antibiotic treatment for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin. Infect Dis* 2003;36:1418-1423. 11. I.M. Gould. MRSA bacteraemia. *International Journal of Antimicrobial Agents* 30S (2007) S66-S70.

NOVARTIS

ООО «Новartis Фарма»
115035, г. Москва, ул. Садовническая, 82/2.
Тел. (495) 967-12-70; Факс (495) 967-12-68
www.novartis.ru

КУБИЦИН
даптомицин

**Простое решение для терапии
грамположительных инфекций**

70467/Cub/A4/10.10.152000