

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 59



11-12'2014

Научно-практический журнал

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

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

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

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

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: gncajournal@yandex.ru
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 2014

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 15.01.2015

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 59

11—12'2014

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

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

Зам. главного редактора — к. м. н. Буданов С. В.
Отв. секретарь — к. м. н. Гучев И. А.
Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Член-корр РАМН, проф., д. м. н. Белоусов Ю. Б.
Проф., д. м. н. Белобородов В. А.
Проф. Говорун В. М.
Проф. Гомберг М. А.
Д. б. н. Даниленко В. Н.
Проф. Климко Н. Н.
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.
Проф., д. м. н. Никитин А. В.
Проф., д. х. н. Преображенская М. Н.
Проф. Руднов В. А.
Проф. Тишков В. Н.
Проф., д. б. н. Фирсов А. А.
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.
Проф. Яроцкий С. В.

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Клясова Г. А.
Бибикина 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

Ананьева Е. П., Баранов С. С., Караваева А. В.,
Борисенко М. С., Соловский М. В., Захарова Н. В.,
Праздникова Т. А., Тарабукина Е. Б.
Полимерные комплексы офлоксацина
и их антибактериальная активность
Смирнова И. П., Раковская И. В.
Исследование антимикоплазменной активности
культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai
F-180 — продуцента противопопулового и антивирусного
фермента L-лизин- α -оксидазы.
Синёва О. Н., Куликова Н. Г.,
Филиппова С. Н., Терехова Л. П.
Хранение культур актинобактерий — представителей
родов *Streptomyces* и *Nonomuraea* методом
низкотемпературной консервации.
Селянская Н. А., Тришина А. В., Веркина Л. М.,
Архангельская И. В., Кругликов В. Д., Зленко Ю. М.
Чувствительность к антибактериальным препаратам
штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп,
выделенных из объектов окружающей среды
в Ростовской области
Коленчукова О. А., Сарматова Н. И.
Механизмы воздействия устойчивых к метициллину
штаммов *Staphylococcus aureus* на функциональное
состояние нейтрофильных гранулоцитов
Бильченко А. В., Чуб О. И.
Распространенность БЛРС типов TEM, SHV, CTX-M
среди возбудителей хронического пиелонефрита

В помощь практикующему врачу

Исаков В. А., Исаков Д. В.
Иммуномодуляторы в терапии респираторных инфекций
Соколова В. И., Сычев Д. А., Бабарина М. Б., Зайков Д. А.
Перспектива применения левофлоксацина для лечения
больных с бронхо-легочными заболеваниями и с гнойно-
воспалительными поражениями кожи и мягких тканей

Обзоры

Ершов Ф. И., Полосков В. В.
Современные отечественные этиотропные
противогриппозные препараты

**По страницам журналов
Указатель авторов и статей,
опубликованных в 2014 году**

Original Papers

- 3 Ananyeva E. P., Baranov S. S., Karavaeva A. V.,
Borisenko M. S., Solovskiy M. V., Zacharova N. V.,
Prazdnikova T. A., Tarabukina E. B.
Polymer Complexes of Ofloxacin
and Their Antibacterial Activity
- 7 Smirnova I. P., Rakovskaya I. V.
Antimycoplasmic Activity of Fermentation Broth
of *Trichoderma harzianum* Rifai F-180,
an Organism Producing L-Lysine- α -Oxidase,
an Antitumor and Antiviral Enzyme
- 11 Sineva O. N., Kulikova N. G.,
Filippova S. N., Terekhova L. P.
Storage of Actinobacteria of the Genera
Streptomyces and *Nonomuraea*
by Low Temperature Preservation
- 16 Selyanskaya N. A., Trishina A. V., Verkina L. M.,
Arkhangelskaya L. V., Kruglikova V. D., Zlenko Yu. M.
Antibiotic Susceptibility of *Vibrio cholera*
non O1/non O139 Serogroups Isolated
from Environment in the Rostov Region
- 20 Kolenchukova O. A., Sarmatova N. I.
Mechanisms of Influence of Methicillin Resistant
Staphylococcus Aureus on Functional State
of Neutrophilic Granulocytes
- 24 Bilchenko A. V., Chub O. I.
Prevalence of Types TEM, SHV and CTX-M β LES Among
Pathogens of Chronic Pyelonephritis

Guidelines for Practitioners

- 27 Isakov V. A., Isakov D. V.
Immunomodulators in Therapy of Respiratory Infections
- 35 Sokolova V. I., Sychev D. A., Babarina M. B., Zaikov D. A.
Prospects of Levofloxacin Use in Therapy of Patients
with Bronchopulmonary Diseases or Skin and Soft
Tissue Pyo-Inflammatory Lesions

Reviews

- 40 Ershov F. I., Poloskov V. V.
Modern Russian Etiotropic
Antiinfluenza Drugs

Abstracts

- 53 Index of Authors and Papers
Published In 2014

* 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.

Полимерные комплексы офлоксацина и их антибактериальная активность

Е. П. АНАНЬЕВА¹, С. С. БАРАНОВ¹, А. В. КАРАВАЕВА¹, М. С. БОРИСЕНКО^{2,3}, М. В. СОЛОВСКИЙ^{2,3}, Н. В. ЗАХАРОВА², Т. А. ПРАЗДНИКОВА², Е. Б. ТАРАБУКИНА²

¹ Санкт-Петербургская Государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург

² Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Санкт-Петербург

Polymer Complexes of Ofloxacin and Their Antibacterial Activity

E. P. ANANYEVA, S. S. BARANOV, A. V. KARAVAEVA, M. S. BORISENKO, M. V. SOLOVSKIY, N. V. ZACHAROVA, T. A. PRAZDNIKOVA, E. B. TARABUKINA

St. Petersburg State Chemico-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg

Institute of High Molecular Compounds, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

St. Petersburg State Polytechnical University, St. Petersburg

С целью создания малотоксичных пролонгированных форм монофторхинолона офлоксацина получены его водорастворимые полимерные комплексы. В качестве полимеров-комплексобразователей синтезированы катионные сополимеры N-винилпирролидона (ВП) с 2-аминоэтилметакрилатом и его гидрохлоридом (2-АЭМ · HCl), содержащие 10,9—28,3 мол. % -NH₂ или -NH₃Cl группы с молекулярными массами (ММ) 10500—89000, проявляющие собственную антимикробную активность. Полимерные комплексы содержали 18—36% фторхинолона и обладали высокой антимикробной активностью в отношении стафилококка и кишечной палочки, возрастающей с увеличением содержания офлоксацина в комплексе и с уменьшением его ММ. При исследовании кинетики высвобождения офлоксацина из его полимерного комплекса с ММ 60000, содержащего 36% фторхинолона, в буфере с pH 2,0 при 37°C обнаружено пролонгированное выделение лекарственного вещества из комплекса. При определении острой токсичности офлоксацина и сополимера ВП, содержащего 20,8 мол. % -NH₃Cl групп, с ММ 51000, в опытах на мышах при внутрибрюшинном введении установлено, что офлоксацин является нетоксичным антимикробным препаратом, а полимерный носитель — малотоксичным веществом.

Ключевые слова: полимерные комплексы офлоксацина, катионные полимеры, антибактериальная активность, острая токсичность.

To lower the toxicity and to prolong the action of the monofluoroquinolone ofloxacin, its water-soluble polymer complexes were developed. Cationic copolymers of N-vinylpyrrolidone (VP) with 2-aminoethylmethacrylate (2-AEM) and its hydrochloride (2-AEM-HCl), containing 10.9—28.3 mol. % -NH₂ or -NH₃Cl group with the molecular mass (MM) of 10500 to 89000 were synthesized as the complex-forming polymers. The cationic copolymers showed their own antimicrobial activity. The polymer complexes contained 18—36% of fluoroquinolone and had high antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli*, that increased with an increase of the ofloxacin content in the complex and a decrease of its MM. The kinetic studies on the ofloxacin release from its polymer complex with MM of 60000, containing 36% of fluoroquinolone revealed prolongation of the medicinal substance release from the complex in the buffer solution at pH 2.0 and a temperature of 37°C. The acute toxicity tests on mice with intraperitoneal administration of ofloxacin and copolymer VP containing 20.8 mol. % -NH₃Cl group (MM of 51000) showed that ofloxacin was a nontoxic antimicrobial and the polymer carrier was a low toxic substance.

Key words: ofloxacin polymer complexes, cationic polymers, antibacterial activity, acute toxicity.

Введение

С практической точки зрения важнейшим является создание пролонгированных лекарственных форм современных антимикробных препаратов, способных обеспечить поддержание в организме необходимые концентрации на протяжении всего срока развития инфекционного процесса за счёт иммобилизации препаратов поли-

мерными носителями. Важно создание не только пролонгированных, но и малотоксичных форм антимикробных средств.

В настоящей работе в качестве такого средства выбран монофторхинолон офлоксацин. Как и другие фторхинолоны, офлоксацин обладает широким спектром антибактериального действия, влияет и на микобактерии туберкулеза, включая резистентные формы [1]. Он эффективен в отношении микроорганизмов, устойчивых к большинству антибиотиков и сульфаниламидов, оказывает бактерицидное действие. Механизм

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 197022 Санкт-Петербург, Набережная реки Карповки, дом 13, офис 28. СПб Государственная химико-фармацевтическая академия

Таблица 1. Характеристика полимеров-носителей и их комплексов с офлоксацином

Сополимер-носитель				Полимерный комплекс			
обозначение	содержание NH ₃ Cl или NH ₂ групп, мол. %	[η]*, дл/г	ММ, Да	обозначение	выход, %	содержание офлоксацина, %	
						обнаружено	вычислено
I-1	20,8	0,27	51000	III-1	74,7	29,6	30,0
I-2	27,9	0,44	89000	III-2	74,8	32,3	30,0
I-3	10,9	0,09	10500	III-3	74,6	28,1	25,0
II-1	34,6	0,25	60000	IV-1	91,0	36,1	35,0
II-1	34,6	0,25	60000	IV-2	98,6	26,0	25,0
II-1	34,6	0,25	60000	IV-3	96,0	17,7	16,0

Примечание. * [η] — характеристическая вязкость, определена в 0,1 н растворе ацетата натрия в воде при 25°C.

антимикробного действия офлоксацина, как и всех фторхинолонов, заключается в ингибировании фермента ДНК-гиразы — ключевого фермента бактериальной клетки, ответственного за процесс суперспирализации ДНК. Офлоксацин часто назначают внутрь (при лечении туберкулёза, раневой инфекции мягких тканей) [1, 2].

Цель настоящей работы — создание водорастворимых полимерных форм офлоксацина для перорального применения, исследование их антимикробного действия, острой токсичности и скорости выделения из них офлоксацина в модельных средах.

В качестве метода получения таких форм офлоксацина, содержащего карбоксильную группу, было выбрано комплексообразование его с катионными полимерами-носителями: сополимерами N-винилпирролидона (ВП) с гидроклоридом 2-аминоэтилметакрилата (ГХ 2-АЭМ) — I и с сополимерами ВП с 2-аминоэтилметакрилатом (2-АЭМ) — II, содержащими первичные -NH₂ группы. Выбор сополимеров N-винилпирролидона, содержащих функциональные группы, для модификации офлоксацина не случаен, поскольку ввиду биосовместимости, гидрофильности и нетоксичности они широко и успешно используются в качестве полимеров-носителей многих лекарственных препаратов [3].

Материал и методы

Химические методы. Сополимеры I синтезировали путём радикальной сополимеризации ВП с ГХ 2-АЭМ в пропанол-2 при 60°C, иницируемой 2,2'-азо-бис-изобутиронитрилом. Состав сополимеров I определяли по данным элементного анализа на содержание Cl, молекулярные массы (ММ) — методами вискозиметрии [4] (сополимеры I-1 и I-3), а также сочетания диффузии и седиментации [5] (сополимеры I-2 и II-1). Сополимеры II получали путём пропускания водных растворов сополимеров I через колонку с анионитом ЭДЭ-10П в ОН-форме, выделяя их из фильтрата с pH 8,5—9,5 путём лиофильной сушки. Состав сополимеров II устанавливали титрованием -NH₂ групп 0,1 н раствором HCl. Полимерные комплексы офлоксацина III получали или путём частичной нейтрализации -NH₂ групп сополимеров II офлоксацином в водных растворах, или путем взаимодействия сополимеров I с Na солью офлоксацина в воде. В обоих случаях массовое соотношение офлоксацин/сополимер составляло 0,3—0,6/1. Целевой раствор (pH 7,5—7,9) подвергали лиофильной сушке. Содержание

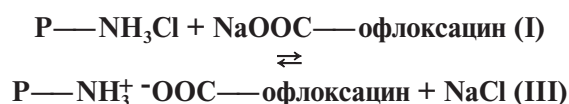
офлоксацина в полимерном комплексе определяли методом УФ-спектроскопии. Процесс выделения офлоксацина из полимерного комплекса изучали по методике [6].

Исследование острой токсичности. Выполнено согласно «Методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ» [7]. Сравнительное определение острой токсичности (расчёт однократной полуживотной дозы — ЛД₅₀ при внутривенном введении мышам) офлоксацина и полимерного носителя (сополимера I-1) проводили по экспресс-методу Прозоровского. В эксперименте было использовано 27 беспородных белых мышей самцов (*Mus musculus*) массой тела 14—25 г в возрасте 9—12 недель к моменту введения препаратов. Мышей выдерживали на карантине в течение 14 дней до постановки эксперимента.

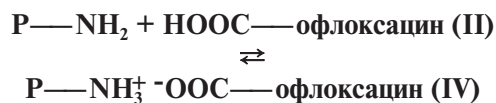
Определение антимикробной активности офлоксацина и его полимерных комплексов. Применяли метод серийных разведений [8] в мясо-пептонном бульоне с последующим высевом на плотную питательную среду — мясо-пептонный агар. В качестве тест-микроорганизмов использовали стандартные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. Микробная нагрузка составляла 5 • 10⁶ микробных клеток/мл.

Результаты и обсуждение

Образование комплексов III офлоксацина с сополимерами I представлено ниже схемой:



Получение комплексов IV офлоксацина с сополимерами II также представлено ниже:



Некоторые характеристики полимерных комплексов III и IV приведены в табл. 1. Комплексы получены с выходом 75—96% на основе сополимеров I и II, содержащих 10,9—28,3 мол.% реакционноспособных -NH₃Cl или -NH₂ групп, с ММ 10500—89000. Содержание фторхинолона в комплексе, вычисленное по загрузке компонентов, удовлетворительно совпадало с содержанием офлоксацина, определённым методом УФ-спектроскопии. Образование комплексов сополимера I с Na солью офлоксацина подтверждено вискози-

Таблица 2. Антимикробная активность офлоксацина, его полимерных комплексов и полимеров-носителей

Препарат	Содержание офлоксацина, %	МПК, мкг/мл					
		<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>		<i>P.aeruginosa</i>	
		МБСК	МБЦК	МБСК	МБЦК	МБСК	МБЦК
Офлоксацин	100	1,56	3,12	2,5	5,0	37,5	75,0
Комплекс IV-3	18	12,50	25,0	7,5	15,0	—	150,0
Комплекс IV-2	26	3,12	6,25	5,0	10,0	50,0	100,0
Комплекс IV-1	36	1,56	3,12	5,0	10,0	50,0	100,0
Комплекс III-2 ММ=89000	32	6,25	12,50	5,0	10,0	150	300
Комплекс III-1 ММ=51000	30	3,12	6,25	5,0	10,0	75	150
Комплекс III-3 ММ=10500	28	—	3,12	2,5	5,0	—	75
Носитель II-1	0	125	200	125	200	625	1250
Носитель I-1	0	125	200	125	200	625	1250

Примечание. МБСК — минимальная бактериостатическая концентрация, мкг/мл; МБЦК — минимальная бактерицидная концентрация, мкг/мл.

метрическим методом. Определение характеристической вязкости $[\eta]$ полимерного комплекса III-1 дало значение $[\eta] = 0,11$ дл/г. В тех же условиях $[\eta]$ исходного сополимера I-1 составляла 0,27 дл/г. Наблюдаемое явление связано с компактизацией макромолекул носителя в результате его комплексообразования с фторхинолоном. Гидродинамические размеры клубка макромолекул сополимера уменьшаются, что приводит к снижению характеристической вязкости раствора сополимера.

При микробиологическом исследовании *in vitro* офлоксацина-контроля было установлено (табл. 2), что наиболее выраженное антимикробное действие этот фторхинолон оказывает на грамотрицательные бактерии — *Escherichia coli*, не столь выраженное — на грамположительные кокки — *Staphylococcus aureus* и наименее выраженное — на *Pseudomonas aeruginosa*, что согласуется с данными литературы [9]. Полученные полимерные комплексы офлоксацина проявляли активность в отношении исследованных тест-культур с той же тенденцией. Антимикробная активность полимерных комплексов возрастала с увеличением содержания в них фторхинолона. Наиболее чётко эта зависимость проявлялась для комплексов IV-3, IV-2, IV-1 в отношении *E.coli*. При одинаковом содержании офлоксацина в комплексах III-3 и III-2 действие этих полимерных комплексов на все изученные тест-микроорганизмы уменьшалось при увеличении ММ полимерных комплексов с 10500 до 89000 Да. Это, по-видимому, связано с уменьшением скорости диффузии офлоксацина из полимерного комплекса в микробную клетку с ростом его ММ.

Таким образом, наибольшую антимикробную активность в отношении трёх использованных тест-культур проявляли, как это видно из табл. 2, комплексы IV-1 (36% фторхинолона, ММ 60000) и III-3 (28% фторхинолона, ММ 10500).

Следует отметить, что синтезированные катионные сополимеры-носители I-1 и II-1 обладали заметной собственной антимикробной активностью (см. табл. 2), особенно в отношении стафилококка и кишечной палочки.

Антимикробную активность синтетических поликатионов впервые обнаружили Е. Ф. Панарин с сотр. [10] на примере полимеров четвертичных аммониевых солей аминокислотных эфиров метакриловой кислоты. Впоследствии антимикробная активность была найдена и у других поликатионов [3] и было показано, что она обусловлена их мембранотропностью [11]. В связи с этим наблюдаемая высокая активность комплексов IV-1 и III-3 в отношении *E.coli* (для обоих комплексов МБЦК составляла 3,12 мкг/мл), равная активности офлоксацина-контроля, может быть обусловлена синергидным эффектом действия на клетку *E.coli* офлоксацина и полимера-носителя.

При проведении токсикологических исследований было установлено, что ЛД₅₀ использованного в работе офлоксацина >2000 мг/кг, что позволяет отнести его к разряду нетоксичных веществ. Определение острой токсичности сополимера-носителя I-1 позволило установить значение его ЛД₅₀, равное 328 мг/кг, что, согласно [12], свидетельствует о его невысокой токсичности. Поскольку офлоксацин не токсичен, можно считать, что его ионный полимерный комплекс с сополимером I-1 также будет характеризоваться значением ЛД₅₀ (при внутрибрюшинном введении) ≥328 мг/кг.

Изучен процесс отщепления офлоксацина от полимера-носителя в полученных полимерных комплексах в модельной среде (гликолевой буфер с рН 2,0). Температура эксперимента 37°C. В качестве объекта исследования выбран полимерный комплекс офлоксацина IV-1 с высокой антимикробной активностью, содержащий 36% фтор-

хинолона, с ММ 60000. Процесс выделения офлоксацина из комплекса IV-1 изучали методом диализа через полупроницаемую целлофановую мембрану, пропускающую молекулы фторхинолона и задерживающую молекулы полимера-носителя. Результаты этого эксперимента свидетельствуют о достаточно медленном высвобождении офлоксацина из полимерного комплекса в модельной среде: 16,2% — за 4 часа, 40,8% — за 24 часа и 45,1% — за 50 часов. Это может обеспечить пролонгирование антимикробного действия офлоксацина при внутреннем использовании полученной его полимерной формы.

Выводы

1. В качестве полимеров-носителей офлоксацина синтезированы сополимеры N-винилпирролидона (ВП) с 2-аминоэтилметакрилатом (2-АЭМ) и с его гидрохлоридом (ГХ 2-АЭМ). Сополимеры содержали 10,9—28,3 мол.% $-\text{NH}_3\text{Cl}$ или $-\text{NH}_2$ групп, имели молекулярные массы 10500—89000 Да.

2. На основе синтезированных сополимеров впервые получены водорастворимые полимерные комплексы офлоксацина с содержанием фторхинолона 18—36%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд 15-е, М.: 2005; 846.
2. Блатун Л. А., Яковлев В. П., Елагина Л. В. Офлоксацин в комплексной терапии осложнённых форм раневой инфекции. Антибиотики и химиотер 1994; 1: 33—37.
3. Соловский М.В. Модификация физиологически активных веществ полимерами, СПб.: 2012; 80—90.
4. Павлов Г.М., Панарин Е.Ф., Корнеева Е.В. и др. Высокомолекулярные соединения. Сер. А. 1990; 6: 1190—1196.
5. Тарабукина Е.Б., Амирова А.И., Шульцева Е.Л. и др. Влияние условий синтеза на молекулярные характеристики сополимеров акриламида с акриловой кислотой — носителей катионных биологически активных веществ. ЖПХ 2009; 82: 9: 1506—1513.
6. Соловский М.В., Никольская Н.В., Заикина Н.А. Синтез и свойства полимерных шиффовых оснований антибиотика спирамицина. Хим-фарм журн 2002; 36: 2: 9—12.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. М.: 2005; 41—54.
8. Навашин С.М., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: 1982; 495.
9. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Фторхинолоны. М.: 1995; 18—52.
10. Панарин Е.Ф., Соловский М.В., Экземпляров О.Н. Синтез и антимикробные свойства полимеров, содержащих четвертичные аммониевые группы. Хим-фарм журн 1971; 5: 7: 24—26.
11. Panarin E.F., Solovskiy M.V., Zaikina N.A., Afinogenov G.E. Macromol Chem Suppl 1985; 9: 25-33.
12. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. Научная библиотека диссертаций и авторефератов. Хим-фарм журн 2003; 37: 3: 32—34.
3. Исследована кинетика высвобождения офлоксацина из его полимерного комплекса, содержащего 36% фторхинолона, с молекулярной массой 60000 в буферном растворе (рН 2,0) при 37°C. Обнаружено пролонгированное выделение лекарственного вещества из комплекса.
4. Установлена высокая антимикробная активность полученных полимерных комплексов в отношении использованных тест-микроорганизмов (особенно кишечной палочки), возрастающая с увеличением содержания офлоксацина в комплексе и с уменьшением его молекулярной массы.
5. Выявлено наличие собственной антимикробной активности у полученных сополимеров-носителей, обеспечивающей синергидный эффект действия на микробную клетку офлоксацина и катионного полимера.
6. Определены значения ЛД₅₀ в опытах на мышах при внутрибрюшинном введении офлоксацина и исходного сополимера ВП с ГХ 2-АЭМ (с ММ 51000, содержанием $-\text{NH}_3\text{Cl}$ групп 20,8 мол.%), позволяющие отнести офлоксацин к нетоксичным препаратам, а сополимер-носитель — к малотоксичным веществам.

Исследование антимикоплазменной активности культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 — продуцента противоопухолевого и антивирусного фермента L-лизин- α -оксидазы

И. П. СМЕРНОВА¹, И. В. РАКОВСКАЯ²

¹ Российский университет дружбы народов, Москва

² ФГБУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Москва

Antimycoplasmic Activity of Fermentation Broth of *Trichoderma harzianum* Rifai F-180, an Organism Producing L-Lysine- α -Oxidase, an Antitumor and Antiviral Enzyme

I. P. SMIRNOVA, I. V. RAKOVSKAYA

Russian University of Peoples' Friendship, Moscow

N. F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

Получен концентрат культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 — продуцента противоопухолевого и антивирусного фермента L-лизин- α -оксидазы с активностью в культуральной жидкости 0,54-0,56 Ед/мл. Впервые исследовано влияние полученного концентрата на рост микоплазм: двух видов представителей семейства Mycoplasmataceae: *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma fermentans* и одного вида представителя семейства Aholplasmataceae: *Aholeplasma laidlawii*. Показано, что культуральная жидкость *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 — продуцента противоопухолевого и антивирусного фермента L-лизин- α -оксидазы ингибирует рост *Mycoplasma hominis* после предварительного контакта. Степень подавления роста зависит от посевной дозы микоплазмы и исследованной концентрации культуральной жидкости триходеры.

Ключевые слова: L-лизин- α -оксидаза, триходерма, микоплазмы.

A concentrate of the fermentation broth of *Trichoderma harzianum* Rifai F-180, an organism producing L-lysine- α -oxidase, an antitumor and antiviral enzyme, with the activity in the fermentation broth of 0.54-0.56 U/ml was recovered. The effect of the concentrate on the mycoplasmas growth was investigated for the first time. Two representatives of Mycoplasmataceae, i.e. *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma fermentans* and one representative of Aholplasmataceae, i. e. *Aholeplasma laidlawii* were used. It was shown that the fermentation broth inhibited the growth of *Mycoplasma hominis* after the preliminary exposure. The inhibition rate depended on the mycoplasma inoculation dose and the fermentation broth concentration.

Key words: L-lysine- α -oxidase, trichoderma, mycoplasmas.

Микоплазмы относятся к классу Mollicutes, который включает несколько семейств и в том числе семейства Mycoplasmataceae и Aholplasmataceae. В организме человека микоплазмы обитают на влажных мукозных поверхностях и при определённых условиях могут вызывать заболевания респираторного и урогенитального трактов. Они способны длительно персистировать в организме хозяина, так как обладают большим количеством свойств и факторов, способствующих ускользанию от иммуннологического надзора хозяина. Инфекционный процесс, вызванный микоплазмами, имеет, как правило, генерализованный характер [1].

Для лечения микоплазменных инфекций используют антибиотики широкого спектра дейст-

вия: чаще всего антибиотики тетрациклинового ряда (доксикалин, миноцилин) и макролиды (джозамицин, клиндамицин, mideкамицин, рокситромицин). Однако известно, что многие штаммы микоплазм, обитающие в урогенитальном тракте, резистентны к тетрациклам и макролидам. В таких случаях рекомендуется использовать хинолоны: левофлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, ципрофлоксацин. Но в настоящее время от пациентов выделяют штаммы, устойчивые и к хинолонам. Показано также, что эффективность антибиотиков зависит от состояния иммунной системы. Для пациентов с иммунодефицитом рекомендуют вводить антибиотики внутривенно и обязательно после определения чувствительности к ним выделенной микоплазмы. Часто требуется продолжительная терапия. В связи с этим ведущие микоплазмологи считают,

© И. П. Смирнова, И. В. Раковская, 2014

Адрес для корреспонденции: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. РУДН

что радикальных средств для лечения микоплазменных инфекций в настоящее время нет [2].

Ранее нами была доказана термостабильность культуральной жидкости штамма-продуцента L-лизин- α -оксидазы и вследствие этого у нас появилась возможность осуществить предварительные испытания её на некоторые штаммы микоплазм [3–5].

M. hominis является условно-патогенным микроорганизмом, обитает в урогенитальном тракте (УГТ) человека, причастна, по данным ряда авторов, к развитию хориоамнионита, внутриутробной патологии плода, развитию бактериального вагиноза и других патологических состояний УГТ. Описаны случаи выделения этой микоплазмы при абсцессе головного мозга, при пневмонии, при перикардите, эндокардите, раневой инфекции [1].

M. fermentans также является условно-патогенным микроорганизмом.

Её выделяют из УГТ человека, а также из верхних дыхательных путей при фарингите.

A. laidlawii — сапрофит, впервые была выделена из сточных вод. Этот микроорганизм выделяют с растений, из почвы, из различных клинических образцов от крупного рогатого скота, свиней, птиц и человека.

M. fermentans и *A. laidlawii* являются частым контаминантом клеточных культур различного происхождения, особенно перевиваемых, и оказывают существенное влияние на результаты экспериментов с использованием таких культур, что особенно важно для вирусологических исследований.

Материал и методы

В работе использовали культуральную жидкость штамма *Trichoderma harzianum* Rifai, продуцента противопохвелевого и антивирусного фермента L-лизин- α -оксидазы, депонированного в Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) под номером F-180.

Штамм триходермы, культивировался на среде по ранее разработанной методике. Культуру выращивали в течении 14 суток на твёрдой питательной среде с пшеничными отрубями поверхностным способом в колбах вместимостью 250 мл. Выросшую культуру гриба вносили в колбы с жидкой питательной средой аналогичного состава. Полученный инокулят использовали в ферментации на оборудовании Опытной технологической установки ИБФМ РАН им. Г.К.Скрябина (г. Пушкино). Использовали ферментёр типа БИОР-01 производства ОКБ ТБМ (г. Кириши), объёмом 100 л с коэффициентом заполнения 0,6. Ферментёр оснащён магнитной мешалкой, фильтрами тонкой очистки воздуха, датчиками температуры и pH. Питательную среду готовили непосредственно в аппарате. Для этого в аппарат заливали 60 л водопроводной воды, вносили 1% пшеничных отрубей, стимулятор — 0,1%, 1,3% сульфата аммония, значение pH 5,8–6,0 устанавливали 10% раствором HCl. Пшеничные отруби и стимулятор предварительно замачивали в 10 литрах воды в течение 4 ч, стерилизовали в автоклаве 1 ч при 125°C, затем вносили в ферментёр, где их ещё раз стерилизовали вместе с другими компонентами. Подготовленный ферментёр засевали посевным материалом из колб, вышеописанным способом. Посевная доза не менее 5%. Культивирование проводили при температуре 26°C, расход воздуха на протяжении всей ферментации 30

л в минуту, скорость вращения мешалки 200 оборотов в минуту. Величину pH в процессе роста корректировали до 6,5, продолжительность выращивания 94–98 часов. По окончании ферментации культуральную жидкость направляли на участок предварительной очистки, где мицелий гриба отделяли фильтрованием под вакуумом на нутч-филтре. Вес полученной биомассы составил 3,5 кг. Полученный нативный раствор подвергали дополнительному сепарированию на сепараторе типа ОСБ при 9000 об/мин. в течение часа при температуре 2–4°C. Затем нативный раствор в объёме 55 л. после отделения биомассы, концентрировали до 1,5 л. Полученный концентрат культуральной жидкости с активностью в культуральной жидкости 0,54–0,56 Ед/мл. использовали для изучения антимикоплазменной активности.

Активность L-лизин- α -оксидазы в концентрате культуральной жидкости *Trichoderma* рассчитывали по приросту H₂O₂, количество которой определяли спектрофотометрическим ортодиазидиновым микрометодом [4].

В работе использовали три вида микроорганизмов класса Mollicutes: 2 вида представители семейства Mycoplasmataceae: *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma fermentans* и один вид представитель семейства Aholoplasmataceae: *Aholeplasma laidlawii*. Штамм *M. hominis* H-34 был получен в 1967г. из коллекции доктора Lemke R.M. (Lister Inst. Preventive medicine, London S.W.1.). Штамм *M. fermentans* Pg 18 получен от доктора Freundt (Inst. of Medical Microbiol. Univer. of Aarhus, Дания). Штамм *A. laidlawii* был получен в 1963 г. от доктора Koller (Йена, ГДР). Все штаммы хранились и поддерживались в лаборатории микоплазм и L-форм бактерий (ФГБУ НИИЭМ им. поч. ак. Н. Ф. Гамалеи).

Для выращивания микоплазм использовали бульон (Difco PPLO Broth, Becton, Dickinson, USA) с 20% сыворотки крови лошади, 2% свежего дрожжевого экстракта, 1% аргинина или 1% глюкозы (в зависимости от пищевых потребностей вида микоплазм) и 0,005% индикатора фенолово-красного. Для титрования культур делали серийные десятикратные разведения пробы в физиологическом растворе с высевом материала из всех разведений на 0,3 % агар (BBL Mycoplasma Agar Base, Becton, Dickinson, США) с такими же добавками, как в бульоне. Спустя 3 суток подсчитывали число колоний в двух последних пробирках из ряда разведений и высчитывали средний показатель числа колоний. Титр культур выражали средним числом выросших колоний, помноженным на разведение культуры. В опыт брали культуры с установленным раннее титром.

Опыты по определению чувствительности микоплазм к ферменту проводили в двух вариантах. В табл. 1, 2 представлены средние результаты из двух опытов.

Вариант 1. В пробирки со средой культивирования (9,8 мл) вносили по 0,1 мл культуральной жидкости триходермы неразведенной и в разведениях 1:10 и 1:100 и 0,1мл культуры микоплазмы с известным титром. Таким образом, в опытных пробирках в 10 мл среды содержалась культуральная жидкость с активностью L-лизин- α -оксидазы 0,54–0,56 Ед/мл в количестве 0,1 мл, 0,01 мл, 0,001мл.

Пробирки культивировали 3 суток. Контролем служили посевы микоплазм в такую же среду, но не содержащую культуральную жидкость продуцента L-лизин- α -оксидазы. Об интенсивности роста судили по скорости изменения цвета индикатора. *M. hominis* разлагает аргинин среды с выделением аммиака и цвет среды изменяется из красного в малиновый за счёт её защелачивания. *M. fermentans* и *A. laidlawii* разлагает глюкозу, что сопровождается изменением pH среды в кислую сторону и изменением её цвета из красного в жёлтый. Изменение цвета среды регистрировали ежедневно. Титрование выросших культур микоплазм проводили через 72 ч культивирования.

Вариант 2. В пробирки вносили 1 мл бульонной культуры микоплазм с известным титром, затем соединяли с 1 мл. культуральной жидкости с активностью L-лизин- α -оксидазы

Таблица 1. Результаты испытания антимикоплазменной активности культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 при различных концентрациях в среде культивирования (1 мл в 10 мл среды) (вариант 1)

Вид	Культура	Контроль оценка роста		Оценка активности фермента			
		исходный титр, КОЕ/мл	по изменению рН среды	по титру, КОЕ/мл	по изменению рН среды		
					0,1 мл	0,01 мл	0,001 мл
<i>M.hominis</i> Н-34		10 ⁷	+	10 ⁷	+	+	+
—//—		10 ⁵	+	10 ⁷	—	+	+
<i>M.fermentans</i>		10 ⁷	+	10 ⁷	+	+	+
—//—		10 ⁵	+	6 • 10 ³	—	+	+
<i>A.laidlawii</i>		10 ⁷	+	10 ⁸	+	+	+
—//—		10 ³	+	10 ⁸	+	+	+

Примечание. Здесь и табл. 2: 1) «+» — рН среды изменился; «—» — рН среды без изменения; «±» — рН среды изменился незначительно. Указаны средние значения титров из двух опытов.

Таблица 2. Антимикоплазменная активность культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 — продуцента фермента L-лизин- α -оксидазы в различных концентрациях при её контакте с клетками микоплазм (вариант 2)

Вид	Культура	Контроль оценка роста		Оценка активности фермента					
		Исходный титр, КОЕ/мл	по изменению рН среды	по титру, КОЕ/мл	по изменению рН среды				по титру, КОЕ/мл
					неразведённый	0,1 мл	0,01 мл	0,001 мл	
<i>M.hominis</i> Н-34		10 ⁷	+	10 ⁷	—	±	+	+	нет роста
—//—		10 ³	+	10 ⁷	—	—	±	±	6 • 10 ⁴
<i>M.fermentans</i>		10 ⁷	+	10 ⁷	±	±	+	+	—//— единич.
—//—		10 ³	+	10 ⁴	—	±	±	+	<10 ¹
<i>A.laidlawii</i>		10 ⁷	+	10 ⁸	+	+	+	+	2 • 10 ⁴
—//—		10 ³	+	10 ⁸	—	+	+	+	2 • 10 ⁶

0,54—0,56 Ед/мл в тех же разведениях, которые мы использовали в первом варианте. Смеси выдерживали в течении 45 мин при комнатной температуре, затем заливали жидкой питательной средой и культивировали в течении 3 суток, наблюдая за скоростью и интенсивностью роста по изменению цвета культуральной среды. Титр клеток микоплазм в опытной и контрольной пробирке определяли описанным выше способом.

Результаты и обсуждение

Результаты определения антимикоплазменной активности первым вариантом представлены в табл. 1. Из данных таблицы следует, что интенсивность роста *M.hominis*, *M.fermentans*, регистрируемая по изменению рН среды на вторые сутки культивирования, зависела от титра взятой в опыт культуры. На этом сроке отмечали небольшую задержку в интенсивности роста в пробирках с меньшей посевной дозой микоплазм и максимальной дозой активности L-лизин- α -оксидазы культуральной жидкости триходермы. На третьи сутки культивирования рН среды при всех посевных дозах культуры и дозах исследуемой культуральной жидкости продуцента фермента L-лизин- α -оксидазы становилась одинаковой.

Результаты определения антимикоплазменной активности более точным методом — путём титрования выросших культур через 72 ч культивирования показали, что фермент обладает некоторой активностью в отношении *M.hominis*. При высокой посевной дозе микоплазм и увеличения количества культуральной жидкости исследуемого штамма триходермы титр выросшей культуры был на 1lg ниже, чем в контроле. При более низ-

кой посевной дозе титр отличается на 3 Lg (определение проводили только с наивысшим количеством культуральной жидкости триходермы, поскольку только при ней отмечали замедление скорости роста по изменению цвета среды).

Разницы в титре КОЕ/мл культур *M.hominis* и *A.laidlawii* в опыте и контроле не были нами обнаружены.

Результаты определения антимикоплазменной активности вторым вариантом оказались более интересными. Из данных таблицы 2 видно, что в присутствии культуральной жидкости продуцента L-лизин- α -оксидазы скорость роста *M.hominis*, регистрируемая по изменению цвета среды, была снижена, особенно при низкой посевной дозе. Рост других штаммов микоплазм также отставал от роста в контроле, но только при низких посевных дозах.

При определении титра КОЕ/мл наблюдали полное подавление роста при контакте клеток микоплазм при использовании неразведённой культуральной жидкости триходермы с активностью L-лизин- α -оксидазы 0,54—0,56 Ед/мл, даже при высокой посевной дозе. При десятикратном разведении исходной культуральной жидкости триходермы она также подавляла рост микоплазм, но в меньшей степени — на 3 lg. При использовании меньшей посевной дозы микоплазм рост также был подавлен полностью при контакте с культуральной жидкостью продуцента фермента. Использование десятикратного разведения культуральной жидкости в опытных

пробирках приводило к росту лишь единичных колоний.

Титр КОЕ/мл культур *M.hominis* был ниже в сравнении с контролем на 3 Lg и 1 Lg (соответственно) при высокой посевной дозе культуры и разных концентрациях культуральной жидкости продуцента L-лизин- α -оксидазы.

При более низкой посевной дозе и разных концентрациях культуральной жидкости исследуемого штамма -продуцента фермента титр КОЕ выросшей культуры различался на 3 и 2 lg соответственно.

Способность ингибировать рост обнаружена также в отношении *A.laidlawii*. Рост исследуемой культуры отставал на 2 lg на третьи сутки культивирования при разных посевных дозах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Раковская И.В. Микоплазмы-возбудители микоплазменных инфекций человека. В кн. Руководство по медицинской микробиологии / Под ред. А.С. Лабинской и др. М.: БИНОМ, 2010; 964—993.
2. Baseman J.B., Tully J.G. Mycoplasmas: sophisticated, reemerging, and burdened by their notoriety. Emer Infect Dis 1997; 3: 1: 21—32.
3. Пакина Е.В., Шнейдер Ю.А., Смирнова И.П. Биологическая и биохимическая стабильность метаболитов сапрофитного гриба *Trichoderma harzianum* Rifai. Вестник РУДН, серия «Агрономия и животноводство», 2009; 4: 28—32.
4. Смирнова И.П., Сяткин С.П., Берёзов Т.Т. Спектрофотометрический метод определения L-лизин- α -оксидазы. Вопр мед хим 1984; 1: 133—136.
5. Смирнова И.П., Берёзов Т.Т. Биотехнология фермента L-лизин- α -оксидазы из триходермы. М.: Копиризо, 2014; 189.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что культуральная жидкость *Trichoderma harzianum* Rifai F-180-продуцента противоопухолевого и противовирусного фермента L-лизин- α -оксидазы способна ингибировать рост *Mycoplasma hominis*, которая наглядно проявляется после предварительного контакта микоплазм и культуральной жидкости триходермы. Степень подавления роста зависит от посевной дозы микоплазм и используемой концентрации культуральной жидкости триходермы.

Хранение культур актинобактерий — представителей родов *Streptomyces* и *Nonomuraea* методом низкотемпературной консервации

О. Н. СИНЁВА, Н. Г. КУЛИКОВА, С. Н. ФИЛИППОВА*, Л. П. ТЕРЕХОВА

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

*Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского РАН, Москва

Storage of Actinobacteria of the Genera *Streptomyces* and *Nonomuraea* by Low Temperature Preservation

O. N. SINEVA, N. G. KULIKOVA, S. N. FILIPPOVA, L. P. TEREKHOVA

G. F. Gause Institute of New Antibiotics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

S. N. Vinogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow

Исследовано влияние низкотемпературного хранения (-70°C) в течение 1,5 лет на жизнеспособность и антибиотическую активность актинобактерий *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433^T, *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06. Споры исследованных актинобактерий в концентрациях 10^5 – 10^7 КОЕ/мл сохраняли высокую жизнеспособность при замораживании, однако изучаемые штаммы отличались по сохранению активности в отношении тест-организма *Micrococcus luteus* ATCC 9341: колонии *S. hygroscopicus* RIA 1433^T полностью сохранили антибиотическую активность в отношении тест-организма *Micrococcus luteus* ATCC 9341, у штамма *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* наблюдалось снижение антибиотической активности на 5%, потеря антибиотической активности штаммом *Nonomuraea* sp. INA 34-06 составила 44%. При использовании суспензий с низкой концентрацией спор (10^2 КОЕ/мл) выявлены различия в устойчивости исследованных штаммов к действию низких температур: штамм *S. hygroscopicus* RIA 1433^T полностью сохранил жизнеспособность и антибиотическую активность при хранении в течение 1,5 лет, в то время как штаммы *N. roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *N. sp.* INA 34-06 утратили жизнеспособность к 8-му месяцу хранения. Используемый в качестве криопротектора 10% раствор глицерина не влияет на жизнеспособность и антибиотическую активность данных актинобактерий.

Ключевые слова: актинобактерии, хранение культур, низкотемпературная консервация.

The influence of storage of actinobacteria *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433^T, *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 and *Nonomuraea* sp. INA 34-06 at extremely low temperatures (-70°C) for 1.5 years was studied with respect to their viability and antibiotic activity. The spores of the actinobacteria preserved their high viability when freeze-dried at a concentration of 10^5 – 10^7 CFU/ml. As for the antibiotic activity against the test culture *Micrococcus luteus* ATCC 9341, the strains differed: the *S. hygroscopicus* RIA 1433^T colonies preserved their antibiotic activity against the test culture, the antibiotic activity of *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* lowered by 5% and that of *N. sp.* INA 34-06 lowered by 44%. Differences in the resistance of the strains to the storage at the extremely low temperatures were observed when the suspensions contained low concentrations of the spores (10^2 CFU/ml): *S. hygroscopicus* RIA 1433^T preserved its viability and antibiotic activity during 1.5 years, while *N. roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 and *N. sp.* INA 34-06 lost the viability by the 8th month of the storage. The study showed that 10% glycerol solution used as a cryoprotector during the storage had no effect on viability and antibiotic activity of the actinobacteria.

Key words: actinobacteria, storage, low temperature preservation.

Введение

Важное значение для лабораторных исследований актиномицетов — продуцентов антибиотических веществ имеют методы поддержания жизнеспособности микроорганизмов, позволяющие сохранять их антибиотическую активность на постоянном уровне. В настоящее время используется ряд методов сохранения культур — продуцентов

антибиотиков, обеспечивающих их длительное пребывание в активном состоянии: криоконсервация в жидком азоте, лиофилизация и низкотемпературное замораживание. В основу этих методов положен принцип задержки развития микроорганизмов — перевод клеток в состояние анабиоза, что ведёт к снижению или прекращению метаболических процессов [1–7].

Одним из современных и доступных способов хранения микроорганизмов является замораживание и хранение культур в условиях специализированных морозильников при температурах — 70°C ... 96°C [2, 4, 8]. Основными повреждающими

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: olga.sineva81@yandex.ru

факторами при замораживании являются образование кристаллов льда, колебание осмотического давления, воздействие электролитов [4, 9–11]. Для защиты клеток от повреждения при замораживании используют специальные вещества — криопротекторы. К первому типу криопротекторов относятся глицерин и диметилсульфоксид (ДМСО), которые легко проникают через мембрану и обеспечивают как внутриклеточную, так и внеклеточную защиту от замораживания. Ко второму виду криопротекторов относятся такие вещества, как сахароза, лактоза, глюкоза, маннит, сорбит, декстран, поливинилпирролидон, полиглицоль и др., которые обеспечивают защитное действие на наружной поверхности клеточной мембраны. Протекторы первого типа оказались более эффективными и пригодными для широкого круга бактерий [2, 4, 7–9, 12–14].

Криоустойчивость микроорганизмов зависит от их таксономической принадлежности, физиологического состояния, концентрации клеток, режимов криоконсервирования, наличия защитной среды, от температуры и скорости отогрева. Различной криоустойчивостью обладают микроорганизмы не только разных родов, видов, но и разных штаммов. Считается, что микроорганизмы наиболее устойчивы к замораживанию в конце логарифмической стадии роста или в начале стационарной фазы. В литературе также есть данные о том, что спорообразующие микроорганизмы более устойчивы к криозамораживанию [4–6, 8].

Как известно, адаптация микроорганизмов к условиям окружающей среды во многом зависит от состава и строения клеточной мембраны. Нормальное функционирование, стабильность клеточных мембран в первую очередь определяется физико-химическим состоянием молекул фосфолипидов — основных структурообразующих компонентов клеточных мембран [15]. Ранее нами был изучен состав липидных фракций клеточных мембран [16], кроме того, с помощью метода рентгеновской дифракции была получена информация о фазово-структурной организации фосфолипидных фракций клеточных мембран актинобактерий: *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433^T, *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в зависимости от уровня гидратации, а также стабильности основных структурных параметров липидных фракций при хранении. Было показано, что фосфолипиды *S. hygroscopicus* образуют мультислойные слои достаточно плотной упаковки. Фосфолипидная фракция этого микроорганизма по своей структурной организации отличалась однородностью и стабильностью при хранении в течение 10 месяцев при 4°C. Напротив, липиды фосфолипидных фракций *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 формировали ламеллярную и гексагональную (H_{II}) фазы. При этом их фа-

зовое состояние зависело от уровня гидратации и изменялось в процессе хранения. Полученная информация позволяет предположить, что выявленные различия в организации и стабильности мембранных структур исследованных актинобактерий могут служить показателем их устойчивости к повреждающим факторам консервации.

Цель нашего исследования — изучить выживаемость актиномицетов *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433^T, *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 и сохранение ими антибиотической активности при хранении в условиях низких температур (–70°C).

Материал и методы

Объектами исследования явились два коллекционных штамма актинобактерий *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433^T, *Nonomuraea roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 продуцент противоопухолевого антибиотика карминомицина [17] и свежeweделенный из почвы штамм *Nonomuraea* sp. INA 34-06.

Антибиотическую активность изучаемых актинобактерий в отношении ряда тест-организмов определяли методом штриха [18].

Штаммы актинобактерий выращивали на овсяном агаре при температуре 28°C до спороношения [19]. Для отделения спор от мицелия производили смыв культуры стерильной дистиллированной водой со скошенной агаровой среды в пробирке. Полученную суспензию отфильтровывали через стерильный бумажный фильтр «Ф» ГОСТ 12026-76 («Химмед» РФ). Споры суспензии были использованы в следующих концентрациях: 10², 10⁵, 10⁶, 10⁷ КОЕ/мл. Концентрации спор 10⁵–10⁷ КОЕ/мл получали при смыве воздушного мицелия актиномицета, выросшего на одной пробирке со скошенной овсяной средой, 10 мл дистиллированной воды. Концентрации клеток 10² были получены разведением исходной суспензии.

Для повышения устойчивости клеток к воздействию низких температур, как известно, целесообразно применение защитных веществ. В качестве криопротектора применяли глицерин («Реахим», РФ) в концентрации 10%.

Для заморозки споровых суспензий использовали криопробирки («Greiner bio-one», Германия). Замораживание и хранение образцов проводилось в низкотемпературном морозильнике Revco («Thermo Scientific», США) при –70°C.

Процесс восстановления замороженных клеток осуществляли путём оттаивания при комнатной температуре.

Число жизнеспособных клеток определяли методом подсчёта КОЕ после посева проб на чашки Петри с агаровой средой 2 Гаузе [19]. Процент выживших КОЕ актинобактерий рассчитывали относительно числа КОЕ, подсчитанных до криоконсервации. Посев проб проводили каждый месяц в течение 1,5 лет.

Антибиотическую активность выросших после хранения КОЕ определяли путём засева чашек Петри с выросшими колониями актиномицетов двухсуточной культурой *Micrococcus luteus* ATCC 9341. После инкубации в течение суток при температуре 37°C подсчитывали количество колоний актинобактерий с зонами подавления роста тест-организма.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Проведённые исследования показали, что выживаемость споровых суспензий актинобактерий *S. hygroscopicus* RIA 1433^T, *N. roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в

Таблица 1. Жизнеспособность исследуемых культур актинобактерий при хранении при температуре -70°C

Название штамма	Наличие криопротектора	Число жизнеспособных клеток		
		до заморозки	через 1 год	через 1,5 года
<i>Nonomuraea</i> sp. INA 34-06	нет	$56,8 \pm 4,65 \cdot 10^5$	$57 \pm 3,75 \cdot 10^5$	$56,6 \pm 3,46 \cdot 10^5$
	10% p-р глицерина	$58,3 \pm 4,25 \cdot 10^5$	$57 \pm 2,92 \cdot 10^5$	$58,4 \pm 6,6 \cdot 10^5$
<i>S.hygroscopicus</i> RIA 1433 ^T	нет	$20 \pm 1,31 \cdot 10^5$	$18,8 \pm 1,33 \cdot 10^5$	$19,8 \pm 2,1 \cdot 10^5$
	10% p-р глицерина	$18,4 \pm 1,83 \cdot 10^5$	$18,9 \pm 1,25 \cdot 10^5$	$18,9 \pm 1,57 \cdot 10^5$
<i>N.roseoviolacea</i> subsp. <i>carminata</i> INA 4281	нет	$23 \pm 1,05 \cdot 10^5$	$23,6 \pm 0,98 \cdot 10^5$	$23,2 \pm 1,05 \cdot 10^5$
	10% p-р глицерина	$18,6 \pm 0,84 \cdot 10^5$	$18,4 \pm 0,98 \cdot 10^5$	$18,6 \pm 0,83 \cdot 10^5$

Таблица 2. Антибиотическая активность актинобактерий *S.hygroscopicus* RIA 1433^T, *N.roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в отношении тест-организмов

Название тест-организма	Антибиотическая активность (диаметр зоны подавления роста, мм)		
	<i>S.hygroscopicus</i> RIA 1433 ^T	<i>N.roseoviolacea</i> subsp. <i>carminata</i> INA 4281	<i>Nonomuraea</i> sp. INA 34-06
<i>Staphylococcus aureus</i> ИНА 00985 (209P)	> 25	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ИНА 00761 (MRSA)	> 25	10	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ИНА 00762 (209P/УФ-2)	> 25	15	5
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	> 25	10	7
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6533	10	5	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	—	—	—
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y1334	15	—	—

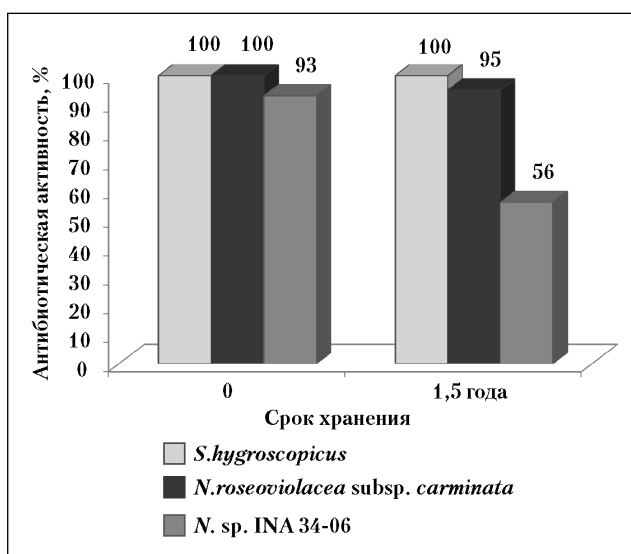
концентрации 10^5 КОЕ составляет 100% после 1,5 лет хранения при температуре -70°C . В опытах с использованием криопротектора — 10% раствора глицерина, и без него выживаемость актинобактерий была одинаковой (табл. 1).

Полученные результаты говорят о том, что данные актинобактерии в стадии спороношения обладают высокой устойчивостью к замораживанию и хранение споровых суспензий в течение одного года можно осуществлять без применения криопротектора. Отсутствие существенных различий при хранении актинобактерий с криопротектором и без него также было отмечено в работе Каменских с соавторами [2] при хранении при -85°C алканотрофных актинобактерий рода *Rhodococcus*.

Известно, что при хранении микроорганизмов коллекционных и промышленных штаммов, помимо потери жизнеспособности клеток, наблюдаются также процессы популяционной изменчивости. При этом доминантный фенотип замещается другим с измененными свойствами и продуктивной активностью, происходит потеря штаммами приоритетных свойств [6].

Изучаемые культуры актинобактерий обладают антибиотической активностью в отношении ряда тест-организмов (табл. 2).

На протяжении всего периода хранения проводился контроль антибиотической активности в отношении тест-организма *Micrococcus luteus*. В течение 1,5 лет полностью сохранил антибиотическую активность штамм *S.hygroscopicus*, небольшое снижение активности (5%) наблюдалось у *N.roseoviolacea* subsp. *carminata*, самая большая по-

**Рис. 1.** Антибиотическая активность актинобактерий *S.hygroscopicus* RIA 1433^T, *N.roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в отношении *Micrococcus luteus* до заморозки (0) и после 1,5 лет хранения при -70°C

теря активности (37%) была у *Nonomuraea* sp. INA 34-06 (рис. 1).

Следует отметить, что антибиотическая активность штамма *Nonomuraea* sp. INA 34-06 при хранении в обычных условиях в пробирках на плотных питательных средах также была нестабильна. Для поддержания антибиотической активности штамма регулярно проводили отбор антибиотически активных колоний. Исходя из полученных данных следует, что ответом на воздействие низ-

ких температур (-70°C) является потеря антибиотической активности колониями штамма *Nonomuraea* sp. INA 34-06.

При замораживании споровых суспензий исследуемых культур в более высоких концентрациях (10^6 и 10^7) выживаемость в течение 1,5 лет составила 100% у каждого штамма, так же как и в опыте, где концентрация споровых суспензий составляла 10^5 КОЕ/мл. Стрептомицет полностью сохранил антибиотическую активность в отношении *Micrococcus luteus*; у штамма *N.roseoviolacea* subsp. *carminata* наблюдалась небольшая 3–4% потеря активности к концу периода хранения, у штамма *Nonomuraea* sp. INA 34-06 потеря активности составила 40–41% по сравнению с активностью до заморозки.

Для выяснения жизнеспособности клеток при их более низких концентрациях споровые суспензии были заморожены в концентрации 10^2 КОЕ/мл. Было также изучено влияние криопротектора на выживаемость штаммов. Полученные результаты показали, что даже при низких концентрациях споровых суспензий штамм *S.hygrosopicus* не только не утратил жизнеспособности, но и полностью сохранил антибиотическую активность в отношении *Micrococcus luteus* в течение 1,5 лет в отличие от культур рода *Nonomuraea*, которые полностью утратили жизнеспособность после 8 месяцев хранения (рис. 2, а и б).

Полученные результаты, по-видимому, можно объяснить тем, что при пониженном содержании клеток в суспензии значительно ослаблены межклеточные взаимодействия, снижен уровень защитных веществ, вырабатываемых клетками в ответ на стрессовые воздействия. При этом важнейшие клеточные структуры и, прежде всего, мембрана оказываются наиболее уязвимы к действию повреждающих факторов замораживания [20].

Как известно, сохранность клеточных мембран при низкотемпературном хранении микроорганизмов является определяющим фактором их жизнеспособности [21].

В условиях низких температур устойчивость мембранных структур во многом зависит от фазо-

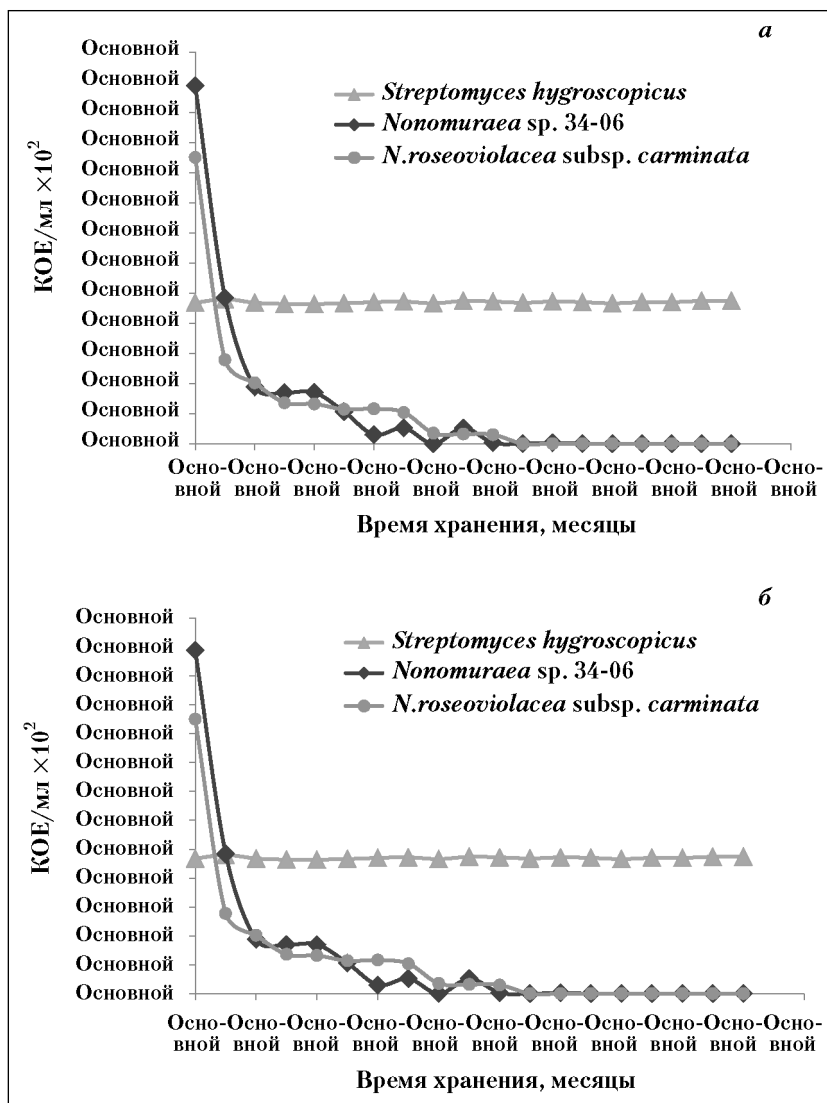


Рис. 2. Выживаемость актинобактерий *S.hygrosopicus* RIA 1433T, *N.roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в отношении *Micrococcus luteus* при хранении при температуре -70°C при низкой концентрации споровых суспензий. а – без использования криопротектора; б – с криопротектором.

вого состояния фосфолипидов, которое определяется конфигурацией структурообразующих компонентов, особенностями их организации и способности к фазовым переходам, не вызывающих последующей дезинтеграции бислоиности мембран. Полученная нами ранее [16] информация о фазово-структурной организации фосфолипидной составляющей клеточных мембран исследуемых актинобактерий свидетельствовала о стабильности ламеллярной конфигурации доминирующих фосфолипидов *S.hygrosopicus* RIA 1433T, что могло способствовать сохранению бислоиной упаковки клеточных мембран. Напротив, структурные флуктуации доминирующих мембранных фосфолипидов актинобактерий рода *Nonomuraea* являлись причиной нестабильности

их фазовых состояний, что, в свою очередь, могло привести к нарушению бислоиности мембраны. Результаты настоящего исследования показали, что штамм *S.hygroscopicus* RIA 1433^T оказался наиболее устойчив к условиям длительного хранения при низких температурах независимо от фактора концентрации клеточных суспензий. В то же время оба штамма актинобактерий рода *Nonomuraea* утратили жизнеспособность на более ранних этапах хранения при низких концентрациях клеточных суспензий, при которых клеточные структуры оказались наиболее чувствительны к повреждающему действию замораживания. Выявленные отличия в устойчивости исследованных актинобактерий к низкотемпературному хранению согласуются с выдвинутыми нами ранее предположениями о различной степени устойчивости клеточных мембран данных актинобактерий к повреждающему воздействию консервации.

Криопротектор (10% раствор глицерина) при замораживании спор актинобактерий в низких

концентрациях также не оказал влияния ни на жизнеспособность споровых суспензий, ни на сохранение антибиотической активности.

Заключение

Проведённое исследование показало, что споры актинобактерий *S.hygroscopicus* RIA 1433^T, *N.roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 и *Nonomuraea* sp. INA 34-06 в концентрациях 10^5 – 10^7 КОЕ/мл полностью сохраняют жизнеспособность в течение 1,5 лет при хранении при температуре -70°C . Наиболее устойчивым к хранению оказался штамм *S.hygroscopicus* RIA 1433^T. Использование 10% раствора глицерина в качестве защитной среды не оказало влияния на хранение исследуемых актинобактерий. Полученные данные позволяют предположить, что споровые суспензии других родов и видов актинобактерий могут также храниться в низкотемпературных морозильниках без потери жизнеспособности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горин Е.Е., Хлебникова Г.М., Звягинцев Д.Г. Замораживание почвенных образцов в сухом льду как способ хранения для микробиологических исследований. Микробиология. 1978; 47: 1: 173–174.
2. Каменских Т.Н., Калашикова Е.А., Ившина И.Б. Особенности криоконсервации алканотрофных актинобактерий рода *Rhodococcus*. Вестник пермского университета. 2010; Вып. 1: 15–20.
3. Кузнецова В.И., Новотельнов Н.В. О длительном хранении микроорганизмов. Микробиология 1967; XXXVI: 6: 1100–1104.
4. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. 2009; 4: 99–120.
5. Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Гальченко В.Ф. Многолетнее хранение коллекционных культур актинобактерий. Микробиология 2012; 81: 5: 682–690.
6. Цуцаева А.А., Ананьина А.Е., Бальбердина Л.М., Степанюк Л.В., Павленко Н.В. Опыт долгосрочного хранения промышленных штаммов микроорганизмов. Микробиология 2008; 77: 5: 696–700.
7. Ryan M.J., Smith D. Cryopreservation and freeze-drying of fungi employing centrifugal and shelf freeze-drying. Cryopreservation and freeze-drying protocols. In: Methods in Molecular Biology. V. 368 / Eds. Day J.G. and Stacey G.N. Totowa. NJ.:Humana Press Inc. 2007. P. 127–140.
8. Чукпарова А.У. Оценка сохранения жизнеспособности штаммов микроорганизмов при низкотемпературной консервации / Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием «Биологически активные вещества микроорганизмов — прошлое, настоящее, будущее». К 90-летию заслуженного профессора Московского университета Н.С.Егорова. М.: 2011; 131.
9. Витанов Т., Петухов В.Г. Действие низких температур и защитный эффект поливинилпирролидона различного молекулярного веса. Микробиология 1973; XLII: 4: 647–649.
10. Волков В.Я. К вопросу о физиологических и физико-химических механизмах стабильности микроорганизмов к замораживанию и высушиванию. Микробиология. 1994; 63: Вып. 1: 5–16.
11. Лозина-Лозинский Л.К. Очерки по криобиологии. Адаптация и устойчивость организмов и клеток к низким и сверхнизким температурам. Л.: Наука. 1972; 288.
12. Иваницкая Л.П., Новикова Н.Д., Сингал Э.М., Бибикова М.В. IV Международная конференция по коллекциям культур микроорганизмов. Антибиотики 1982; 27: 2: 151–154.
13. Dubko T., Onishenko E.V., Pivovarenko V.G. Influence of freezing and low molecular weight crioprotectants on microsomal membrane structure: a study by multiparametric fluorescent probe. J Fluoresc 2006; 16: 817–823.
14. Белякова Л.А., Надирова И.М., Фатеева М.В. I Международная конференция по коллекциям культур. Микробиология 1970; 39: 1: 179–182.
15. Williams W.P. Cold-induced lipid phase transitions. Phil Trans R Soc Lond 1990; 326: 555–570.
16. Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Ермакова Е.В., Киселев М.А., Терехова Л.П., Синева О.Н., Галатенко О.А., Забелин А.В., Гальченко В.Ф. Изучение фазово-структурного состояния фосфолипидных фракций актинобактерий в связи с условиями их хранения. Микробиология 2013; 82: 3: 335–343.
17. Гаузе Г.Ф., Свешникова М.А., Ухолина Р.С., Гаврилина Г.В., Филичева В.А., Гладких Е.Г. Образование противоопухолевого антибиотика карминомицина культурой *Actinotadura carminata* sp. nov. Антибиотики 1973; 18: 8: 675–678.
18. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Наука. 2004; 528.
19. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука. 1983; 245.
20. Николаев Ю.А. Два новых клеточных адаптогенных фактора *Escherichia coli* K12. Микробиология 1997; 66: 6: 785–789.
21. Белоус А.М., Бондаренко В.А. Молекулярные механизмы криоповреждения мембранных структур. Криобиол криомед 1979; 5: 3–13.

Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области

Н. А. СЕЛЯНСКАЯ¹, А. В. ТРИШИНА¹, Л. М. ВЕРКИНА¹,
И. В. АРХАНГЕЛЬСКАЯ¹, В. Д. КРУГЛИКОВ¹, Ю. М. ЗЛЕНКО²

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

² «1002» Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Минобороны РФ, Ростов-на-Дону

Antibiotic Susceptibility of *Vibrio cholerae* non O1/non O139 Serogroups Isolated from Environment in the Rostov Region

N. A. SELYANSKAYA, A. V. TRISHINA, L. M. VERKINA, I. V. ARKHANGELSKAYA, V. D. KRUGLIKOV, YU. M. ZLENKO

Rostov-on-Don Plague Institute, Rostov-on-Don

1002 Sanitary and Epidemiological Control Centre, Ministry of Defense of the Russian Federation, Rostov-on-Don

Анализ антибиотикограмм штаммов *Vibrio cholerae* не O1/ не O139 серогрупп (ctxA⁻tcpA⁻), выделенных из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. (22 штамма), показал, что все культуры были чувствительны к ципрофлоксацину, аминогликозидам, цефтриаксону, триметоприму/ сульфаметоксазолу, устойчивы к левомицетину и фуразолидону. У 32% изолятов обнаружена резистентность к тетрациклам, у 18% — к рифампицину, у 9% — к налидиксовой кислоте. Штаммов *V. cholerae*, чувствительных ко всем изученным антибактериальным препаратам, обнаружено не было. 37% холерных вибрионов были устойчивы к двум антибактериальным препаратам, а остальные имели множественную резистентность и содержали от 3 до 6 г-детерминант антибиотикорезистентности. Поскольку гены антибиотикорезистентности у холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп часто расположены на мобильных генетических элементах (плазмидах, интегронах, SXT-элементе), многие штаммы этих микроорганизмов, а также природная среда могут выполнять роль резервуара антибиотикорезистентности. Наличие г-детерминант антибиотикорезистентности у изученных штаммов в различных сочетаниях, вариативность антибиотикорезистентности у изолятов, выделенных на одной территории в относительно небольшой промежуток времени, вызывают необходимость мониторинга антибиотикочувствительности этих микроорганизмов и назначения антибиотика для этиотропной терапии только на основе антибиотикограммы культуры, выделенной от конкретного больного.

Ключевые слова: антибактериальные препараты, холерные вибрионы, антибиотикорезистентность.

Analysis of the antibioticograms of 22 strains of *Vibrio cholerae* non O1/non O139 serogroups (ctxA⁻ tcpA⁻) isolated from the environment in the Rostov Region in 2011 showed that all the cultures were susceptible to ciprofloxacin, aminoglycosides, ceftriaxone, trimetoprim/sulfamethoxazole and resistant to levomycetin and furazolidone. 32%, 18% and 9% of the isolates were resistant to tetracycline, rifampicin and nalidixic acid respectively. No strains of *V. cholerae* susceptible to all the tested antimicrobials were detected. 37% of the *V. cholerae* isolates was resistant to two antibacterials and the others showed multiple resistance and contained 3–6 r-determinants of antibiotic resistance. Since the antibiotic resistance genes in *Vibrio cholerae* non O1/non O139 serogroups are often located on mobile genetic elements (plasmids, interons, SXT elements), many strains of such organisms, the same as the natural environment, could serve as reservoirs of antibiotic resistance. The presence of antibiotic resistance r-determinants in the investigated strains in various combinations, the antibiotic resistance variability in the isolates collected on the same territory within a relatively short period of time require monitoring of antibiotic susceptibility in them and the use of the antibiotic for the etiotropic therapy only in strict accordance with the antibioticogram of the culture isolated from the concrete patient.

Key words: antibacterials, *Vibrio cholerae*, antibiotic resistance.

Холерные вибрионы не O1 / не O139 серогрупп широко распространены во внешней среде, являясь естественными обитателями водоёмов, где обнаружение их колеблется от 27,6% до 60% в отдельных регионах Российской Федерации [1–3]. Многие штаммы *Vibrio cholerae* не O1/ не O139 обладают патогенными свойствами и способны вызы-

вать холероподобные диареи различной степени тяжести, а также заболевания с внекишечной локализацией и септицемией с летальным исходом [4].

Преобладание водного пути в распространения заболеваний, вызываемых холерными вибрионами не O1/ не O139 серогрупп, подтверждается эпидемиологическими наблюдениями. Например, на Украине заболеваемость желудочно-кишечными патологиями, обусловленными вибрионами не O1/ не O139 серогруппы, коррелировала с 90% высеваемостью этих вибри-

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, д. 117. Ростовский-на-Дону ПЧИ. E-mail: plague@ic.ru

Таблица 1. Антибиотикограммы штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г.

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Значения МПК для контрольных штаммов, мг/л		Диапазон значений МПК
	S*	R*	9741	5879	22 штамма из внешней среды
Доксициклин	≤2,0	>8,0	0,25	0,25	1,0—64,0
Тетрациклин	≤4,0	>8,0	1,0	1,0	4,0—64,0
Левомецетин	≤4,0	≥16,0	2,0	2,0	16,0
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	2,0	1,0	2,0—16,0
Ципрофлоксацин	<0,1	≥1,0	0,002	0,001	0,06—0,125
Стрептомицин	≤16,0	>32,0	4,0	2,0	2,0
Гентамицин	≤4,0	>8,0	2,0	0,5	1,0
Ампициллин	≤4,0	>16,0	4,0	2,0	4,0—32,0
Цефтриаксон	<1,0	≥8,0	0,04	0,01	0,1—0,25
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	2,0	1,0	2,0—64,0
Фуразолидон	≤4,0	≥16,0	2,0	2,0	16,0—32,0
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/38,0	≥8,0/152,0	1,0/5,0	2,0/10,0	1,0/5,0—4,0/20,0

Примечание. * — S — чувствительный; R — устойчивый; ** — пограничные значения МПК (МУК 4.2.2495-09)

онов из речной воды [5, 6]. В Каракалпакии среди 147 лиц, инфицированных холерными вибрионами не O1/ не O139 серогрупп, 56 % заразились через воду, 34% — посредством пищевых продуктов [7]. По данным Т. А. Кондратенко (1995), 80% случаев заражения населения происходит при использовании для хозяйственно-бытовых нужд воды реки Дон и её притоков, содержащей *V.cholerae* не O1/ не O139 [8]. Водный путь инфицирования обусловил 30,7% случаев заболеваний, вызванных вибрионами не O1/ не O139 серогрупп [9], во время вспышки в Ростове-на-Дону и области в 60—70 гг. XX века [10].

Увеличение в последние 10 лет в Российской Федерации количества холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп, выделяемых из объектов окружающей среды, потенциальная способность отдельных серогрупп этих микроорганизмов вызывать эпидемии [11], требует проявления к ним пристального внимания и проведения постоянного мониторинга с определением антибиотикочувствительности каждой выделенной культуры.

Цель исследования: анализ профилей антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп, выделенных из внешней среды в Ростовской области в 2011 г.

Материал и методы

Штаммы. Из музея живых культур ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института были взяты штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139 (ctxA⁺tcpA⁺), выделенные из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. (22 штамма). Антибиотикочувствительные штаммы *V.cholerae* O1 P-5879 ctxA⁺tcpA⁺toxR⁺ (1972 г., г. Таганрог) и *V.cholerae* не O1/ не O139 P-9741 (KM 162) использовали в качестве контроля.

Антибактериальные препараты: доксициклин, тетрациклин, левомецетин (хлорамфеникол), рифампицин, стрептомицин, гентамицин, ампициллин, фуразолидон — препараты отечественного производства; налидиксовая кислота (невиграмон, Chinoïn, Венгрия), ципрофлоксацин (квинтор, Торрент Фарм. Лтд, Индия), триметоприм/сульфаметоксазол (бикотрим, Adgio, Индия), цефтриаксон (офрамакс, Ranbaxy, Индия).

Чувствительность/устойчивость изучаемых штаммов к антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде [агар Мюллера—Хинтона, pH 7,5 (HIMEDIA, Индия)]. Посевная доза взвесей 16—18 часовых агаровых культур составляла $n \times 10^6$ м.к. по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ОСО-42-25-59-86 П).

Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 (2009) [12].

Доверительные интервалы для частот и долей рассчитывали по методу Вальда с коррекцией по Агрести-Коуллу с вероятностью 95% [13].

Результаты и обсуждение

Все исследованные штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139 обладали типичными для рода *Vibrio* и вида *Vibrio cholerae* морфологическими, культуральными, биохимическими свойствами, в ПЦР не содержали генов ctxA и tcpA. У 9 (40,9%) штаммов была установлена принадлежность к определённой серологической группе, преобладали представители O16 (6 штаммов) и O73 (2 штамма) серогрупп.

Все штаммы были чувствительны к ципрофлоксацину (МПК 0,06—0,125 мг/л), аминогликозидам (стрептомицину и гентамицину) (МПК 1,0—2,0 мг/л), цефтриаксону (МПК 0,1—0,25 мг/л), триметоприму/ сульфаметоксазолу (МПК 1,0/5,0—4,0/ 20,0 мг/л) и характеризовались устойчивостью к левомецетину (МПК 16,0 мг/л) и фуразолидону (МПК 16,0—32,0 мг/л). У 32% (16—53) изученных штаммов выявлена устойчивость к тетрациклинам (МПК 64,0 мг/л), у 18% (6,7—39) — к рифампицину (МПК 16,0—64,0 мг/л), 9% (1,3—29) — к налидиксовой кислоте (МПК 16,0 мг/л), 50% (30—69,3) — к ампициллину (МПК 32,0 мг/л) (табл. 1, 2).

Штаммов *V.cholerae*, чувствительных ко всем изученным антибактериальным препаратам, обнаружено не было. Все выделенные культуры содержали от 2 до 6 г-детерминант антибиотикостойкости, что может существенно осложнять этиотропную терапию вызванных ими заболеваний.

Таблица 2. Распределение штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г., по чувствительности/ устойчивости к антибактериальным препаратам

Антибактериальный препарат	Количество штаммов <i>V.cholerae</i> не O1/ не O139			
	S*		R*	
	абс.	отн., % (ДИ)**	абс.	отн., % (ДИ)**
Доксициклин	15	68 (47–83,8)	7	32 (16–53)
Тетрациклин	15	68 (47–83,8)	7	32 (16–53)
Левомецетин	0	0	22	100
Налидиксовая кислота	20	91 (71–98,6)	2	9 (1,3–29)
Ципрофлоксацин	22	100	0	0
Стрептомицин	22	100	0	0
Гентамицин	22	100	0	0
Ампициллин	11	50 (30–69,3)	11	50 (30–69,3)
Цефтриаксон	22	100	0	0
Рифампицин	18	82 (60,8–93,3)	4	18 (6,7–39)
Фуразолидон	0	0	22	100
Триметоприм/сульфаметоксазол	22	100	0	0

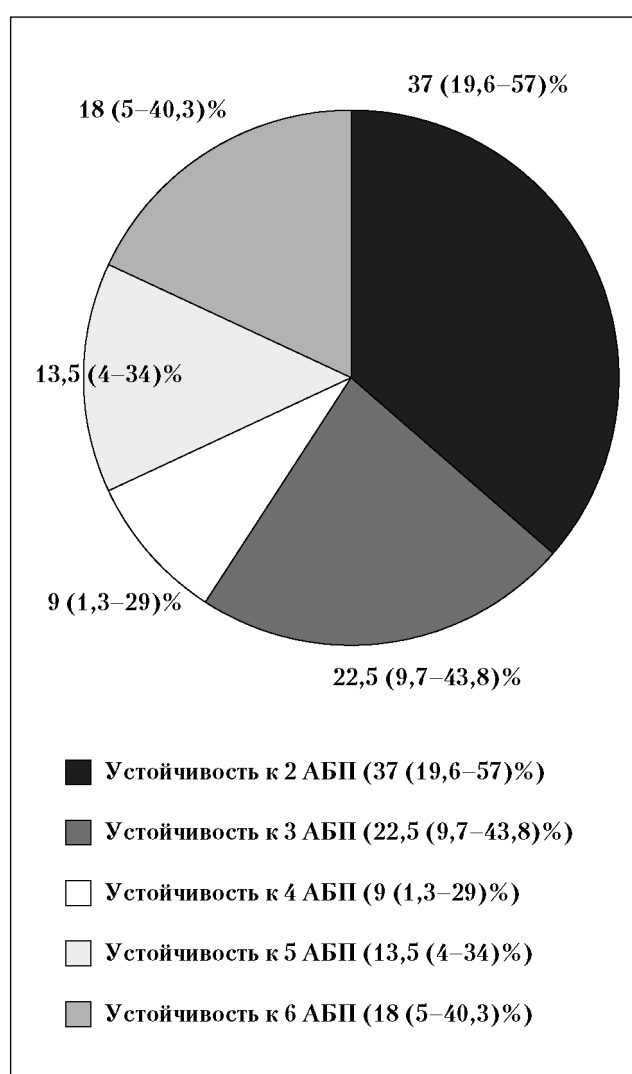
Примечание. * – S – чувствительный; R – устойчивый; ** – доверительный интервал.

Характеристика профилей антибиотикорезистентности изученных штаммов представлена в табл. 3.

Резистентность к левомецетину и фуразолидону, обнаруженная у всех холерных вибрионов, у четырёх штаммов сочеталась с устойчивостью к ампициллину (18% (5–40,3)), у одного штамма — к рифампицину (4,5% (<0,01–23,5)). Остальные штаммы имели ещё и устойчивость к тетрациклину и доксициклину, которая сочеталась с резистентностью к ампициллину (один штамм), рифампицину (два штамма (9% (1,3–29))), рифампицину и ампициллину, рифампицину и налидиксовой кислоте (по два штамма) (табл. 3). Таким образом, наблюдалась вариабельность маркёров антибиотикорезистентности у штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных в одном регионе в течение одного 2011 года.

При анализе частоты выделения полиантибиотикоустойчивых форм вибрионов не O1 / не O139 серогрупп выявлено, что к двум антибактериальным препаратам были устойчивы 8 штаммов (37% (19,6–57)), а остальные имели множественную антибиотикорезистентность (рисунок). К трём препаратам оказалось устойчиво 5 культур (22,5 (9,7–43,8%)), к четырём — 2 штамма (9 (1,3–29%)), к пяти — 3 (13,5 (4–34%)), к шести — 4 (18 (5–40,3%)). Таким образом, большинство изученных штаммов холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп обладало полиантибиотикоустойчивостью.

Наличие у изученных культур резистентности к традиционно применяемым антибактериальным препаратам согласуется с сообщениями о выделении из внешней среды в различных регионах мира антибиотикоустойчивых штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп. Так, в Камеруне штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенные из воды, оказались высокорезистентны к триметоприму/ сульфаметоксазолу и тетрациклину [14], а в Южной Индии такие штаммы были рези-



Распределение штаммов холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г. по устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП), %

Таблица 3. Характеристика профилей антибиотикорезистентности штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г.

Профили резистентности	Число г-детерминант антибиотикоустойчивости	Количество культур	
		абс.	отн.,% (ДИ)*
Чувствительные	0	0	0
<i>Sm Fur^r</i>	2	8	37 (19,6—57)
<i>Sm Fur^r Ap</i>	3	4	18 (5—40,3)
<i>Sm Fur^r Rif^r</i>	3	1	4,5 (<0,01—23,5)
<i>Sm Fur^r Dx Tc</i>	4	2	9 (1,3—29)
<i>Sm Fur^r Dx Tc Rif^r</i>	5	2	9 (1,3—29)
<i>Sm Fur^r Dx Tc Ap</i>	5	1	4,5(<0,01—23,5)
<i>Sm Fur^r Dx Tc Rif^r Ap</i>	6	2	9 (1,3—29)
<i>Sm Fur^r Dx Tc Rif^r Nal^r</i>	6	2	9 (1,3—29)

Примечание. *Sm* — устойчивость к левомицетину (хлорамфениколу); *Fur^r* — фуразолидону; *Dx* — доксициклину; *Rif^r* — рифампицину; *Nal^r* — налидиксовой кислоте; *Tc* — тетрациклину; *Ap* — ампициллину; * — доверительный интервал.

стентны ещё и к цефотаксиму, налидиксовой кислоте, стрептомицину, фуразолидону, неомицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, норфлоксацину, гентамицину, хлорамфениколу [15]. Распространению антибиотикорезистентности способствуют мобильные генетические элементы с генами антибиотикоустойчивости, присутствующие в штаммах холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп [16], поэтому многие серогруппы, а также природная среда могут выполнять роль резервуара антибиотикорезистентности [17].

Заключение

Выделенные из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. штаммы холерных вибрионов не

O1/ не O139 серогрупп имеют высокий уровень резистентности, спектр которого включает от 2 до 6 антибактериальных препаратов, что исключает эффективность их применения в случае возникновения патологического процесса при попадании возбудителей в организм человека.

Наличие антибиотикоустойчивости в различных сочетаниях, её вариабельность у штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных на одной территории в относительно небольшой промежуток времени, вызывают необходимость постоянного мониторинга антибиотикочувствительности этих микроорганизмов и назначения антибиотика для этиотропной терапии только на основе антибиотикограммы культуры, выделенной от конкретного больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евтодченко В.Г., Слюсарь В.Н., Гуцу А.В. и др. К вопросу об организации эпиднадзора по холере в республике Молдова. Холера и патогенные для человека вибрионы. Сб мат пробл комиссии Координационного науч. совета по сан-эпидемиол охране территории РФ - Ростов-на-Дону, 2007; 20: 37—38.
2. Кривдина Т.М., Бычкова В.А., Щербакова Т.А., Ткаченко Н.М., Дубовая Н.Н., Терентьева Н.В., Терентьева А.И. Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры озера Смолино за 2007—2011 гг. Санит охрана территорий. Профилактика природно-очаговых болезней. Мат X съезда ВНПОЭМП, М.: 12—13 апреля 2012 г. Инфекц иммун 2012; 1—2: 161.
3. Авдеева Е.П., Мазрухо Б.Л., Воронежская Л.Г. и др. Особенности циркуляции различных по происхождению холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп. Эпидемиол инфекц бол 2006; 2: 19—22.
4. Семиотрочев В.Л., Ривкус Ю.З. Классификация заболеваний, вызываемых микроорганизмами рода *Vibrio*. Здоров насел среда обитания 2012; 2: 227: 32—36.
5. Доброштан Е.В. Сравнительные аспекты противоэпидемического надзора за холерой эльтор и другими вибрионами. Актуал вопр микробиол лаб диагностики и профилакт холеры: тез Всесоюз науч конф. Ростов-на-Дону, 1988; 343—344.
6. Зайдёнов А.М., Новиков Д.И., Саморядова И.А., Воронежская Л.Г., Кудрякова Т.А., Седина С.Г., Сэбирова Р.С., Кенжетеев А.А., Каратаева Р.С., Шахмаев Я.А. Изучение факторов распространения заболеваний, вызванных неагглютинирующими вибрионами с использованием данных серотипирования штаммов. ЖМЭИ 1987; 7: 28—31.
7. Кондратенко Т.А., Швагер М.М., Антонян Б.Х. Экология, миграционные процессы и их влияние на эпидемическую ситуацию в Ростовской области. Холера: мат Рос науч-практ конф. Ростов-на-Дону, 1995; 56—57.
8. Донец В.С., Скирда Г.И., Прометной В.И. и др. Эпидемиологические особенности острых кишечных заболеваний, вызванных НАГ-вибрионами. Остр кишечн инфекц. Л.: 1980; 52—53.
9. Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Архангельская И.В. и др. Характеристика штаммов холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп, вызвавших заболевания людей в Ростовской области. Журн микробиол 2011; 5: 18—22.
10. Cariri F.A., Costa A.P., de Melo C.C. et al. Characterization of potentially virulent non-O1 / non-O139 *Vibrio cholerae* strains isolated from human patients. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 1: 62—67.
11. Виноградова К.А., Булакова В.Г., Полин А.Н., Кожевни П.А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие. Антибиотики и химиотер 2013; 5—6: 38—48.
12. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам 4.2.2495-09. М.: 2009; 59.
13. Гржибовский А.М. Доверительные интервалы для частот и долей. Экол чел 2008; 5: 57—60.
14. Tatah A.J., Pulcherie K.M., Mande N.L., Akum N.H. Investigation of water sources as reservoirs of *Vibrio cholerae* in Bepanda, Douala and determination of physico-chemical factor maintaining its endemicity. Onderstepoort J Vet Res 2012; 79: 2: 1.
15. Jagadeeshan S., Kumar P., Abraham W.P. Thomas S. Multiresistant *Vibrio cholerae* non O1/ non O139 from waters in South India: resistance patterns and virulence-associated gene profiles. J Basic Microbiol 2009; 49: 6: 538—544.
16. Mohapatra H., Molapatra S.S., Manti C.K., Colwell R.R., Singh D.V. *V.cholerae* non O1 non O139 strains isolated before 1992 from Varanasi, India, are multiple drug resistant, contain *int SXT*, *dhfr* 18 and *aad A5* genes. Environ Microbiol 2008; 10: 4: 866—973.
17. Campos L.C., Zahner V., Avelar K.E. et al. Genetic diversity and antibiotic resistance of clinical and environmental *Vibrio cholerae* suggests that many serogroups are reservoirs of resistance. Epidemiol Infect 2004; 132: 5: 985—992.

Механизмы воздействия устойчивых к метициллину штаммов *Staphylococcus aureus* на функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов

О. А. КОЛЕНЧУКОВА¹, Н. И. САРМАТОВА²

¹ НИИ медицинских проблем Севера, Красноярск

² Сибирский федеральный университет, Красноярск

Mechanisms of Influence of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* on Functional State of Neutrophilic Granulocytes

O. A. KOLENCHUKOVA, N. I. SARMATOVA

Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk

Siberian Federal University, Krasnoyarsk

Целью исследования является оценка функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов при воздействии штаммов MSSA и MRSA. Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов определяли с помощью люминолзависимой хемилюминесценции при стимуляции праймирующей дозой MRSA и MSSA. Исследование показало повышенную функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов как в ответ на устойчивые бактериальные культуры золотистого стафилококка, так и на чувствительные штаммы. Следует отметить, что интенсивность кислородзависимого фагоцитоза была выше в ответ на MRSA, чем на MSSA.

Ключевые слова: MRSA, MSSA, нейтрофильные гранулоциты.

The aim of the study was to estimate the functional activity of neutrophilic granulocytes after the contact with MSSA and MRSA. It was determined by luminol-dependent chemoluminescence with stimulation by the priming doses of MRSA and MSSA. The functional activity of neutrophilic granulocytes was shown to increase in response to either the resistant *Staphylococcus aureus* strains or the susceptible ones. It should be indicated that the intensity of the oxygen-dependent phagocytosis in response to MRSA was higher than that to MSSA.

Key words: MRSA, MSSA, neutrophilic granulocytes.

Метициллинорезистентный золотистый стафилококк (MRSA) — это штамм золотистого стафилококка, устойчивый к большой группе антибиотиков, в первую очередь бета-лактамов. Так, MRSA адаптировался к выживанию в присутствии метициллина, диклоксациллина и оксациллина. Наиболее часто именно с ним связаны внутрибольничные (нозокомиальные) инфекции. Клиническое значение метициллинорезистентности является предметом интенсивного изучения. Известно, что уровень летальности при бактериемиях, вызываемых MRSA, достоверно выше, чем при инфекциях, обусловленных чувствительными штаммами *S. aureus*. Особое беспокойство вызывает практически повсеместное повышение частоты выделения MRSA [1, 2].

В процессе эволюции стафилококки приобрели способность угнетать фагоцитарную функцию лейкоцитов крови путём блокирования опсонизирующих веществ (комплемента и иммуноглобулина G), а также путём непосредственного токсического действия на фагоциты. Нейтрофилы при нарушении окислительного метаболизма не способны к образованию интермедиатов кислорода, вследствие чего организм становится особенно восприимчивым к золотистому стафилококку [3, 4].

Полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты играют очень важную роль в защите организма от бактериальных и некоторых других патогенов [5–7]. Эти клетки составляют первую линию неспецифической противомикробной защиты. Они первыми мобилизуются в очаг воспаления, от их фагоцитарной активности зависит элиминация возбудителя. Цитопатогенное действие нейтрофилов связано главным образом с генерацией активных форм

© О. А. Коленчукова, Н. И. Сарматова, 2014

Адрес для корреспонденции: 660022, Красноярск, ул Партизана Железняка, 3. НИИ МПС

кислорода (АФК). Под этим термином понимают резкое увеличение потребления кислорода за счёт преобразования его в АФК клетками-фагоцитами. Способность нейтрофильных гранулоцитов образовывать достаточное количество АФК может служить прогностическим признаком для оценки дальнейшего хода воспалительного процесса, а ответ на стандартный стимул может характеризовать активность защитных сил организма. Существуют различные способы оценки образования АФК, одним из наиболее чувствительных является хемилюминесцентный метод [8—10].

Несмотря на интенсивность исследований в данном направлении, остается всё ещё малоизученным весь спектр происходящих внутриклеточных событий, связанных с изменением фенотипических характеристик и функционированием нейтрофилов в норме и при патологии. Недостаточное понимание механизмов формирования дисфункций нейтрофилов при патологии в свою очередь обуславливает отсутствие патогенетически обоснованных подходов к регуляции функционирования данной клеточной популяции в эксперименте и клинике.

Целью исследования является оценка функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов при воздействии метициллиночувствительных и устойчивых штаммов золотистого стафилококка (MSSA и MRSA).

Материал и методы

Объектами исследования служили штаммы *Staphylococcus aureus* устойчивые (MRSA, $n=17$) и чувствительные (MSSA, $n=17$) к действию оксациллина и нейтрофильные гранулоциты, выделенные из венозной крови. При взятии образцов патологического материала со слизистой оболочки носа и транспортировке их для дальнейших исследований использовались стерильные тумферы с коммерческой транспортной средой Эймса.

Для выявления метициллинорезистентности *S. aureus* использовали метод скрининга на агаре. Для проведения скрининга использовали агар Мюллера-Хинтон, содержащий 4% NaCl и 6,0 мкг/мл оксациллина.

Микробную взвесь готовили методом прямого суспендирования из нескольких однотипных изолированных колоний стафилококков в стерильном изотоническом растворе натрия хлорида и доводили до мутности 0,5 по МакФарланду ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Инокуляцию чашек с агаром проводили с помощью стерильного ватного тампона. Культуру наносили на ограниченную поверхность (диаметром 10—15 мм). Штаммы *S. aureus* инкубировали при температуре 35°C в течение полных 24 часов. После инкубации чашки просматривали. Появление видимого роста на месте нанесения культуры считали проявлением устойчивости данного штамма к оксациллину (метициллину). Исследование проводили при обязательном контроле роста испытуемых культур на агаре Мюллера-Хинтон с 4% NaCl без оксациллина (культуры наносили так же, как на агар с оксациллином). Параллельно с исследуемыми культурами тестировали также контрольные штаммы метициллиночувствительных и метициллинорезистентных стафилококков.

Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов оценивали с помощью хемилюминесценции по методу De Sole P. et al. (1983). Из венозной крови обследуемого пациента выделяли нейтрофильные гранулоциты. Для этого к 5 мл крови с гепарином добавляли 1 мл полиглюкана и инкубировали в течение 30 мин при 37°C для ускорения осаждения эритроцитов. Надосадочную жидкость настилали на двойной градиент плотности фиколл-верографин ($\rho=1,077$ — для выделения популяции лимфоцитов, $\rho=1,199$ — для выделения популяции нейтрофильных гранулоцитов) и центрифугировали при 400 g в течение 45 мин. При контроле морфологического состава лейкоцитарных взвесей определяли чистоту выхода нейтрофильных гранулоцитов, которая составляла 97%. Полученную суспензию нейтрофильных гранулоцитов дважды отмывали в растворе Хенкса без фенолового красного по 10 мин при 400 g. Супернатант сливали, оставшиеся нейтрофильные гранулоциты разводили в 1 мл раствора Хенкса и получали взвесь. Подсчитывали количество нейтрофильных гранулоцитов в камере Горяева.

Для хемилюминесцентного анализа использовали 2×10^6 клеток. Измеряли величину спонтанной хемилюминесценции (СХЛ) нейтрофилов, которая характеризует базальный уровень активации этих клеток. Для определения резервных возможностей активации нейтрофилов осуществляли стимуляцию кислородного метаболизма посредством добавления к ним бактериальной суспензии из живой культуры MRSA или MSSA в концентрации 10^6 КОЕ/мл. В качестве усилителей люминесценции использовали люминол в концентрации 50 мкг/мл. Оценка спонтанной и индуцированной хемилюминесценции осуществлялась в течение 90 мин. на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе «CL3604» (Россия). Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (T_{max}), максимальное значение интенсивности (I_{max}), площадь под кривой (S_2). Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, оценивали по отношению площади индуцированной ХЛ к площади спонтанной ХЛ и определяли как индекс активации (ИА). Регистрация результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществлялись с помощью компьютера.

Для всех полученных данных определяли медиану, а также 25 и 75 перцентили. Проверку гипотезы о статистической достоверности исследуемых параметров проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.).

Результаты исследования

Активированные нейтрофильные гранулоциты являются мощными эффекторами, запускающими механизмы каскадных реакций, которые обеспечивают развитие воспаления. Противовоспалительное действие нейтрофильных гранулоцитов связано, главным образом, с генерацией активных форм кислорода, а одним из методов, позволяющих оценить кислородзависимую биоцидность нейтрофильных гранулоцитов, является хемилюминесцентный анализ [7].

В результате исследования хемилюминесцентной реакции нейтрофильных гранулоцитов в ответ на воздействие живой бактериальной культуры *Staphylococcus aureus*, в зависимости от устойчивости к оксациллину (MRSA и MSSA), были получены следующие результаты: выявлено увеличение времени выхода на пик (рис. 1),

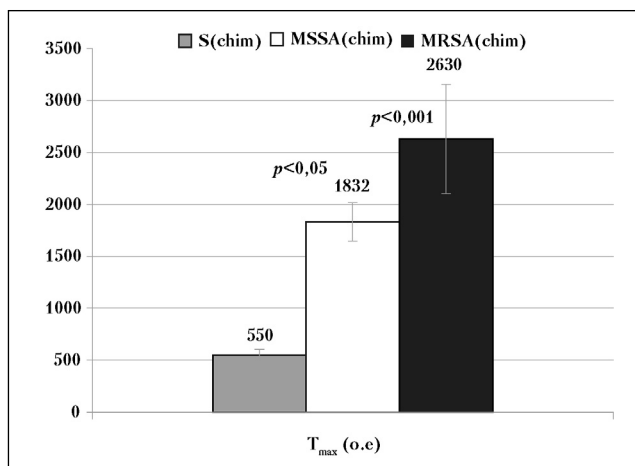


Рис. 1. Время выхода на пик ($T_{\max}$) в спонтанном и индуцированном (MSSA и MRSA) хемилюминесцентных процессах.

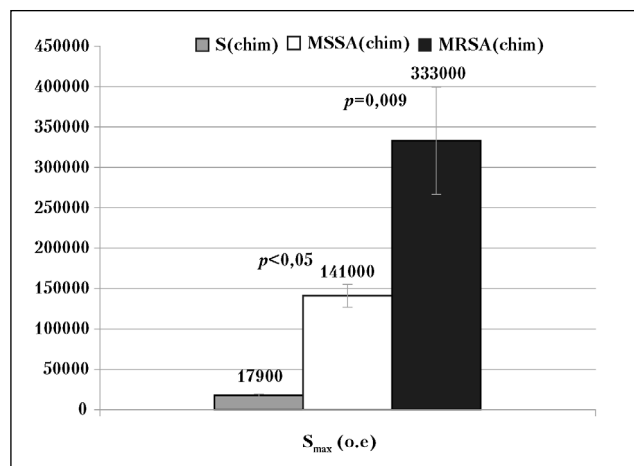


Рис. 3. Площадь под кривой ($S_{\max}$) в спонтанном и индуцированном (MSSA и MRSA) хемилюминесцентных процессах.

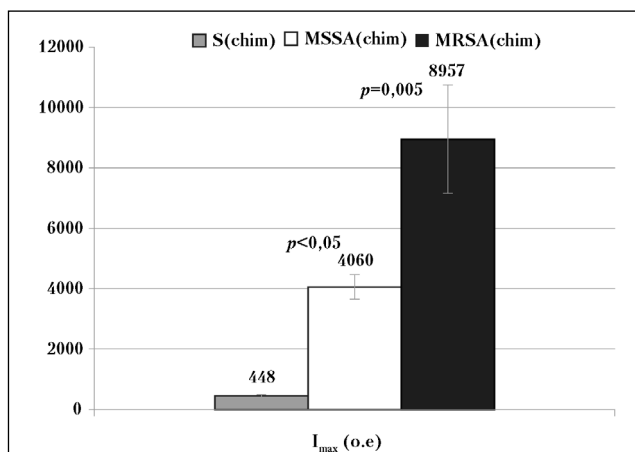


Рис. 2. Интенсивность ($I_{\max}$) в спонтанном и индуцированном (MSSA и MRSA) хемилюминесцентных процессах.

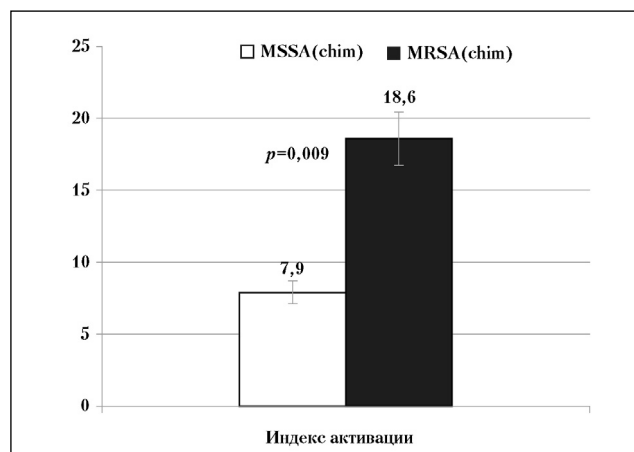


Рис. 4. Индекс активации (MSSA/S) и (MRSA/S) хемилюминесцентного процесса.

интенсивности хемилюминесцентной реакции (рис. 2) и площади под кривой (рис. 3) при воздействии MRSA и MSSA относительно спонтанной реакции. Также было установлено увеличение времени выхода на пик, интенсивности хемилюминесцентной реакции и площади под кривой, а также индекса активации (рис. 4) при воздействии живой культуры MRSA относительно MSSA ($p < 0,001$).

Нейтрофильные гранулоциты несут на своей поверхности широкий спектр рецепторов, часть из которых может взаимодействовать с неопсонизированными бактериями (CR- и Toll-рецепторы) [6]. Полисахаридная капсула, которая образуется у золотистого стафилококка, препятствует распознаванию рецептором CR1 нейтрофилов фрагментов C3-комплемента на поверхности *S.aureus*, что существенно снижает фагоцитоз, при этом прилипание и погло-

щение бактерии может происходить через CR3 рецептор, поскольку он обладает лектиноподобными свойствами и содержит поверхностные вещества, с помощью которых этот микроорганизм проникает внутрь клетки с образованием фаголизосомы [11]. Известно, что люминол способен проникать внутрь клетки и регистрировать весь пул образования АФК [8]. Установлено, что функциональная активность нейтрофилов здоровых лиц значительно изменяется при стимуляции праймирующей дозой стафилококков относительно спонтанной реакции. При индукции бактериальной культурой нейтрофильных гранулоцитов в процесс фагоцитоза включаются CR3 или Toll-подобные рецепторы, поддерживающие восприятие неопсонизированных микробных объектов, вместе с тем имеет значение и тот фактор, к какому виду принадлежат бактерии.

Заключение

Исследование хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов в ответ на стимул в виде живых бактериальных культур (MRSA и MSSA) показало повышенную функциональную активность как в ответ на устойчивые бактериальные культуры стафилококка, так и на чувствительные штаммы. Следует отметить, что интенсивность кислородзависимого фагоцитоза была выше в ответ на MRSA, чем на MSSA. Обращает на себя внимание тот факт, что сте-

пень активации ферментов нейтрофильных гранулоцитов более выражена при контакте с MRSA, что коррелирует с бактерицидной способностью фагоцитов. Поэтому мы полагаем, что вирулентные штаммы золотистого стафилококка оказывают ингибирующее действие на активность ферментов кислородзависимой системы нейтрофилов. По-видимому, это следует отнести к одному из эффектов вирулентности штаммов *Staphylococcus aureus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shahkarami F., Rashki A., Rashki Ghalehnoo Z., Jundishapur J. Susceptibility and plasmid profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *S. aureus*. Microbiology 2014 Jul; 7: 7.
2. Yang Z., Fu Y., Liu B., Zhou E., Liu Z., Song X., Li D., Zhang N. Farrerol regulates antimicrobial peptide expression and reduces *Staphylococcus aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells. Microb Pathog 2013 Dec; 65: 1—6.
3. Genestet C., Le Gouellec A., Chaker H., Polack B., Guery B., Toussaint B., Stasia M. J. Scavenging of reactive oxygen species by tryptophan metabolites helps *Pseudomonas aeruginosa* escape neutrophil killing. Free Radic Biol Med 2014 Aug; 73: 400—410.
4. Swe P.M., Fischer K. A scabies mite serpin interferes with complement-mediated neutrophil functions and promotes staphylococcal growth. PLoS Negl Trop Dis 2014 Jun 19; 8: 6.
5. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н., Стенина М.А. Дисбактериоз и иммунопатологический процесс. Журн микробиол эпидемиол иммунол 2005; 2: 89—92.
6. Швыдченко И.Н., Нестерова И.В., Синельникова Е.Ю. Цитосекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов. Иммунология 2005; 1: 31—34.
7. Flack C.E., Zurek O.W., Meishery D.D., Pallister K.B., Malone C.L., Horswill A.R., Voyich J.M. Differential regulation of staphylococcal virulence by the sensor kinase SaeS in response to neutrophil-derived stimuli. Proc Natl Acad Sci U S A 2014 May 13; 111: 19.
8. Рудой Б.А., Грачева Т.А., Рассанов В.П. Использование метода регистрации хемилюминесценции нейтрофилов для оценки сенсibilизации лабораторных животных, иммунизированных бруцеллезной вакциной. Иммунология 2005; 3: 191—193.
9. Konai M.M., Ghosh C., Yarlagadda V., Samaddar S., Haldar J. Membrane active phenylalanine conjugated lipophilic norspermidine derivatives with selective antibacterial activity. J Med Chem 2014 Oct 21.
10. Земсков А.М., Земсков В.М., Земсков М.А. Проблема неспецифического и специфического в индукции и регуляции иммунологических реакций. Журн микробиол эпидемиол иммунобиол 2005; 4: 105—109.
11. Коленчукова О.А. Функциональная и метаболическая активность нейтрофильных гранулоцитов при остром бактериальном риносинусите. Инфекц и иммун 2013; 3: 269—274. <http://elibrary.ru/contents.asp?issueid=1145507&selid=20350050> 3.

Распространённость БЛРС типов TEM, SHV, CTX-M среди возбудителей хронического пиелонефрита

А. В. БИЛЬЧЕНКО, О. И. ЧУБ

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Prevalence of Types TEM, SHV and CTX-M β LES Among Pathogens of Chronic Pyelonephritis

A. V. BILCHENKO, O. I. CHUB

Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

В последние годы возрастает резистентность к β -лактамам антибиотикам, связанная с выработкой плазмид-индуцированных β -лактамаз, основных возбудителей инфекций мочевой системы. Поэтому целью данного исследования было изучить наличие плазмидных β -лактамаз типов TEM, SHV, и CTX-M среди уропатогенов. Из 115 выделенных штаммов 30 (26,1%) были продуцентами β -лактамаз. Гены *blaTEM* и *blaCTX-M* были самыми распространёнными выделенными генами. Наибольшее количество резистентных штаммов было к ампициллину (73,3%), ципрофлоксацину (46,7%), левофлоксацину (43,3%) и гентамицину (40%). Уровни чувствительности штаммов, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), были следующими: меропенем (96,7%), нитроксолин (83,3%), фосфомycin (70%), амикацин (70%). Наличие генов устойчивости среди уропатогенов свидетельствует о высокой скорости распространения между ними с помощью плазмид. Поэтому обнаружение и выделение плазмид-индуцированных β -лактамаз важно для оптимального выбора антибиотика для эмпирической терапии.

Ключевые слова: инфекции мочевой системы, возбудители, бета-лактамазы расширенного спектра.

There is lately observed an increase in the resistance of the main pathogens of urologic infection to β -lactam antibiotics due to production of plasmid-induced β -lactamases. The aim of the study was to reveal types TEM, SHV and CTX-M plasmid β -lactamases among uropathogens. Out of 115 isolates, 30 (26.1%) strains produced β -lactamases. Genes *blaTEM* and *blaCTX-M* were the most frequent. Most of the isolates were resistant to ampicillin (73.3%), ciprofloxacin (46.7%), levofloxacin (43.3%), gentamicin (40%). The β LES-producing strains were susceptible to meropenem (96.7%), nitroxolin (83.3%), phosphomycin (70%), amikacin (70%). The presence of the resistance genes in the uropathogens was evident of a high rate of their distribution among them by the plasmids. Detection of the plasmid-induced β -lactamases is important for the optimal choice of the antibiotic for empirical therapy.

Key words: urologic infection, pathogens, β LES.

Введение

Инфекции мочевой системы (ИМС) по распространённости занимают 2-е место после инфекций верхних дыхательных путей [1, 2]. По статистическим данным, хронический пиелонефрит (ХП) в структуре причин хронической почечной недостаточности (ХПН) занимает 2-е место [3, 4]. В США на долю ИМС приходится более 100000 госпитализаций ежегодно, чаще всего по поводу пиелонефрита [5].

Препаратами эмпирической терапии ХП являются β -лактамы и фторхинолоны, но увеличивающаяся резистентность к ним уропатогенов приводит к ограничению терапевтического выбора [5, 6]. Увеличение числа резистентных штаммов микроорганизмов в первую очередь обусловлено продук-

цией β -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [7]. Последние закодированы генами, которые переносят большие плазмиды, происходящие из семейств TEM, SHV или CTX-M [6]. Большинство штаммов, продуцирующих эти ферменты, также проявляют ко-резистентность к триметоприму, фторхинолонам и аминогликозидам [8, 9].

Целью нашего исследования было изучить наличие плазмид-индуцированных БЛРС типов TEM, SHV и CTX-M среди уропатогенов, выделенных от госпитализированных больных с ХП.

Материал и методы

Бактериальные штаммы. Из мочи обследованных больных было выделено 115 бактериальных патогенов. Микробиологические исследования проводились согласно действующим нормативным документам классическими бактериологическими методами [10].

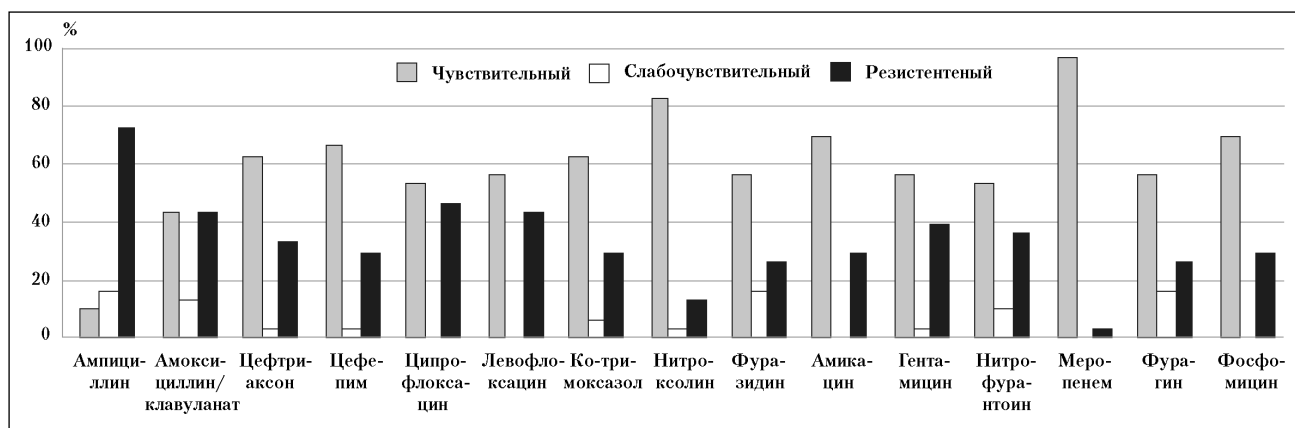
Определение чувствительности к антибактериальным препаратам. Определение чувствительности выделенных из мочи культур микроорганизмов к противомикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом Bauer-Kirby на сре-

© А. В. Бильченко, О. И. Чуб, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: o.chub@mail.ru

Таблица 1. Праймеры

Праймер	Последовательность	Размер
<i>blaTEM</i>	5'-ATG AGT ATT CAA CAT TTC CG 5'-CCA ATG CTT AAT CAG TGA GG	858 bp
<i>blaSHV</i>	5'-ATG CGT TAT ATT CGC CTG TG 5'-AGC GTT GCC AGT GCT CGA TC	862 bp
<i>blaCTX-M</i>	5'-SCS ATG TGC AGY ACC AGT AA 5'-ACC AGA AYV AGC GGB GC	585 bp



Распределение БЛРС-продуцирующих штаммов по степени чувствительности к изученным антибиотикам, %.

де Мюллера-Хинтон с использованием коммерческих дисков в соответствии с действующими нормативными документами [11]. Тестируемые антибиотики: ампициллин, амоксициллин/клавуланат, цефтриаксон, цефепим, ципрофлоксацин, левофлоксацин, нитроксилин, фурамаг, амикацин, гентамицин, нитрофурантоин, меропенем (ООО «Аспект», Киев, Украина), ко-тримоксазол, фурагин, фосфомицин (HiMedia Laboratories, Мумбаи, Индия).

Детекция генов β -лактамаз. Выделение ДНК для всех образцов проводили методом теплового шока (heat-shock technique) [12]. Генетические маркеры резистентности определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по стандартной схеме при помощи программируемого термоджиклера «Терцик-2» фирмы ДНК-технология [13]. Используемые праймеры представлены в табл. 1.

Результаты исследований

Было обследовано 105 пациентов, которые находились на лечении в нефрологическом отделении Харьковской городской клинической больницы скорой и неотложной медицинской помощи им. проф. О. И. Мещанинова. Среди них — 14 (13,3%) мужчин и 91 (86,7%) женщина. У 84 (80%) пациентов из мочи выделяли: 81 (70,4%) штамм грамотрицательных бактерий и 34 (29,6%) — грамположи-

тельных микроорганизмов. Большинство штаммов ($n=73$) было выделено от больных в возрастной категории 18—65 лет и только 42 патогена — от больных в возрасте старше 65 лет. *Escherichia coli* являлась самым распространенным выделенным уропатогеном (табл. 2).

Среди 115 выделенных штаммов 30 (26,1%) продуцировали БЛРС. Максимум генов β -лактамаз было выделено у *P. mirabilis* — 4 (50%), тогда как выявляемость БЛРС в штаммах *E. coli* составила 37,7%. Среди грамположительной флоры гены антибиотикорезистентности обнаружены у 11,8% выделенных бактерий. Самыми распространенными БЛРС были гены *blaTEM* и *blaCTX-M* с выявляемостью в 36,7% для каждого (табл. 3).

Проанализирована чувствительность выделенных возбудителей к 15 антибактериальным препаратам (рисунок). Наибольшую активность против БЛРС-продуцирующих микроорганизмов проявили: меропенем (96,7%), нитроксилин (83,3%) и фосфомицин (70%). К остальным антибиотикам уровни резистентности были следующими: к

Таблица 2. Распространённость выделенных уропатогенов в зависимости от пола и возраста

Уропатогены	Всего ($n=115$)	Мужчины ($n=6$)	Женщины ($n=78$)	≤ 65 лет ($n=73$)	> 65 лет ($n=42$)
<i>Escherichia coli</i>	53 (46,1%)	1 (1,2%)	52 (98,1%)	31 (60,4%)	22 (41,5%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9 (7,8%)	3 (33,3%)	6 (66,7%)	6 (66,7%)	3 (33,3%)
<i>Proteus mirabilis</i>	8 (6,9%)	0 (0,0)	8 (100%)	4 (50%)	4 (50%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (6,9%)	2 (25%)	6 (75%)	8 (100%)	0 (0,0)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (0,9%)	0 (0,0)	1 (100%)	0 (0,0)	1 (100%)
<i>Serratia</i> spp.	2 (1,7%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0,0)	2 (100%)
<i>Enterococcus</i> spp.	17 (14,8%)	2 (11,8%)	15 (88,2%)	12 (70,6%)	5 (29,4%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	12 (10,4%)	0 (0,0)	12 (100%)	11 (91,7%)	1 (8,3%)
<i>Corynebacterium</i> sp.	4 (3,5%)	0 (0,0)	4 (100%)	0 (0,0)	4 (100%)
<i>Streptococcus</i> spp.	1 (0,9%)	0 (0,0)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0,0)

Таблица 3. Выявляемость генов БЛРС среди уропатогенов

Уропатогены	Всего <i>n</i> (%)	БЛРС гены <i>n</i> (%)		
		<i>blaCTX-M</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaSHV</i>
<i>E.coli</i>	20 (37,7)	6 (30)	10 (50)	4 (20)
<i>K.pneumoniae</i>	2 (22,2)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>P.mirabilis</i>	4 (50)	1 (25)	1 (25)	2 (50)
<i>Enterococcus</i> spp.	2 (11,8)	1 (50)	0 (0,0)	1 (50)
<i>Staphylococcus</i> spp.	1 (8,3)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Corynebacterium</i>	1 (25)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100)

ампициллину — 73,3%, к ципрофлоксацину — 46,7%), к левофлоксацину — 43,3%, к гентамицину — 40% штаммов. 33,3% БЛРС-продуцирующих штаммов были резистентны к III генерации цефалоспоринов. Все БЛРС-позитивные уропатогены выделены от госпитализированных больных, приём β -лактамов в предшествующий год и случай недавней госпитализации отмечались у 17 (42,5%) пациентов в обоих случаях. Примечательно, что 12 (30%) БЛРС-продуцентов были выделены на 5-й день после начала антибиотикотерапии.

Обсуждение результатов

Резистентность к β -лактамам, обусловленная плазмид-индуцированными БЛРС, возрастает, особенно в течение последних 20 лет. Согласно данным годового отчета Европейского общества по эпиднадзору за антимикробной резистентностью (EARS-Net) за 2013 год, распространённость БЛРС среди клинических штаммов *E.coli* и *K.pneumoniae*, резистентных к III генерации цефалоспоринов, варьирует от 85 до 100% [6]. В нашем исследовании выявляемость плазмид-индуцированных БЛРС составила 26,1%.

Мультирезистентность (MDR) является частой характеристикой БЛРС-продуцирующих микроорганизмов, так как, помимо устойчивости к β -лактам,

они проявляют ко-резистентность к триметоприму/сульфаметоксазолу, фторхинолонам и аминогликозидам [7, 14–16]. Согласно полученным нами данным, уровни ко-резистентности БЛРС-продуцирующих уропатогенов составили: к ципрофлоксацину — для 46,7% штаммов, к левофлоксацину — для 43,3%, к гентамицину — для 40%, к триметоприму/сульфаметоксазолу — для 30% штаммов.

Обнаружение и выделение плазмид-индуцированных β -лактамаз важно знать для выбора наиболее эффективного антибиотика для лечения. Меропенем, нитроксолин и фосфомицин проявили наибольшую ингибирующую активность в отношении 96,7, 83,3 и 70% штаммов соответственно.

β -Лактамазы типов TEM и CTX-M — самые распространённые механизмы антибиотикорезистентности, в нашем исследовании они выявлялись с одинаковой частотой — в 36,7% случаев.

Поэтому строгое соблюдение рекомендаций по назначению и дозированию антибактериальных препаратов, идентификация БЛРС-продуцирующих бактерий необходимы для эпидемиологического изучения и инфекционного контроля в больницах, а также с целью предотвращения распространения мультирезистентности с помощью плазмид.

ЛИТЕРАТУРА

1. Твердой В.Е. Сравнительная эффективность антибактериальных препаратов фторхинолонового и β -лактаминового рядов в комплексной терапии больных хроническим пиелонефритом. Урология 2012; 4: 8–12.
2. Колесник М.О. Адаптированная клиническая руководство по лучшей диагностике, лечению и профилактике инфекций мочевой системы у женщин. Укр журн нефрол диализ 2012; 2: 34: 53–77.
3. Лопаткин Н.А. Урология: национальное руководство. 2009; 434–451.
4. Колесник Н.А. Национальный реестр больных хронической болезнью почек 2010. Киев: 2011; 10–22.
5. Grabe M. Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology 2013.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.
7. Gibold L. Four-year epidemiological study of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a French teaching hospital. Clin Microbiol Infect 2014 Jan; 20: 1: 20–26.
8. Rawat D. Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. J Glob Infect Dis 2010 Sep; 2: 3: 263–274.

9. Dalhoff A. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. Interdisciplinary Perspect Infect Dis 2012; ID 976273: 1–37.
10. Приказ № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» МЗ СССР от 22.04.1985; 123.
11. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Приказ. [Введения 2007-04-05]. К.: Минздрав Украины, 2007; 78. (Нормативный документ Минздрава Украины. Указания, Приказ).
12. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989.
13. Sundsfjord A. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. DAHL APMIS 2004; 112: 815–837.
14. Morrissey I. A Review of ten years of the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) from 2002 to 2011. Pharmaceuticals 2013; 6: 1335–1346.
15. Balode A. Results from the tigecycline evaluation and surveillance trial (T.E.S.T.) 2004–2010. Int J Antimicrob Agents. 2013 Jun; 41: 6: 527–535.
16. Huh K. Continuous increase of the antimicrobial resistance among gram-negative pathogens causing bacteremia: a nationwide surveillance study by the Korean Network for Study on Infectious Diseases (KONSID). Diagn Microbiol Infect Dis 2013; 76: 4: 477–482.

Иммуномодуляторы в терапии респираторных инфекций

В. А. ИСАКОВ¹, Д. В. ИСАКОВ²

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова Росздрава

² НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Immunomodulators in Therapy of Respiratory Infections

V. A. ISAKOV, D. V. ISAKOV

I. P. Pavlov 1st St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg

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

Вирусные инфекции вызывают дисбаланс системы интерферонов, угнетение клеточных и фагоцитарных реакций организма. Длительно персистирующие вирусные и бактериальные патогены влияют на развитие астмы и могут быть причиной обострений хронических заболеваний дыхательных путей. В статье представлены современные классификации иммуномодуляторов. Показана высокая эффективность циклоферона и других индукторов интерферонов в качестве средств вспомогательного лечения и профилактики (иммунореабилитация) респираторных вирусных инфекций у взрослых и детей.

Ключевые слова: грипп, ОРВИ, патогенез, лечение, персистирующие инфекции, иммуномодуляторы, циклоферон.

Viral infections provoke dysbalance in the interferon system and inhibition of the cellular and phagocytic responses of the host. Long-term persistence of pathogenic viruses and bacteria induce atopy and could aggravate chronic respiratory diseases. The up-to-date classification of immunomodulators is described. High efficacy of interferon inducers, such as cycloferon and some others as auxiliary means in therapy or prophylaxis (immunorehabilitation) of viral respiratory infections in adults and children was shown.

Key words: influenza, ARVI, pathogenesis, treatment, persistent infections, immunomodulators, cycloferon.

Актуальность и патогенез ОРВИ

Важной медицинской и социальной проблемой здравоохранения является высокая заболеваемость гриппом и другими острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), которые по своей социальной значимости, огромному ущербу, наносимому здоровью населения и экономике страны, находятся на первом месте среди всех болезней человека. Заболеваемость гриппом и другими острыми респираторными заболеваниями (ОРЗ) превышает суммарную заболеваемость всеми остальными инфекциями. В период эпидемии гриппа на их долю приходится 10—50% временной нетрудоспособности населения. В остальные годы грипп и ОРЗ составляют до 40% всех заболеваний взрослых, зарегистрированных в поликлиниках, более 80% всей инфекционной патологии и более 60% заболеваний среди детей [1, 2]. Ежегодно в РФ болеют гриппом и ОРВИ около 40 млн человек, а экономические потери составляют 50—100 млрд руб. в год, от герпеса — 40 млрд руб. в год.

Согласно данным вирусологического мониторинга на территории РФ и Санкт-Петербурга в 2013—2014 гг. циркулировали три вируса

гриппа: A(H1N1)pdm09, A(H3N2), грипп В. В структуре вирусов негриппозной этиологии преобладают вирусы парагриппа, РС-вирусы и аденовирусы. Следует напомнить, что вирус гриппа A(H1N1)pdm, вызвавший пандемию гриппа в 2009 г., в высокой степени пневмотропен, с низкой иммуногенной активностью, нейровирулентен.

Вирусы гриппа поражают различные органы и системы, у 5% больных вызывают тяжёлые гипертоксические формы, оказывают супрессивное действие на клеточный иммунитет и систему интерферонов (ИФН-дефицит). Летальность при гриппе среди госпитализированных больных, несмотря на определённые успехи интенсивной терапии, остается от 0,6 до 2,5%. Наиболее часто течение гриппа и ОРЗ осложняет острая (внебольничная) пневмония, которая регистрируется у 2—17% всех больных гриппом и у 15—46,3% среди госпитализированных больных. Острые (внебольничные) пневмонии отягощают и удлиняют течение гриппа и являются основной причиной инвалидизации и смерти больных [3].

При гриппе A(H1N1)pdm описан своеобразный симптомокомплекс — периферическая полинейропатия межреберных нервов, вовлечённость которых в патологический процесс нарушает участие межрёберных мышц в акте дыхания, что усугубляет течение болезни.

© В. А. Исаков, Д. В. Исаков, 2014

Адрес для корреспонденции: 197022 СПб, ул. Л. Толстого, 6/8.
Первый СПб ГМУ им. И. П. Павлова

губляло у больных дыхательную недостаточность и нередко являлось причиной ранней интубации и ИВЛ [4]. После гриппа и ОРВИ у 45—60% больных развивается синдром постеврусной астении.

Группами высокого риска заболевания и летального исхода вследствие гриппа являются:

- дети в возрасте до 1 года;
- пациенты учреждений длительного ухода;
- дети и взрослые с хроническими заболеваниями дыхательной, сердечно-сосудистой, эндокринной, выделительной систем или гемопатиями;
- пациенты с иммунодефицитами различного генеза;
- дети и подростки, длительно принимающие аспирин;
- беременные;
- взрослые в возрасте старше 60 лет;
- лица, имеющие избыточную массу тела.

Нашими исследованиями, а также в работах других авторов показано, что тяжёлые и осложнённые формы гриппа и ОРЗ протекают с развитием транзиторной Т-клеточной иммуносупрессии, снижением функциональной активности натуральных киллеров, фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов периферической крови, наличием интерферонового дефицита, снижением антиоксидантного потенциала сыворотки крови и цереброспинальной жидкости, развитием сенсibilизации лейкоцитов к бактериальным и вирусным антигенам. Нередко отмечаются лейкопения, лимфопения и нейтропения, наиболее выраженные в конце 1-й недели болезни при тяжёлом течении респираторной инфекции [5, 6]. Это во многом определяет возможность развития бактериальных осложнений, обострения хронических сопутствующих заболеваний органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, затяжного течения инфекции и персистенции респираторных вирусов.

Принципы терапии гриппа и других ОРВИ

Лечение больных гриппом и другими ОРВИ затруднено из-за полиэтиологичности ОРВИ, которые вызываются РНК- и ДНК-содержащими вирусами, в том числе герпесвирусами, а также из-за наличия микстинфекций и осложнённых форм заболеваний. Так, у 9—16% взрослых больных гриппом отмечали рецидивы простого герпеса. Доказано, что грипп А и аденовирусная инфекция могут быть кофактором активации герпетической инфекции. Возможно формирование резистентности вирусов к химиопрепаратам (ХП), развитие вторичной иммунологической недостаточности (ВИН), отягощающей течение и исход респираторной инфекции. Терапевтичес-

кий эффект сохраняется на фоне приёма препарата, активного только в отношении респираторных вирусов и не воздействующего на иммунитет, при этом возможны побочные токсические эффекты [7, 8].

В терапии гриппа имеет большое значение разумная тактика врача на догоспитальном этапе, когда важно правильно оценить состояние больного, а также как можно раньше выделить ведущие (или ведущий) клинические синдромы, определяющие тяжёлое течение болезни. Это позволит оказать рациональную медицинскую помощь (начать проведение патогенетической терапии) и своевременно госпитализировать больного в стационар [5,9].

Лечение больных тяжёлыми формами гриппа и ОРЗ, помимо прямых ингибиторов репликации, уменьшающих виремию (ремантадин, тамифлю, реленца), специфических иммуноглобулинов, препаратов интерферонов, антибиотиков, гормонов, включает ряд других патогенетических средств, действие которых направлено на коррекцию нарушенных функций организма [10,11].

После купирования острых явлений и виремии возможно использование иммуномодуляторов для стимуляции процессов активации иммунитета и сероконверсии. Важно раннее использование в комплексной терапии тяжёлых форм гриппа препаратов с антипротеазной и антиоксидантной активностью, а также средств и методов лечения, повышающих иммунобиологическую резистентность организма у взрослых и детей [12—14].

Стратегия применения иммуномодуляторов у больных респираторными инфекциями

В настоящее время инфекционные болезни продолжают оказывать влияние на заболеваемость и смертность у человека. Колоссальный прирост объёмов туризма, оцениваемый ежегодно в 2 млрд человек при пользовании услугами коммерческих авиалиний, а также быстрая глобализация, всё это способствует быстрому распространению безвредных возбудителей между континентами. Согласно данным ВОЗ, за последние 20 лет возникло, по меньшей мере, 40 новых заболеваний. Вместе с тем указанной динамике заболеваемости не соответствует степень внедрения новых эффективных лекарств для лечения большинства инфекционных заболеваний. Всё это диктует необходимость развития новых терапевтических концепций в дополнение к уже существующим [15].

Известны два способа иммуномодулирующего воздействия на иммунную систему: **специфическое**, за счёт вакцинирования и активации адаптивного иммунитета, и **неспецифическое**, за счёт стимуля-

Таблица 1. Иммуномодулирующая противомикробная терапия, направленная на активацию рецепторов распознавания молекулярных образов (приводится с сокращениями; Hancock et al., 2012)

Препарат	Мишень и активность	Применение	Фаза изучения	Компания
Имиквимод	Агонист TLR7	Кератоз, базально-клеточная карцинома, генитальные бородавки, ассоциированные с ВПЧ	Клиническая	Graceway Pharmaceuticals, iNova Pharmaceuticals, Mochida Pharmaceutical
МФЛ	Агонист TLR4	Адъювант в вакцине Cervarix (GlaxoSmithKline) против HPV-инфекции и ассоциированного рака шейки матки	Клиническая	GlaxoSmithKline
СрG-7909	Агонист TLR9	Усиливает эффективность вакцины BioThrax против сибирской язвы (Coley Pharmaceutical)	Фаза II	Coley Pharmaceutical
MF-59 (сквален/вода эмульсия) и МТР-РЕ (мифамуртид)	Агонист NOD2	ВИЧ, вирус гриппа	Фаза I	Chiron/Novartis

Примечание. ВПЧ — вирус папилломы человека; МФЛ — монофосфорил липид А; МТР-РЕ — фосфатидилэтанол-сцепленный мурамил трипептид; NOD2 — белок-2, содержащий нуклеотид-связывающий домен олигомеризации; TLR — Толл-подобные рецепторы.

ции функций клеток, прежде всего врождённого иммунитета [16]. Модификаторы биологического ответа, или **иммуномодуляторы** (ИМД), делятся на иммуностимуляторы и иммуносупрессанты. Под **иммуностимуляторами** подразумеваются вещества, способные повышать защитные силы организма для обеспечения протекции от инфекций через усиление, индукцию или восстановление эффекторных функций клеток противомикробного иммунитета (лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, НК клетки) и сдвиг баланса в сторону продукции различных протективных цитокинов [15]. Неспецифическая активация клеток врождённого иммунитета приводит к усилению защиты от широкого спектра возбудителей, делая возможным применение иммуностимуляторов на ранних стадиях инфекционных заболеваний, ещё до идентификации причинного возбудителя [17–19]. Такой подход обеспечивает восстановление эффективного иммунного ответа и выздоровление в короткие сроки при остром заболевании и стойкой клинико-иммунологической ремиссии — при хроническом. Такая тактика имеет социальный и экономический эффект [17].

Как отмечено, в основе применения иммуностимуляторов лежит активация клеток врождённого иммунитета. Распознавание неинфекционного «своего» и инфекционного «чужого» (компоненты эндогенного и экзогенного происхождения) клетки врождённого иммунитета, как самой древней ветви защитной системы эукариотов, осуществляют благодаря образ-распознающим рецепторам (pattern recognition receptors — PRR), специфичным к патоген-ассоциированным молекулярным паттернам (pathogen-associated molecular patterns — PAMP) микробного происхождения [20].

В частности, лигирование Toll- и NOD-подобных рецепторов (TLR и NLR соответствен-

но), рецепторов для лектинов С-типа (CLR) и RIG-I хеликаз [21] на плазмалемме и в цитоплазме соответственно приводит к активации фагоцитоза, презентации антигенов и продукции цитокинов, позволяющих осуществлять защитные воспалительные функции, а также эффективно стимулировать лимфоциты (табл. 1). Как следствие, происходит усиление как неспецифической противомикробной защиты, так и индукция антигеноспецифического ответа со стороны Т и В лимфоцитов.

Первые подходы к классификации иммунотерапевтических препаратов и стандартизации оценки биологической активности иммуномодуляторов *in vitro*, проведение с ними доклинических и клинических испытаний, были предприняты в 1991г. Изначально иммуномодуляторы применялись в терапии опухолевых заболеваний и рецидивирующих инфекций респираторного тракта [22]. В настоящее время согласно Анатомо-терапевтическо-химической (АТХ) классификации ВОЗ [23], представленной ниже, выделяется большая группа препаратов, оказывающих иммуномодулирующее действие (код: L) на различные защитные клетки организма. Среди них можно выделить препараты с иммуностимулирующим (код: L03) и иммуносупрессивным (код: L04) действием.

Анатомо-терапевтическо-химическая классификация (WHO Collaborating, 2014 [23]; с сокращениями)

L АНТИНЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ПРЕПАРАТЫ

(1-й уровень: главная анатомическая группа)

L03 ИММУНОСТИМУЛЯТОРЫ

(2-й уровень: терапевтическая подгруппа)

Таблица 2. Классы применяемых в клинике и тестируемых адъювантов [приводится с сокращениями; Reed et al., 2013]

Адъюванты	Класс	Механизм или рецептор	Тип иммунного ответа	Клиническая фаза или лицензированный продукт
Аналоги дсРНК (примеры: поли(I:C))	ИМ	TLR3	Ат, TH1, CD8+ Т клетки	Фаза I
Аналоги липида А (примеры: MPL, RC529, GLA, E6020)	ИМ	TLR4	Ат, TH1	Cervarix, Supravax, Pollinex Quattro, Melacine
Флагеллин	ИМ	TLR5	Ат, TH1, TH2	Фаза I
Имидазохинолины (примеры: имиквимод, R848)	ИМ	TLR7 и TLR8	Ат, TH1	Aldara
ОДН CpG	ИМ	TLR9	Ат, TH1, CD8+ Т клетки	Фаза III
Соли алюминия (примеры: алюминия гидроокись, фосфат алюминия)	КФ	Nalp3, ITAM, доставка Аг	Ат, TH2	Различные лицензированные продукты
Эмульсии (примеры: MF59, AS03, AF03, SE)	КФ	Привлечение иммунных клеток, ASC, захват Аг	Ат, TH1, TH2	Fluad, Pandemrix
Вирсомы	КФ	Доставка Аг	Ат, TH1, TH2	Epxal, Inflexal V

Примечание. Ат — антитело; Аг — антиген; ASC — подобный пятнышку регуляторный белок, ассоциированный с апоптозом, содержащий домен привлечения каспаз; ОДН — олигодезоксирибонуклеотид; дсРНК — двуспиральная РНК; ИМ — иммуномодулятор; ITAM — иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив; КФ — корпускулярная форма; MPL — монофосфорил липид А; Mincle — макрофаг-индуцируемый лектин С-типа. Ряд корпускулярных форм (соли алюминия и эмульсии) также имеют иммуномодулирующую активность.

А. Иммуностимуляторы
 L03. Иммуностимуляторы
 L03A. Иммуностимуляторы
 (3-й уровень: фармакологическая подгруппа)
 L03AA. Колонистимулирующие факторы
 L03AB. Интерфероны
 L03AC. Интерлейкины
L03AX. Прочие иммуностимуляторы
 (4-й уровень: химическая подгруппа)

В России также предложены классификации иммуномодуляторов, согласно которым они делятся по происхождению на экзогенные, эндогенные и химически чистые [18, 24, 25]. Авторы выделяют 7 основных групп лекарственных препаратов, обладающих иммуномодулирующими свойствами. В известной степени эта классификация так же, как и предыдущая, базируется на основных принципах функционирования иммунной системы. Любой иммуномодулятор, избирательно действующий на соответствующий компонент иммунитета (фагоцитоз, клеточный или гуморальный иммунитет), помимо эффекта на этот компонент иммунитета, будет в той или иной степени оказывать воздействие и на все другие компоненты иммунной системы [18].

Одним из главных показаний к применению для зарегистрированных иммуностимуляторов является их профилактическое воздействие на частоту острых инфекций дыхательных путей (ОИДП) у детей как наиболее восприимчивого контингента населения [26, 27]. Применение иммуностимуляторов распространено в ряде стран Европы и Америки и предназначено для уменьшения частоты ОИДП у детей. В ряде клинических испытаний была подтверждена полезность иммуностимуляторов в качестве вспомогательно-

го лечения и предупреждения ОИДП, несмотря на скептицизм большинства врачей.

Метаанализ 35 плацебо-контролируемых исследований с участием 4060 человек по изучению роли иммуностимуляторов (в анализ данных не вошли работы с применением индукторов интерферонов, витаминов и пищевых добавок) в предупреждении ОИДП у детей (в возрасте 6 мес — 18 лет) показал, что иммуностимуляторы снижали частоту ОИДП на 39% по сравнению с плацебо [27]. Отмечено, что иммуностимуляторы были эффективны в предупреждении повторных эпизодов ОИДП (второго или третьего), а их применение должно быть ограничено контингентом детей с доказанной высокой чувствительностью к ОИДП, которые подвергаются чрезмерным контактам по ОИДП, что обусловлено посещением дневных стационаров, дошкольных и/или школьных учреждений.

Помимо этого, согласно документу Министерства здравоохранения и социальных служб США «Глобальная стратегия по диагностике, ведению и предупреждению хронической обструктивной болезни лёгких», иммунорегуляторы (иммуностимуляторы, иммуномодуляторы) могут применяться при фармакологической терапии стабильной ХОБЛ [28]. В частности, говорится: «Исследования применения иммунорегуляторов при ХОБЛ показывают снижение тяжести и частоты обострений заболевания. Требуется проведение дополнительных исследований по изучению долговременных эффектов их применения». Таким образом, основным критерием для назначения иммуномодулятора служит клиническая картина заболевания, проявляющаяся наличием хронического инфекционно-воспалительного

Таблица 3. Классификация индукторов интерферона (Ершов Ф. И., Романцов М. Г., Петров А. Ю., 2008; приводится с сокращениями)

Химическая природа	Препарат (коммерческое название)
А. Синтетические соединения с основной интерферониндуктивной активностью	
<i>Низкомолекулярные:</i>	
Флуореноны	Амиксин
Акриданоны	Циклоферон
Олигопептиды	Аллокин
Производное имидазо (4,5-С) квинолина	Имиквимод (альдара)
<i>Полимеры (дс-РНК)</i>	Полудан
	Полигуацил
Б. Природные соединения с основной интерферониндуктивной активностью	
Полифенолы	Кагоцел, Мегосин, Саврац, Рагосин, Гозалидон
Полимеры (дс-РНК)	Ридостин, Ларифан
В. Иммуотропные препараты с вторичной интерферониндуктивной активностью	
<i>Т-миметики</i>	Тимоген, Тактивин, Гроприносин, Изопринозин, Иммунофан
<i>Иммуномодуляторы бактериального происхождения — эубиотики</i>	Лактобактерин, Биоспорин
<i>Вакциноподобные препараты</i>	Бронхомунал, Рибомунил, ИРС-19, Уроваксом
<i>Липополисахариды</i>	Пирогенал, Продигиозан
<i>Производные нуклеиновых кислот</i>	Натрия нуклеинат
<i>Препараты пурина и пиримидина</i>	Метилурацил, Пентоксил
<i>Производные бензимидазола</i>	Дибазол
<i>Производные индола</i>	Арбидол
<i>Растительные иммунокорректоры</i>	Родиола розовая, Гексал (экстракт эхинацеи)

процесса, трудно поддающегося адекватному антиинфекционному лечению [18, 26, 29].

Кроме того, иммуностимуляторы могут играть и другую важную роль, выступая в качестве адъювантов в составе вакцин (табл. 2). В частности, в составе отечественных противогриппозных вакцин «Гриппол» [30] и «Совигрипп» применяются адъюванты полиоксидоний и Совидон (сополимер N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина) [31] соответственно, а в новой вакцине против клещевого энцефалита присутствует так называемый тубулярный иммуностимулирующий комплекс, который состоит из смеси тритерпенового гликозида кукумариозида А2-2, холестерина и полярного липида моногалактозилдиацилглицерида [32]. Все это доказывает важность разработки данного направления по использованию иммуностимуляторов в качестве адъювантов для вакцин нового поколения.

Активация защитных механизмов в ответ на стимуляцию клеток врожденного иммунитета через PRR-рецепторы осуществляется за счёт индукции синтеза различных цитокинов, среди которых одними из ранних являются интерфероны I типа, оказывающие иммуномодулирующее и противовирусное действие [33]. Применение препаратов, способных стимулировать синтез эндогенных интерферонов, может расцениваться как одно из следствий проведения сигналов через PRR-рецепторы при распознавании неинфекционного «своего» и инфекционного «чужого». Однако при этом препараты данной группы могут обладать преимуществом перед применением агонистов Toll- и NOD-подобных рецепторов (и

других PRR-рецепторов) благодаря более узкому воздействию на продукцию преимущественно эндогенных интерферонов, исключая тем самым чрезмерную активацию иммунитета и системные побочные реакции.

Адекватный ответ на вирусную инфекцию может быть достигнут при применении препаратов с **бифункциональной** активностью — одновременно обладающих противовирусным и иммуномодулирующими свойствами, что может ограничить избыточную активацию Т-клеток и/или способствовать переходу на новый цитокиновый профиль, например с Th2 на Th1 у пациентов и лиц с аллергическими заболеваниями, что является оптимальным для осуществления противовирусного действия. В связи с этим в комплексной терапии среднетяжёлых и тяжёлых (осложнённых) форм гриппа А(Н1N1)pdm Минздрав России рекомендовал сочетанное применение специфических противогриппозных препаратов (ремантадин, тамифлю и др.) с интерферонами или индукторами интерферонов (ИИ) [1, 34, 35]. Препараты с разнонаправленными механизмами действия обеспечивают синергидный эффект, снижают риск формирования резистентных штаммов вирусов [5, 36].

В практической медицине с успехом используется классификация ИИ академика РАН Ф. И. Ершова (табл. 3), который более 40 лет посвятил теоретическим и прикладным аспектам применения ИИ.

Для лечения и профилактики гриппа и ОРВИ используются следующие ИИ: амиксин, гроприносин, изопринозин, кагоцел, циклоферон и др. Отечественный препарат Меглюмина акридона-

цетат (Циклоферон) является высокоэффективным синтетическим индуктором синтеза эндогенных интерферонов (АТХ код: L03AX), что доказали длительные и разнообразные клинические испытания. Циклоферон (ЦФ) принадлежит к числу низкомолекулярных ИИ, классу акридонов, представляет собой порошок светло-жёлтого цвета, хорошо растворимый в воде, слегка опалесцирующий. У ЦФ не обнаружено цитотоксического действия, он проявляет противовирусную активность, выступая в качестве интерфероногена (ИФН- α раннего типа). После введения ЦФ высокий уровень синтеза ИФН- α в тканях и органах, содержащих лимфоидные элементы, отмечается на протяжении не менее 72 часов, тогда как в сыворотке крови нормального человека содержание высоких уровней ИФН сохраняется лишь 48 часов.

Спектр биологической активности ЦФ: противовирусный, иммуномодулирующий, противовоспалительный, анальгезирующий, антипролиферативный, противоопухолевый, радиопротективный. Циклоферон применяется в комплексной терапии различных вирусно-бактериальных и соматических заболеваний, онкологической и хирургической патологии, ВИН различного генеза.

Лекарственные формы ЦФ: 12,5% раствор для внутривенного и внутримышечного введения (в ампулах по 2 мл), таблетки по 150 мг (соль акридонуксусной кислоты и N-метил-глюкамина), покрытые кишечнорастворимой оболочкой, и 5% линимент в тубах по 5 и 30 мл.

Экспериментально показано, что ЦФ прямо или косвенно повышает в 3–10 раз, по сравнению с контролем, количество дефект-интерферирующих частиц (ДИ-частиц), не вызывающих продуктивную инфекцию [37]. Опосредованно (через систему ИФН) оказывает противовирусное действие. Активирует собственную иммунную систему, нормализует Th1/Th2 тип иммунного ответа.

Результаты исследований

Нами изучена эффективность таблеток циклоферона (тЦФ) в комплексной терапии гриппа и ОРЗ у взрослых [38]. В случае нетяжёлого течения гриппа и ОРЗ взрослому следует принимать по 2 тЦФ один раз в день по схеме: в 1-й, 2-й, 4-й, 6-й и 8-й дни лечения. На фоне тЦФ у больных продолжительность лихорадки в 1,8 раза и интоксикации в 1,4 раза была короче, чем в группе лиц на базисной терапии. Менее продолжительными оказались катаральный синдром и продолжительность болезни. Реже в 3,4 раза развивались осложнения.

Больным гриппом, осложнённым пневмонией, назначали тЦФ в период ранней реконвалес-

ценции, то есть с 8–12-го дня болезни. Если грипп или ОРЗ развивается у больного с хроническими заболеваниями органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, то через 8 дней следует продолжить приём по 2 таблетки один раз в день на 11-й, 14-й, 17-й, 20-й и 23-й дни лечения. ЦФ можно применять одновременно с антибиотиками, противовирусными ХП, что снижает риск развития устойчивости микроорганизмов к препаратам. Комплексное лечение основного заболевания поможет быстрее избавиться от респираторной инфекции, избежать развития неприятных осложнений.

При лечении детей в возрасте 4–10 лет ЦФ можно назначать по 1 таблетке один раз в день по той же схеме, что и взрослому. При ВИН, ассоциированных с хроническими бактериальными и грибковыми инфекциями, принимают по 4 тЦФ в первые 5 приёмов на 1-е, 2-е, 4-е, 6-е, 8-е сутки и по 2 тЦФ в следующие 5 приёмов на 11-е, 14-е, 17-е, 20-е и 23-и сутки (курс 30 таблеток). ЦФ включен в обязательный стандарт лечения при состояниях, сопровождающихся развитием вторичного иммунодефицитного синдрома [39, 40].

Экстренную профилактику ОРЗ и гриппа у детей проводили по следующим схемам: 1-я схема — детям 4–7 лет препарат тЦФ назначался по 150 мг на 1-й, 2-й, 4-й, 6-й и 8-й день терапии (№ 5) и далее по 150 мг через 72 часа (№ 5). Итого №10 на курс, в курсовой дозе 1500 мг. 2-я схема — детям старше 7 лет по 2 тЦФ на приём по аналогичной схеме. Курсовая доза 3000 мг [41]. В группе «основной» индекс эффективности составил 10,7, а показатель защищённости — 91,0%. В группе «сравнения» — 1,1 и 8,3% соответственно ($p < 0,05$).

В многоцентровых пострегистрационных исследованиях назначали тЦФ при ОРЗ и гриппе (выборка составила более 22000 человек). Доказана высокая эффективность тЦФ как средства экстренной профилактики ОРЗ и гриппа: индекс эффективности препарата составил 2,9, показатель защиты — 62,8%. Зарегистрировано снижение заболеваемости ОРЗ более чем в 2,9 раза и прирост уровня секреторного IgA1 и IgG, нормализация показателей функции внешнего дыхания. Аллергических реакций и негативных эффектов препарата не выявлено. Переносимость препарата хорошая.

Результаты применения тЦФ сотрудниками МЧС. Схема профилактического приёма тЦФ: в 1-й день 600 мг, затем по 300 мг (2 таблетки) на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й, 11-й, 14-й, 17-й и 20-й дни. В остальные 8 месяцев по 600 мг еженедельно. 17% спасателей, получавших тЦФ, заболели ОРЗ. Среди спасателей из группы сравнения (плацебо) 50% перенесли ОРЗ и 20% — острый бронхит. Таким

образом, при оценке клинической эффективности ЦФ у взрослых больных отмечен выраженный эффект препарата, длительность лихорадочного периода у 82% больных составила 1–3 суток, у 23 % отмечены температурные реакции $>38,6^{\circ}\text{C}$, длительность катаральных явлений и симптомов интоксикации в среднем была короче на 2–3 дня; а осложнения регистрировались в 9 раз реже, чем среди больных контрольной группы.

Схема лечения кагоцелом гриппа и ОРВИ у взрослых: по 2 таблетки 3 раза в день первые 2 дня, в последующие 2 дня по одной таблетке 3 раза в день. Длительность курса — 4 дня. Всего на курс лечения — 18 таблеток. Рациональная терапия гриппа и ОРВИ у детей: в возрасте от 3 до 6 лет — 2 дня по 1 табл. 2 раза в день и 2 дня по 1 табл. 1 раз в день (на курс 6 таблеток). Детям от 6 до 12 лет 1 табл. 3 раза в день и 2 дня по 1 табл. 2 раза в день (на курс 10 таблеток). Кагоцел эффективен даже при запоздалом начале лечения гриппа и ОРВИ — до 4-го дня от начала болезни. Отмечается хорошая переносимость препарата и отсутствие побочных эффектов [42].

Для профилактики гриппа и ОРВИ у взрослых используют 7-дневные циклы: 2 дня по две таблетки 1 раз в день, далее 5 дней перерыв. Длительность профилактического курса от одной недели до нескольких месяцев, что позволило снизить заболеваемость гриппом и ОРВИ в основной группе по сравнению с контрольной в 3,4 раза, количество осложнений в 2 раза [43]. Профилактика гриппа и ОРВИ у детей от 3 лет (7-дневные циклы): 2 дня по 1 табл. 1 раз в день, 5 дней перерыв. Затем цикл повторить. Длительность профилактического курса от одной недели до нескольких месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

- Беляева Т.В., Исаков В.А., Рахманова А.Г. и др. Грипп А(H1N1) Калифорния («свиной грипп»). Клиника, диагностика, этиология. Метод рекоменд для врачей. СПб. 2009.
- Осидак Л.В., Еропкин М.Ю., Ерофеева М.К. и др. Грипп А (H1N1) 2009 в России. Тетра Medica nova 2009; 4–5: 6–9.
- Исаков В.А., Шамапова М.Г., Чепик Е.Б. и др. Современные подходы к лечению тяжелых форм гриппа. Вестник РАМН 1993; 9: 10–13.
- Говорин А.Н. Клинические и некоторые патогенетические аспекты поражения нервной системы при гриппе А/H1N1/09. Автореф. дис...канд. мед. наук. Иркутск; 2012.
- Исаков В.А. Тяжелые формы гриппа (клиника и система этапного лечения). — Автореф. дис...док. мед. наук. СПб.; 1996.
- Исаков В.А. Клинико-патогенетические аспекты тяжелого гриппа. Аллергол. и иммунол. 2002; 1: 3: 136–144.
- Волощук Л.В., Осидак Л.В., Головачева Е.Г. и др. Клинико-лабораторная характеристика гриппа 2009–2011 гг. в Санкт-Петербурге. Инфекц бол 2011; 2: 9: 3–10.
- Исаков В.А. Терапия тяжелого гриппа. Аллергол и иммунол 2002; 1: 3: 385–389.
- Осидак Л.В., Дриневский В.П., Цыбалова Л.М. и др. Острые респираторные инфекции у детей и подростков: практическое руководство для врачей / Под ред Л.В.Осидак. Издание 2. СПб.: 2010.
- Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. Справочник. Издание 2. М.: 2006.
- Исаков В.А., Коваленко А.Л., Туркин В.В., Аспель Ю.В. Применение новых иммуномодулирующих и антиоксидантных средств в терапии гриппа и ОРЗ. Руководство для врачей. СПб-В.Новгород: 2000.
- Афанасьева О.И. Клиника, иммунопатогенез и противовирусная терапия современного гриппа у детей. Автореф. дис...док. мед. наук. СПб.: 2012.
- Волощук Л.В. Оценка эффективности включения цитокинодерживающих препаратов в терапию гриппа и гриппоподобных заболеваний. Автореф. дис...канд. мед. наук. СПб.: 2012.
- Савенкова М.С., Афанасьева А.А., Абрамова Н.А. Иммунотерапия: лечение и профилактика вирусных инфекций у часто и длительно болеющих взрослых и детей. Журнал для непрерывного образования врачей. Аллергол иммунол: новости, мнения, обучение. 2012; 3: 20–27.
- Principles of Immunopharmacology, 3rd revised and extended edition / Editors: F.P. Nijkamp, Michael J. Parnham, ISBN: 978-3-0346-0135-1, 2011-09-01, 760 p.
- Chapter 35. Immunosuppressants, Tolerogens, and Immunostimulants. Alan M. Krensky; William M. Bennett; Flavio Vincenti. In: Series: Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill Professional; 12 edition (January 10, 2011), ISBN-10: 0071624422
- Караулов А.В., Ликов В.Ф. Иммунотерапия респираторных заболеваний: Руководство для врачей. Лекарства и пищевые добавки. М.: 2004.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы. Классификация. Механизм действия. М.: 2005.

19. Hancock R.E., Nijnik A., Philpott D.J. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. *Nat Rev Microbiol*. 2012 Mar 16; 10 (4): 243–254. doi: 10.1038/nrmicro2745.
20. Janeway C. A. Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1989; 54: Pt 1: 1–13.
21. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006 Feb 24; 124: 4: 783–801.
22. Developments in Biological Standardization, Vol.77, Standardization of the Immunopharmacology of Natural and Synthetic Immunomodulators: Proceedings. Palais Des Congres, Annecy/France, May 1991, Published by Karger, Freiburg i.B., 1992. ISBN 10: 3805556195 / ISBN 13: 9783805556194
23. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2014. Oslo, 2013.
24. Афиногенова В.П., Лукачев И.В., Костинов М.П. Иммуноterapia: механизм действия и клиническое применение иммунокорригирующих препаратов. *Леч врач. Открытые системы* 2010; 4: 9–13.
25. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения. *Клин мед* 1996; 8: 74: 7–12.
26. Лысенко И.М., Романцов М.Г. Повторная респираторная заболеваемость детей. *Антибиотики химиотер* 2013; 1–2: 3–11.
27. Del-Rio-Navarro B.E., Espinosa-Rosales F.J., Flenady V., Sienra-Monge J.J.L. Immunostimulants for preventing respiratory tract infection in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 4. Art. No.: CD004974. DOI: 10.1002/14651858.CD004974.pub2.
28. <http://www.guideline.gov/>
29. Исаков В.А., Исаков Д.В. Перспективы терапии респираторных инфекций у часто болеющих пациентов. *Пульмонология* 2014; 4: 118–124.
30. <http://www.grippol.ru/>
31. <http://www.vidal.ru/novosti/4736>
32. <http://i.rbc.ru/>
33. Levy D. E., Marié I. J. Signaling in the type I interferon antiviral innate immune response. *Nature Immunology* 8, (1 September 2007), doi:10.1038/ifn-signaling.
34. Жданов К.В., Львов Н.И., Мальцев О.В. и др. Грипп А(H1N1)/California/04/2009: эпидемиология, клиническая картина и этиотропная терапия. *Terra Medica* 2010; 4: 3–8.
35. Исаков В.А. Терапия социально значимых вирусных инфекций (герпес, грипп). В кн.: Труды XXI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Сборник лекций для практикующих врачей. М.: 2014; 504–523.
36. Ершов Ф. И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: 2005.
37. Осидак Л.В., Зарубаев В.В., Образцова Е.В. и др. Изопринозин в терапии ОРВИ у часто болеющих детей. *Дет инфекц* 2008; 3: 35–41.
38. Исаков В.А., Романцов М.Г., Каболова И.В. и др. Эффективность циклоферона в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ. *РМЖ. Болезни дыхательных путей*. 2011; 23: 1420–1425.
39. Применение меглюмина акридоацетата в комплексной терапии больных бронхиальной астмой при острых респираторных инфекциях. Метод рекоменд №5./Под редакцией А.Г.Чучалина, Ф.И.Ершоваю М.: 2012.
40. Хаитов Р.М. Стандарты диагностики и лечения нарушений иммунной системы. М.: 2000; 107–110.
41. Романцов М.Г., Сологуб Т.В. Экстренная неспецифическая профилактики и лечение гриппа и ОРВИ. Лекция для врачей. СПб.: 2008.
42. Харламова Ф.С., Кладова О.В., Сергеева Э.М. и др. Клиническая эффективность препарата Кагоцел при гриппе и ОРВИ у детей с 2 до 6 лет. *Дет инфекц* 2010; 4: 1–7.
43. Кареткина Г.Н. Применение индукторов интерферонов для лечения и профилактики гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций. *Леч врач* 2009; 10: 1–4.
44. Сергиенко Е.Н. Шмелева Н.П., Германенко И.Г., Грибкова Н.В. Грипп у детей: клинико-иммунологические особенности и новые возможности терапии. *Мед новости* 2009; 114: 1–4.
45. Парамонова Н.С., Волкова О.А. Проблемы острых респираторных вирусных заболеваний в педиатрии. *Медицина* 2006; 4: 66–67.

Перспектива применения левофлоксацина для лечения больных с бронхолёгочными заболеваниями и с гнойно-воспалительными поражениями кожи и мягких тканей

В. И. СОКОЛОВА, Д. А. СЫЧЕВ, М. Б. БАБАРИНА, Д. А. ЗАЙКОВ

Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва

Prospects of Levofloxacin Use in Therapy of Patients with Bronchopulmonary Diseases or Skin and Soft Tissue Pyo-Inflammatory Lesions

V. I. SOKOLOVA, D. A. SYCHEV, M. B. BABARINA, D. A. ZAIKOV

Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

В статье приводятся результаты клинико-микробиологического изучения эффективности препарата левофлоксацина у 38 больных с респираторной инфекцией и различными гнойно-воспалительными заболеваниями. Положительные результаты лечения наблюдали у 29 (76,3%) больных. Ни у одного больного не наблюдались нежелательные эффекты.

Ключевые слова: респираторная инфекция, лечение, эффективность, левофлоксацин.

The results of the clinico-microbiological investigation of the levofloxacin efficacy in the treatment of 38 patients with respiratory infections or various pyo-inflammatory lesions are presented. The positive results were stated in 29 (76.3%) patients. No adverse reactions were observed.

Key words: respiratory infection, therapy, efficacy, levofloxacin.

Инфекционно-воспалительные заболевания различной локализации представляют серьёзную проблему в многопрофильной больнице. Ее актуальность обусловлена достаточно высокой заболеваемостью пневмониями, значительным числом осложнений и трудностями лечения. Заболеваемость внебольничными пневмониями достигает 1—3 на 1000 человек в год. Летальность при внебольничной пневмонии составляет 1—2% в амбулаторной практике и 10—15% в стационаре, а при наличии таких сопутствующих заболеваний, как ХОБЛ, сахарный диабет и других состояний, характеризующихся вторичным иммунодефицитом, летальность возрастает до 30%. В России растёт устойчивость пневмококка к пенициллинам, макролидам и появилась устойчивость к цефалоспорином третьего поколения. Все эти факторы характеризуют пневмонию и хронический бронхит как одну из самых актуальных проблем отечественной медицины [1].

Также определённые сложности представляет лечение больных с гнойно-воспалительными за-

болеваниями кожи и мягких тканей. Так, по оценкам [2], ежегодно данная патология в России встречается у 700 тыс. пациентов. Особые трудности возникают в тех случаях, когда формирование хронических язв сопряжено с артериальной или венозной сосудистой патологией нижних конечностей. В первую очередь это у больных сахарным диабетом, так как это связано с высоким риском развития микро- и макрососудистых осложнений, в частности с развитием синдрома диабетической стопы: микроангиопатия наблюдается у 100% больных сахарным диабетом, а у 30% пациентов проявляются те или иные гнойно-некротические осложнения [3]. Интенсивность местных изменений в области трофической язвы обусловлена взаимодействием многих факторов, препятствующих регенерации окружающих рану тканей: наличием очага тканевой деструкции, присутствием патогенной микрофлоры (которая разрушает тканевые барьеры), гипергликемией, гиперлипотеинемией, окислительным стрессом (как следствие увеличения концентрации свободных радикалов) [4].

Учитывая тяжесть и неблагоприятный прогноз описанных заболеваний, антибактериальная терапия должна назначаться в ранние сроки, когда врач, как правило, не располагает микро-

© Коллектив авторов, 2014

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

биологическими данными, поэтому первичный выбор антибиотика носит эмпирический характер. Назначение препарата основывается на эпидемиологическом анамнезе, особенностях клинического течения болезни, возрасте больных, наличии фоновых заболеваний, переносимости антибиотиков и других лекарственных средств, а также на знании об устойчивости выделенного возбудителя *in vitro* к применяемому антибиотику. У тяжёлых и проблемных больных эффективным антибиотиком, характеризующимся высокой природной активностью как против грамположительных, так и против грамотрицательных патогенов, вызывающих инфекционно-воспалительные процессы, является фторхинолоновый препарат левофлоксацин [5, 6].

Левофлоксацин быстро проникает в ткани, где создаются концентрации большие, чем в плазме крови. Особенно высокие концентрации обнаруживаются в тканях и жидкостях респираторного тракта, внутри клеток, в коже и мягких тканях и других органах [7]. Длительный период полувыведения ($T_{1/2}$ — 6–7 ч) позволяет назначать препарат 1 раз в сутки, введение 2 раза в сутки возможно при тяжело протекающих инфекциях [8].

Важно отметить, что для успешного лечения бактериальных пневмоний и хронических бронхитов, а также инфекционно-воспалительных дефектов нижних конечностей у пациентов с сосудистой недостаточностью или сахарным диабетом необходимо проведение комплексного лечения, включающего, наряду с антибиотикотерапией, иммунные и метаболические препараты [9].

Цель настоящего исследования — провести клинико-микробиологическое изучение эффективности левофлоксацина при лечении больных с респираторной инфекцией и различными гнойными заболеваниями кожи и мягких тканей.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 38 больных с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями, которые были разделены на две группы: в первой группе 20 пациентов получали лечение левофлоксацином по поводу бронхолегочных заболеваний (12 больных с внебольничной пневмонией, 1 — с пневмонией тяжёлого течения, 2 — с инфильтративным туберкулёзом лёгких, 5 — с обострением хронического гнойного бронхита), во второй группе — у 18 пациентов левофлоксацин применялся для лечения гнойно-воспалительных поражений кожи и мягких тканей (1 — с рожистым воспалением, 1 — с гидраденитом, 2 — с колотой и рваной раной, 3 — с абсцессом мягких тканей, 11 — с синдромом диабетической стопы). Возраст больных составил от 23 до 59 лет. Из них 24 (63%) мужчин и 14 (37%) женщин (табл. 1).

У пациентов с бронхолегочными заболеваниями (первая группа) материалом для микробиологического исследования служила мокрота, полученная после глубокой экспекторации. Мокрота, имеющая выраженную гнойность окрашивалась по Граму. Затем проводился подсчёт эпителиальных клеток и лейкоцитов: если в поле зрения обнаруживалось менее 10

эпителиальных клеток и более 25 лейкоцитов, тогда проводился посев для культурального исследования. Окраска по Цилю-Нельсену позволяла выявить *Mycobacterium tuberculosis*. У пациентов с гнойно-воспалительными дефектами кожи и мягких тканей (вторая группа) были выделены из крови и гнойного отделяемого 19 штаммов микроорганизмов. Чувствительность изолятов к антибактериальным препаратам определяли при помощи диско-диффузионного метода, согласно рекомендациям NCCLS.

В нашем исследовании для лечения инфекции был использован препарат Леволет Р (левофлоксацин). У 11 пациентов с синдромом диабетической стопы впервые в практике препарат применялся внутриаартериальным способом путём непрерывной инфузии с последовательным введением полиоксидония в дозе 12 мг/сут через постоянное имплантируемое устройство порт-катетер. Остальным 27 больным Леволет Р назначался внутривенно в дозе 500 мг в сутки. В зависимости от тяжести заболевания дозу препарата увеличивали до 1000 мг в сутки.

Результаты и обсуждение

В первую группу больных, принимавших левофлоксацин, вошло 20 человек с локализацией патологического процесса в бронхолегочной ткани (табл. 1). Степень активности воспалительного процесса оценивали по следующим показателям крови: С-реактивный белок, который был резко положительный (от 10 до 30 мг/мл), у двух пациентов отмечены высокие значения прокальцитонина (50 нг/мл), у 17 из 20 больных — выраженный лейкоцитоз крови (от 9×10^9 до 10×10^9 /л) с палочкоядерным сдвигом и ускоренная СОЭ.

Всем пациентам с бронхолегочной инфекцией левофлоксацин в начальной дозе 500 мг вводился внутривенно 1 раз в сутки в течение 5–7 дней. В случаях с тяжёлой сопутствующей патологией доза антибиотика увеличивалась до 1000 мг в сутки.

При респираторных заболеваниях происходит ремоделирование бронхиальной стенки: инфильтрация и отёк слизистой, гиперплазия бокаловидных клеток, изменяются реологические свойства бронхиального секрета, что приводит к формированию бронхообструктивного синдрома и колонизации патогенов. Для улучшения мукоцилиарного клиренса всем 20 больным назначался Флуимуцил (N-ацетилцистен) в дозе 300 мл через небулайзер.

У одного больного левофлоксацин в суточной дозе 1000 мг/сут использовался в лечении бактериальной долевой пневмонии, протекавшей на фоне иммунологической недостаточности, с кровохарканьем и выраженными интоксикационными проявлениями. Проводимая терапия была недостаточно эффективной: сохранялись лихорадка, кровохарканье и другие симптомы, объём инфильтрации увеличивался, что подтверждалось КТ лёгких. В посеве мокроты — рост *Burkholderia cepacia*, которая проявляла высокую чувствительность лишь к цефоперазону (табл. 2). Согласно данным антибиотикограммы, была проведена коррекция

Таблица 1. Группы больных, получавших лечение левофлоксацином

Группы больных	Нозология	Больные		
		общее число	мужчины	женщины
Первая группа	Внебольничная бисегментарная пневмония средней степени тяжести	12	6	6
	Инфильтративный туберкулёз лёгких	2	1	1
	Госпитальная пневмония тяжёлого течения на фоне лимфопролиферативного заболевания	1	1	—
	Хронический гнойный деформирующий бронхит, обострение	5	4	1
	Всего:	20	12	8
Вторая группа	Эритематозная форма рожистого воспаления голени	1	1	—
	Гидраденит подмышечной ямки	1	1	—
	Рваная рана голени	1	1	—
	Колотая рана стопы	1	1	—
	Абсцесс ягодичных мышц	2	—	2
	Псоас-абсцесс	1	—	1
	Синдром диабетической стопы	11	8	3
	Всего:	18	12	6
	Итого:	38	24 (63%)	14 (37%)

антибиотикотерапии. Учитывая наличие иммунодефицита, в программу лечения был включён человеческий внутривенный иммуноглобулин — пентаглобин. Суммарная доза препарата составила 20,0 г и на этом фоне наблюдался выраженный регресс клинико-морфологических признаков болезни.

Необходимо отдельно остановиться на двух больных, обратившихся с жалобами на кашель и субфебрилитет. Один больной страдал гнойным хроническим бронхитом; в анамнезе — злоупотребление алкоголем. Другая больная находилась в послеродовом периоде, жаловалась на пароксизмальный кашель с трудноотделяемой мокротой. Оба пациента получили эмпирически левофлоксацин в дозе 500 мг/сут внутривенно в течение 3 дней. Был отмечен положительный ответ на антибиотикотерапию. По данным микроскопии мокроты больных, полученной индуцированным методом, обнаружена *Mycobacterium tuberculosis*, в связи с чем эти больные были направлены в специализированное лечебное учреждение.

У 12 больных с внебольничной пневмонией (*Streptococcus pneumoniae*) и у 3 больных с гнойным бронхитом результаты лечения левофлоксацином расценивали как хорошие: отмечалось урежение кашля, снижение температуры тела на 2—3 сутки, изменение характера мокроты, исчезновение признаков интоксикации; к концу лечения уменьшалось количество лейкоцитов в периферической крови и в «унисон» приходили к норме биомаркеры (С-реактивный белок, прокальцитонин). К 7 дню лечения отмечалась положительная динамика аускультативных данных (исчезновение или сужение зоны влажных и сухих хрипов) и разрешение рентгенологических признаков неспецифической лёгочной инфекции, что подтверждало эффективность антибактериальной терапии.

У 2 пациентов с обострением хронического гнойного бронхита результаты лечения были расценены как удовлетворительные: длительно сохра-

Таблица 2. Антибиотикограмма штамма *Burkholderia cepacia*

Антибиотик	Чувствительность
Амоксициллин/клавулановая кислота	R
Тикарциллин/клавулановая кислота	R
Гентамицин	R
Офлоксацин	R
Ципрофлоксацин	R
Цефуроксим	R
Цефоперазон	S
Цефтазидим	R
Цефтриаксон	I

Примечание. R — резистентность; I — умеренная резистентность (чувствительность); S — чувствительность.

нялась гнойная мокрота, бронхорея (100 мл/сут) и признаки интоксикации (слабость, потливость, субфебрилитет). При бактериологическом исследовании мокроты этих больных наблюдался рост *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*. Эти штаммы проявили умеренную чувствительность к левофлоксацину (табл. 3). В этих случаях доза препарата была увеличена до 750 мг/сут; но добиться клинической ремиссии не удалось, в связи с чем к терапии был добавлен метронидозол 500 мг/сут внутрь с целью подавления возможного влияния анаэробных возбудителей. Это обеспечило ремиссию заболевания.

Во вторую группу вошли 18 больных с гнойно-воспалительными поражениями кожи и мягких тканей.

У больного с эритематозной формой рожи голени инфекционный процесс характеризовался очаговым серозным воспалением кожи, лихорадкой и интоксикацией. В посеве крови отмечен рост возбудителя — *Streptococcus pyogenes* (10⁷ КОЕ/мл).

У 17 больных для бактериологического исследования проводился посев гнойного отделяемого. Из них у 2 больных с раневой инфекцией голени и стопы в материале наблюдался рост ассоциации *S. epidermidis* + *Proteus* spp. и *S. aureus* соответственно. При исследовании материала от больного с ги-

Таблица 3. Чувствительность к левофлоксацину возбудителей, выделенных из мокроты больных с бронхо-лёгочными заболеваниями

Возбудитель	Число штаммов	Чувствительность к левофлоксацину		
		S	I	R
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	17	15	2	—
<i>Streptococcus viridans</i>	1	1	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	2	1	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1	1	—
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	—	—	1
Всего:	27	22 (81,5%)	4 (14,8%)	1 (3,7%)

Таблица 4. Чувствительность к левофлоксацину микроорганизмов, выделенных из крови и различного гнойного отделяемого

Нозология	Выделенный возбудитель	Чувствительность к левофлоксацину		
		S	I	R
Эритематозная форма рожистого воспаления голени*	<i>S.pyogenes</i>	1	—	—
Гидраденит подмышечной ямки**	<i>S.aureus</i>	1	—	—
Рваная рана голени**	<i>S.aureus</i>	1	—	—
Колотая рана стопы**	<i>S.epidermidis</i>	1	—	—
Абсцесс ягодичных мышц**	<i>Proteus spp.</i>	1	—	—
	<i>S.pyogenes</i>	1	—	—
	<i>Proteus spp.</i>	1	—	—
Псоас-абсцесс**	<i>S.aureus</i>	1	—	—
Синдром диабетической стопы**	<i>S.aureus</i>	1	—	—
	<i>S.epidermidis</i>	1	—	—
	<i>S.pyogenes</i>	1	—	—
	<i>P.aeruginosa</i>	3	2	—
	<i>Acinetobacter spp.</i>	1	—	2
Всего:	19	15 (79%)	2 (10,5%)	2 (10,5%)

Примечание. * — материалом служила кровь; ** — материалом служило гнойное отделяемое.

драденитом подмышечной ямки — рост *S.aureus*. У двух больных имел место постинъекционный абсцесс ягодичных мышц: при посеве у одного отмечен рост ассоциации микроорганизмов *S.pyogenes* + *Proteus spp.*, во втором случае — роста не было. Одна больная жаловалась на высокую температуру (40°C), резкую боль в боку, вынужденное положение конечности (согнута в тазобедренном суставе) и на выраженную боль при разгибании бедра. Данное состояние было расценено как псоас-абсцесс, вследствие гнойного затека из области ягодичных мышц. При вскрытии очага инфекции — обильное гнойное отделяемое из мышечных футляров. Исследование гнойного субстрата показало обильный рост *S.aureus*.

У 11 больных с синдромом диабетической стопы отмечалось обильное гнойное отделяемое, «зловонный» запах и тусклые грануляции дефекта. При исследовании гнойно-некротического материала микробиологический пейзаж был представлен как грамположительными, так и грамотрицательными микроорганизмами. У 3 больных были выделены грамположительные возбудители: *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.pyogenes*; 8 штаммов были представлены грамотрицательными изолятами: 5 штаммов *P.aeruginosa* и 3 штамма *Acinetobacter spp.*

Таким образом, из изученного материала (крови и гнойного отделяемого) было выделено 19 штаммов микроорганизмов. Из них у 15 (79%) штаммов отмечалась высокая чувствительность к левофлоксацину. Следует отметить, что 2 штамма *P.aeruginosa* проявили умеренную чувствительность, а 2 штамма *Acinetobacter spp.* — абсолютную резистентность к левофлоксацину (табл. 4).

Всем больным проводилась антибиотикотерапия. Семь пациентов получали левофлоксацин внутривенно в дозе 500 мг/сут в течение 5 дней. У всех из них наблюдалась положительная динамика на фоне лечения: исчезновение интоксикации, лимфангита, очищение раневой поверхности, инфильтрации, отека. У 11 пациентов с сахарным диабетом, осложнённым синдромом диабетической стопы, левофлоксацин вводили внутриартериально через порт-катетер в дозе 500 мг/сут, длительность терапии составила 5–7 дней. Этим больным с целью профилактики вторичного иммунодефицита последовательно вводился полиоксидоний в дозе 12 мг/сут. Компенсация нарушенного углеводного обмена проводилась инсулином длительного действия — лантусом.

Выраженная положительная динамика отмечалась у 7 из 11 больных. Удовлетворительный эффект был у 2 пациентов, у 2 — антибактериаль-

ная терапия была безуспешной. Клинический ответ на терапию соответствовал результатам бактериологического исследования (см. табл. 4).

Заключение

В течение последних 20 лет одну из ведущих позиций в лечении инфекции респираторной и мочевыделительной систем, а также инфекции кожи и мягких тканей прочно занимают фторхинолоны, что определяется широким спектром их антимикробной активности, хорошими фармакокинетическими характеристиками и хорошей переносимостью. К числу современных препаратов этого класса относится левофлоксацин, применяющийся при бронхолёгочной инфекции и инфекции кожи и мягких тканей. В отличие от ранее применяемых фторхинолонов (офлоксацина, цiproфлоксацина и др.) левофлоксацин обладает высокой активностью в отношении как грамположительных микроорганизмов, в частности к *S.pneumoniae*, так и одновременно сохраняя активность в отношении грамотрицательных патогенов. Кроме того, левофлоксацин применяется один раз в сутки, что значительно повышает комплаентность больных к терапии.

В нашей работе левофлоксацин применялся у двух групп больных (всего 38 пациентов) с ин-

фекцией различной локализации (см. табл. 1). Положительные результаты лечения наблюдались у 29 больных, что составило 76,3%. В 4 (10,5%) клинических наблюдениях регресс клинической симптоматики наступал значительно позже, что определялось умеренной чувствительностью *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* к левофлоксацину. У 3 (8%) пациентов терапия левофлоксацином оказалась безуспешной: выделенные из биоматериала возбудители (*Bulkkholderia cepacia*, *Acinetobacter* spp.) оказались резистентными к левофлоксацину. Улучшение же состояния этих пациентов объясняется включением в терапию полиоксидония и внутривенного иммуноглобулина — пентаглобина, которые, активируя каскад иммунных реакций, способствовали опсонизации инфекционных очагов и элиминации бактериальных агентов и их метаболитов.

Следует подчеркнуть, что в нашем исследовании при парентеральном введении левофлоксацина (Леволета Р) ни у одного из 38 больных ни со стороны желудочно-кишечного тракта, ни со стороны гемограммы и биохимических показателей крови не наблюдалось нежелательных эффектов.

Подводя итог, можно сказать, что левофлоксацин является перспективным антибиотиком в лечении инфекций различной локализации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению профилактике (пособие для врачей). М.: 2010; 105.
2. Белобородов В.Б. Современные принципы применения левофлоксацина в лечении инфекций кожи и мягких тканей. Consil med 2009; 1: 38—42.
3. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет — диагностика, лечение, профилактика. Медицинское информационное агентство. М.: 2011; 196—467.
4. Савельев В.С., Кошкин В.М., Каралкин А.В. Патогенез и консервативное лечение тяжёлых стадий облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. Медицинское информационное агентство. М.: 2010; С. 32—41.
5. Lode H. Treatment of hospitalized patients with pneumonia: levofloxacin and other treatment options. Chemotherapie J 2007; 16: 41—48.
6. Соколова В.И., Орлов В.А., Смирнова Л.Б. Фторхинолоны в клинической практике (учебное пособие). 2010; 27.
7. Hiroshi Mukae et al. Efficacy and safety of levofloxacin in patients with bacterial pneumonia evaluated according to the new «Clinical evaluation methods for new antimicrobial agents to treat respiratory infections». Abstract. J Infect Chemother 2014; 20: 7: 417—422.
8. Ладейская Е.Н. Фармакокинетика левофлоксацина как основа режима дозирования и оптимизация схем. Кач клин практ 2005; 2: 55—68.
9. Соколова В.И., Санадзе А.Г., Сычев Д.А., Бабарина М.Б., Зайков Д.А. Основные принципы лечения бронхолёгочной инфекции у больных миастенией. Антибиотики и химиотер 2014; 59: 1—2: 20—23.

Современные отечественные этиотропные противогриппозные препараты

Ф. И. ЕРШОВ, В. В. ПОЛОСКОВ

Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России

Modern Russian Etiotropic Antiinfluenza Drugs

F. I. ERSHOV, V. V. POLOSKOV

N. F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

В обзоре рассматриваются две основные группы отечественных этиотропных препаратов, рекомендованных Минздравом РФ, для профилактики и терапии гриппа: химиопрепараты, «мишенью» которых являются различные этапы репродукции вирусов гриппа, и интерфероны и их индукторы, «включающие» механизмы врождённого иммунитета.

Ключевые слова: *противогриппозные препараты, химиопрепараты, интерфероны.*

Two main groups of the Russian etiotropic drugs recommended by the Ministry of Health of the Russian Federation for prophylaxis or treatment of influenza are described in the review, i.e. chemotherapeutics whose targets are various stages of the influenza virus reproduction and interferons and their inductors engaging innate immunity patterns.

Key words: *antiinfluenza drugs, chemotherapeutics, interferons.*

За 80 лет, прошедших со времени открытия вирусов гриппа, детально изучены основные особенности их репродукции, закономерности изменчивости, патогенез гриппозной инфекции и реакции врождённого и адаптивного иммунитета. Параллельно здравоохранением разработана и ежегодно осуществляется система мероприятий по борьбе с гриппом, включающая вакцинацию, противоэпидемические мероприятия в очагах инфекции, экстренную профилактику и раннюю терапию сезонных подъёмов заболеваемости, помощь на дому, госпитализацию по клиническим показаниям и т. п.

Продолжает постоянно увеличиваться арсенал противогриппозных средств, охватывающий практически все возможные способы влияния на инфекционный процесс. Наряду с препаратами этиотропного действия, при гриппе широко используются средства иммунокорригирующей, патогенетической и симптоматической терапии. Сюда же следует отнести антибиотики, применяемые для лечения постгриппозных бактериальных осложнений.

Применение всего комплекса названных мероприятий в сотни раз снизило заболеваемость гриппом, что хорошо видно при анализе уровня смертности при глобальных пандемиях (табл. 1).

Тем не менее до сих пор ежегодные эпидемии гриппа продолжают оставаться недостаточно контролируемые. Причинами подобной ситуации является высокая контагиозность вирусов, скорость их распространения, массовость поражения, полиэтиологичность возбудителей, смешанный характер инфекций, выраженная изменчивость антигенных свойств вирусов, быстро развивающаяся резистентность к препаратам, нерациональная фармакотерапия и т.д.

В настоящем обзоре рассмотрен современный арсенал отечественных этиотропных лекарственных средств, включающий: (1) препараты контролирующие отдельные этапы цикла репродукции вирусов (химиопрепараты), (2) препараты «включающие» механизмы врождённого иммунитета (интерфероны и их индукторы) [1].

Химиопрепараты

В настоящее время из препаратов этой группы наиболее широко применяются ремантадин, амидол, ингавирин и рибавирин.

Таблица 1. Смертность от пандемий гриппа

Пандемии	Подтип	Погибло (млн человек)
1889 — русский	H3N(?)	6 ?
1918 — «испанка»	H1N1	40
1957 — азиатский	H3N2	4
1968 — гонконгский	H3N2	2
1977 — СССР	H1N1	0,5-0,6
2009 — свиной	H1N1	0,25

© Ф. И. Ершов, В. В. Полосков, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: en-vladislav@yandex.ru

Ремантадин (альфа-метил-1-адамантанметиламин) относится к препаратам строго направленного действия на вирусспецифическую мишень, локализованную в трансмембранной области мионного поверхностного белка М2 вирусов гриппа типа А. Вследствие подавления Ремантадином активности ионного канала вируса гриппа, останавливается поток протонов через мембраны вирионов и эндосом. В результате нарушается процесс диссоциации белка М1 (основного матриксного протеина) и не происходит высвобождения нуклеокапсида и, следовательно, его транскрипционной активности [1–4, 6].

Опыт массового применения препарата в течение более 30 лет показал его эффективность, особенно при сезонной профилактике (до 90% защиты), а также для терапии при назначении в первые дни заболевания. Однако высокая токсичность и быстрое развитие устойчивости вирусов к ремантадину ограничивают сферу его применения.

На основе ремантадина созданы новые препараты — **ОрвиРем, Альгирем и Полирем.**

Арбидол (этилового эфира 6-бром-5-гидрокси-1-метил-4-диметиламинометил-2-фенилтиометилин-дол-3-карбоновой кислоты гидрохлоридмоногидрат). Специфический шаперон гемагглютинаина, ингибирует слияние липидной оболочки вирусов гриппа с мембранами эпителиальных клеток, тем самым препятствуя проникновению вирусов в клетку. Обладает иммуностропным и антиоксидантным действием. Препарат повышает устойчивость организма к возбудителям гриппа А и В [2, 4].

При использовании Арбидола (с целью профилактики) количество болеющих гриппом уменьшается в 1,4 раза. Важным аспектом эффективности Арбидола является снижение в 1,7 раза частоты эпизодов гриппа у больных с хронической патологией дыхательных путей. Снижаются в 3–4 раза постгриппозные осложнения и сокращается длительность течения гриппа [1, 2, 5, 7–9].

Ингавирин (2-(имидазол-4-ил)-этанамид пентандиовой-1,5 кислоты). Механизм действия связан с подавлением репродукции вируса на ядерном этапе, что приводит к задержке миграции вновь синтезированного NP вируса из цитоплазмы в ядро [9].

Ингавирин оказывает модулирующее действие на функциональную активность системы интерферона (ИФН): вызывает повышение содержания ИФН-альфа в крови до физиологической нормы, стимулирует и нормализует сниженную продукцию ИФН-гамма. Стимулирует активность цитотоксических лимфоцитов и повышает содержание НК-клеток, обладающих высокой киллерной активностью по отношению к трансформированным вирусами клеткам [11, 12].

Противовирусное действие препарата обусловлено подавлением продукции ключевых про-

воспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли, интерлейкинов-1 β и 6), а также снижением активности миелопероксидазы [12].

Терапевтическая эффективность ингавирина при гриппе проявляется в укорочении периода лихорадки, уменьшении интоксикации (головная боль, слабость, головокружение), катаральных явлений, снижении числа осложнений и длительности заболевания в целом [3, 5, 10, 13–15].

Рибавирин (рибамидил) — 1-бета-D-рибофуранозил-1Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамид — относится к классу ингибиторов протеаз. Проходя через клеточные мембраны рибавирин метаболизируется, превращаясь последовательно в ди- и трифосфаты. Являясь конкурентным ингибитором инозинмонофосфатадегидрогеназы, он тормозит синтез вирусных РНК. Неплохие результаты были получены при лечении рибавирином гриппозной пневмонии. Однако препарат обладает токсичностью и недостаточно изученным механизмом действия, что ограничивают его использование в клинической практике [6].

Интерфероны

ИФН 1-го типа (альфа) являются значимой составляющей комплексной терапии и профилактики гриппа. Особенно велика роль ИФН для защиты групп риска (дети, лица пожилого возраста, медработники). Препараты ИФН подавляют репродукцию вирусов, способствуют апоптозу инфицированных клеток, и защищают незараженные клетки от инфицирования. Биодоступность интерферонов достигает 80%, а период полувыведения для ИФН- α он составляет около 2 ч, для ИФН- β — 8–10 ч, а для ИФН- γ — 0,5 ч.

Как известно, универсальной мишенью для ИФН является вирусные информационные РНК, трансляция которых блокируется индуцированными ИФН ферментами: олигоденилатсинтезазами, протеинкиназами, латентными эндонуклеазами [1, 3, 16, 17]. Кроме того, ИФН потенцируют апоптоз инфицированных клеток, не давая сформироваться многочисленному вирусному потомству.

ИФН используются как средство неспецифической профилактики, а также для лечения гриппа в первые дни заболевания. В настоящее время используются следующие отечественные препараты ИФН: **реаферон, реалдирон, роферон А, человеческий лейкоцитарный ИФН.** Указанные препараты применяются интраназально, внутримышечно, а также в виде аэрозолей и свечей.

У больных, получавших интерфероны, отмечено сокращение длительности лихорадочного периода, уменьшение синдромов ларингита, трахеита, бронхита, по сравнению с больными, получавшими только традиционную терапию.

Кроме моновалентных препаратов ИФН, созданы комбинированные препараты, в состав которых, помимо ИФН, входят дополнительные компоненты, улучшающие их фармакодинамику и повышающие эффективность. Так, в состав Виферона входят, помимо рекомбинантного альфа-ИФН, витамины Е и С. Применяется в виде ректальных суппозиторий, мази и геля у беременных, детей и взрослых [1, 3].

В состав препарата Гриппферон входят рекомбинантный ИФН, поливинилпирролидон, полиэтиленоксид и трилон Б. Применяется в виде капель в нос у детей и взрослых.

ИФН 2-го типа (гамма) — важнейший фактор регуляции и контроля клеточного иммунитета. В настоящее время, когда отечественный ИФН-гамма («Ингарон») стал доступен практическому здравоохранению, его применение серьёзно повышает надёжность и эффективность профилактических мероприятий и лечения тяжёлых форм гриппа [3].

Препарат впервые был успешно испытан при пандемии гриппа А(Н1N1) 2009—2010 гг. В исследованиях, проведённых в НИИ гриппа, было показано, что ИФН-гамма проявляет выраженную противовирусную активность в отношении различных штаммов вируса гриппа (в том числе и вирусов гриппа птиц и свиней).

При детальном рассмотрении механизмов естественной противовирусной защиты установлено, что 1-й и 2-й уровни защиты организма последовательно (тандемно) контролируются ИФН 1-го и 2-го типа. При блокаде вирусами гриппа функций интерферонов 1-го типа решающее значение приобретает ИФН-гамма, обеспечивающий активацию НК-клеток и организующий специфический цитотоксический противовирусный иммунитет.

Показана перспективность комбинированного использования двух основных классов ИФН (альфа и гамма) при лечении гриппа. Комплексное применение этих препаратов ИФН способствуют локализации процесса в верхних дыхательных путях, снижая распространение вируса в нижние отделы лёгких. Это приводит к ослаблению тяжести течения инфекционного процесса, укорачивает время заболевания и предотвращает развитие осложнений [1, 3, 15].

Индукторы интерферона (ИИ)

В результате многолетнего целенаправленного скрининга отечественным исследователям удалось создать группу оригинальных препаратов, «включающих» синтез эндогенного ИФН и названных «индукторами интерферона» (ИИ). Эти препараты имеют высокий химиотерапевтический индекс и пригодны для профилактики и

лечения гриппа [1, 3, 15]. В отличие от экзогенных ИФН, применение ИИ не требует многократного введения, они не обладают антигенностью, у них отсутствуют побочные эффекты, свойственные препаратам ИФН и, наконец, некоторые индукторы ИФН обладают уникальной способностью «включать» синтез ИФН в определённых популяциях клеток и органах, что в ряде случаев имеет определённые преимущества перед поликлональной стимуляцией иммуноцитов экзогенными ИФН [18]. Для ИИ характерен достаточно длительный противовирусный эффект, высокий химиотерапевтический индекс, низкая токсичность и высокая биодоступность. Кроме того, хорошо сочетаются с химиопрепаратами, антибиотиками, иммуномодуляторами, препаратами ИФН и др. Целесообразно использовать ИИ с первых часов заболевания и до 3-го дня болезни, а также в период реконвалесценции [16].

При введении в организм ИИ вызывают стимуляцию пролиферации и дифференцировки клеток, синтез мембранных рецепторов, а также активацию антителообразующих В-клеток, естественных киллеров, цитотоксических лимфоцитов и др. иммуноцитов. Действие ИИ осуществляется в комплексе с другими цитокинами, а также совместно с гормонами и нейромедиаторами.

В настоящее время при гриппе наиболее широко применяются три ИИ — **кагоцел, циклоферон и амиксин**.

Амиксин (2,7-Бис-(2-диэтиламино)этокси)-9Н-флуорен-9-ОН. Первый пероральный низкомолекулярный ИИ. Способен длительно поддерживать циркуляцию в крови ИФН и других цитокинов на терапевтических уровнях [18].

Применение амиксина при гриппе снижает длительность лихорадки, интенсивность интоксикации и головную боль. Катаральные явления проходят в 2 раза, а насморк — в 3 раза быстрее по сравнению с контрольной группой [3, 4, 15, 16].

К достоинствам Амиксина относится снижение частоты постгриппозных осложнений. Так, развитие пневмоний наблюдается в 3,4 раза, бронхита — в 1,75 раза, а пиелонефрита — в 1,5 раза реже, чем в контрольной группе больных. Отиты, гаймориты и тонзиллиты, наблюдаемые, как правило, в контрольной группе, не отмечались в группе больных, получавших амиксин по лечебной схеме.

Циклоферон (метилглюкаминная соль карбоксиметиленакридона) — синтетический аналог природного алкалоида. Подобно амиксину относится к низкомолекулярным ИИ.

Циклоферон активирует систему ИФН, фагоцитоз, активность естественных киллеров и цитотоксических Т-клеток [18].

Как средство экстренной неспецифической профилактики гриппа в период неустойчивой

Таблица 2. Основные отечественные препараты для лечения и профилактики гриппа

Группа препаратов	Коммерческое название	Механизм действия	Эффективность применения в отношении чувствительных штаммов вируса
Химиопрепараты	Ремантадин	Блокатор ионного канала белка М2	Для чувствительных штаммов — высокая
	Арбидол	Специфический шаперон гемагглютинина	Средняя
	Ингавирин	Ингибитор ядерно-плазматического транспорта белка NP(RNP)	Относительно высокая
Интерфероны	Рибавирин (Виразол)	Ингибитор протеолиза	Средняя
	ИФН 1-го типа — альфа	Подавление транскрипции вирусной мРНК	Высокая профилактическая и лечебная на ранних стадиях заболевания
	ИФН 2-го типа — гамма	Индукция ИФН	Высокая эффективность
Индукторы интерферонов	Амиксин (Лавомакс)	Индукция ИФН	Высокая эффективность
	Кагоцел	Индукция ИФН	Высокая эффективность
	Циклоферон	Индукция ИФН	Высокая эффективность

эпидемической ситуации, препарат обеспечивает снижение частоты заболеваний, сокращает длительность временной нетрудоспособности [19].

Использование таблеток циклоферона в лечебных целях даёт возможность существенно ускорить процесс выздоровления, увеличить число лёгких форм гриппа, практически полностью предупредить развитие тяжёлых и осложнённых форм заболевания. Терапия циклофероном снижает на 2—3 дня длительность острых эпизодов заболевания, уменьшает частоту проявлений лимфоаденопатии, астенического синдрома и восстанавливает нормальную флору слизистых оболочек носа и зёва [3, 15, 16, 19].

Кагоцел — биологически активный полимер (БАП), является сополимером водорастворимой карбоксиметилцеллюлозы и низкомолекулярного природного полифенола — госсипола. Содержание госсипола в кагоцеле не превышает 3% и в свободном виде он не определяется.

Кагоцел вызывает образование в организме ИФН (альфа и гамма), а также индуцирует выработку ряда других цитокинов [18].

Профилактическое использование препарата снижает заболеваемость гриппом в 3 раза по сравнению с контрольной группой, т.к. вызывает длительную, до 120 ч циркуляцию ИФН в кровотоке.

Терапевтическое применение кагоцела приводит к быстрому исчезновению симптомов гриппа. Наиболее заметное воздействие кагоцел оказывал на проявление лихорадочных реакций. Уже через 24—36 ч после начала лечения температура тела нормализовалась у 70% взрослых боль-

ных, а к концу вторых суток — у 90% исследуемых больных. В то же время у больных, получавших плацебо, температура тела нормализовалась через 2 суток лишь у 25% и у большинства (60%), оставалась повышенной до 3—5 дня [1, 3, 15, 16].

Сходную динамику отметили и в отношении признаков интоксикации (головная боль, головокружение) и более быстрая регрессия воспалительных изменений в ротоглотке [1, 16].

Заключение

В целом, современный арсенал отечественных этиотропных препаратов для профилактики и лечения гриппа суммирован в табл. 2. Указанные в таблице препараты включены в Методические рекомендации Минздрава Российской Федерации, опубликованные в 2014 г. [20].

Как следует из представленных выше данных, указанные препараты отличаются разнообразием и контролирует всё основные этапы репродукции вирусов гриппа (от адсорбции до выхода вирионов потомства).

Рациональная фармакотерапия гриппа и других ОРВИ должна базироваться на комбинированном алгоритме использования обширного арсенала этиотропных, иммуномодулирующих, патогенетических и симптоматических лекарственных средств.

Учитывая накопленные клинические данные, есть всё основания полагать, что рассмотренные выше препараты сохраняют свою значимость в обозримом будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еришов Ф.И. Антивирусные препараты М.: 2006; 15: 237—239; 240: 241—243.
2. Федякина И.Т., Шелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Ленева И.А., Гудова Н.В., Кондратьева Т.В., Львов Д.К. Изучение чувствительности пандемических вирусов гриппа А 2009 H1N1 и высококовирулентных вирусов гриппа птиц А (H5N1) к противогриппозным химиопрепаратам. Антибиотики и химиотерапия 2011; 56: 3—4: 3—9.
3. Киселев О.И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. СПб.: Росток: 2012; 42, 44—46, 47, 63, 104—111, 136—143.
4. Ленева И.А., Федякина И.Т., Еропкин М.Ю., Гудова Н.В., Романовская А.А., Даниленко Д.М., Виноградова С.М., Лепешкин А.Ю., Шестопалов А.М. Изучение противовирусной активности отечественных противогриппозных химиопрепаратов в культуре клеток и на животных. Вopr вирусол 2010; 55: 3: 19—27.
5. Киселев О.И., Деева Э.Г., Слита А.В., Платонов В.Г. Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. Дизайн препаратов на основе полимерных носителей. СПб.: Информационно-аналитический центр «Время», 2000; 132.
6. Смирнова Т.Д., Даниленко Д.М., Еропкин М.Ю., Деева Э.Г., Киселев О.И. Изучение влияния ремантадина, рибавирина и триаза-

- вирина на репродукцию вирусов гриппа А в монослойных и лимфобластоидных клеточных линиях человеческого происхождения. Антибиотики и химиотер 2011; 56: 11—12: 11—16.
7. *Беляев А.А., Бурцева Е.И., Слепушкин А.Н. и др.* Арбидол — новое средство для профилактики гриппа и острых респираторных вирусных инфекций у детей. Вестник РАМН 1996; 8: 34—37.
 8. *Boriskin Y.S., Leneva I.A., Pecheur E.I., Polyak S.J.* Arbidol: broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. *Curr Med Chem* 2008; 15: 1—9.
 9. *Киселев О.И., Цыбалова Л.М., Покровский В.И.* Грипп: эпидемиология, диагностика, лечение, профилактика. Медицинское информационное агентство Москва 2012; 323—324: 337—338: 344.
 10. *Соловьева О.Г.* Опыт использования противовирусного препарата ингавирин в лечении осложнённых форм гриппа и ОРВИ. Пульмонология 2012; 5: 62—67.
 11. *Шульдяков А.А., Ляпина Е.П., Кузнецов В.И., Ерофеева М.К., Позднякова М.Г., Максакова В.Л., Котова О.С., Шелехова С.Е., Бузичкая Ж.В., Амосова И.В., Гиль А.Ю.* Клинико-эпидемиологическая эффективность противовирусного препарата ингавирин. Пульмонология 2012; 4: 62—69.
 12. *Оспельникова Т.П., Слита А.В., Полосков В.В., Андреева С.А.* Синтез цитокинов при гриппозной инфекции и эффект этиотропных противовирусных препаратов. Цитокин и восп 2014; 13: 1: 114—115.
 13. *Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Шелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Исаева Е.И., Малышев Н.А., Львов Д.К.* Эффективность ингавирина при лечении гриппа у взрослых. Клин инфектол паразитол 2013; 4: 45—51.
 14. *Логинова С.Я., Борисевич С.В., Лыков М.В. и др.* Изучение эффективности Ингавирина *in vitro* в отношении «мексиканского» пандемического подтипа H1N1 вируса гриппа А, штаммы A/California/04/2009 и A/California/07/2009. Антибиотики и химиотер 2009; 54: 3—4: 15—17.
 15. *Киселев О.И., Ершов Ф.И., Быков А.Т., Покровский В.И.* Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения. СПб.; М.; Сочи: А-Принт, 2010; 46—57: 64—65, 97.
 16. *Ершов Ф.И., Киселев О.И.* Интерфероны и их индукторы. 2005; 211—227.
 17. *Оспельникова Т.П.* Роль интерферонов при гриппе и генитальном герпесе. *Вопр вирусол* 2013; 58: 5, 4—9.
 18. *Оспельникова Т.П., Миронова Т.В., Полосков В.В., Гариб Ф.Ю., Ершов Ф.И.* Влияние индукторов интерферона на цитокиновый профиль. Цитокин и восп 2014; 13: 1: 37—40.
 19. *Терёшин В.А., Соцкая Я.А., Круглова О.В.* Эффективность циклоферона при лечении и профилактике гриппа и ОРВИ у детей и подростков. *Росс вест перинатол педиатр* 2014; 59: 2: 103—108.
 20. *Киселев О.И., Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Сологуб Т.В., Цыбалова Л.М., Деева Э.Г., Цветков В.В., Попов А.Ф., Лебедев В.В., Тихонова Е.П.* Грипп у взрослых: методические рекомендации по диагностике, лечению, специфической и неспецифической профилактике. СПб.: 2014; 46—48.

ВИРУСЫ ПРОТИВ БАКТЕРИЙ — НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ФАГОВОЙ ТЕРАПИИ КАК ОРУЖИЮ ПРОТИВ ПАТОГЕНОВ С МУЛЬТИЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ. ОБЗОР.

VIRUSES VERSUS BACTERIA—NOVEL APPROACHES TO PHAGE THERAPY AS A TOOL AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT PATHOGENS / T. M. VIERTTEL, K. RITTER, H. -P. HORZ* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 9: 2326—2336.

Бактериофаговая терапия (использование фагов для лечения бактериальных инфекций) имеет почти вековую историю, но интерес к фагам на Западе упал после открытия антибиотиков. В связи с возникновением угрозы со стороны инфекций, вызванных бактериями с мультилекарственной устойчивостью, и неопределёнными перспективами внедрения новых антибиотиков в будущем фаги вновь рассматриваются как альтернативные лекарственные средства. Традиционная фаговая терапия использует литические бактериофаги, и последние клинические испытания показали обнадеживающие результаты. Современные подходы к фаговой терапии были разработаны *in vitro* и на животных моделях. Комбинированная терапия «фаги + антибиотики» значительно снижала бактериальную нагрузку патогенов. Биоинженерные фаги решили многие проблемы традиционной фаговой терапии, как-то адресную доставку лекарств и обратимость лекарственной устойчивости бактерий. Использование ферментов, полученных из фагов, таких как эндолизин, эффективно при элиминации грамположительных патогенов. В обзоре представлены новые стратегии в фаговой терапии, даны современные сведения о бактериофагах микробиоты человека. Задача обзора — дать общее представление о большом числе различных методологических концепций, чтобы стимулировать исследования в актуальной области использования фагов как лечебных и профилактических средств в повседневной клинической практике.

* Division of Virology, Institute of Medical Microbiology, RWTH Aachen University Hospital, Pauwelsstrasse 30, D-52074 Aachen, Germany.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦЕФТОЛОЗАНА-ТАЗОБАКТАМА В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И ENTEROBACTERIACEAE С РАЗЛИЧНЫМИ МЕХАНИЗМАМИ УСТОЙЧИВОСТИ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ЕВРОПЕЙСКИХ БОЛЬНИЦАХ В 2011—2012 ГГ.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CEFTOLOZANE/TAZOBACTAM TESTED

AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AND ENTEROBACTERIACEAE WITH VARIOUS RESISTANCE PATTERNS ISOLATED IN EUROPEAN HOSPITALS (2011—12) / H. S. SADER*, D. J. FARRELL, M. CASTANHEIRA, R. K. FLAMM, R. N. JONES // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 10: 2713—2722.

Оценивали *in vitro* активность цефтолозана-тазобактама и антибиотиков сравнения в отношении современных грамотрицательных бактерий. Комбинация цефтолозан-тазобактам представляет сочетание антипсевдомонадного цефалоспорины с хорошо известным ингибитором бета-лактамаз. Всего было протестировано 10 532 грамотрицательных микроорганизма (2191 *Pseudomonas aeruginosa* и 8341 Enterobacteriaceae), выделенных в 31 медицинском центре в 13 европейских странах, а также в Турции и Израиле. Чувствительность микроорганизмов была определена методом микроразведений в бульоне по методологии CLSI M07-A9, и результаты интерпретированы согласно EUCAST и критериям пограничных концентраций CLSI. У отдельных штаммов *P.aeruginosa*, устойчивых к цефтазидиму и/или меропенему, с помощью ПЦР было проверено наличие бета-лактамазных генов. Штаммы *P.aeruginosa* продемонстрировали высокий уровень мультилекарственной устойчивости (31,9%) и экстенсивной лекарственной устойчивости (24,6%), 11,6% штаммов были чувствительны только к колистину. Цефтолозан-тазобактам в отношении *P.aeruginosa* (МПК₅₀, 1 мг/л) был более, чем в 4 раза активнее цефтазидима (МПК₅₀, 4 мг/л) и подавлял >90% штаммов с МПК ≤8 мг/л, выделенных в 9 странах. Самые высокие уровни чувствительности к цефтазидиму и меропенему были равны соответственно 86,0%/86,0% (Великобритания) и 85,2%/86,1% (Ирландия), (67,2%/67,1% в целом). Цефтолозан-тазобактам (МПК_{50/90}, 0,25/2 мг/л; подавлял 93,7% и 95,2% при ≤4 и ≤8 мг/л соответственно), меропенем [МПК_{50/90}, ≤0,06/≤0,06 мг/л; 98,0% чувствительность (EUCAST)] и тигециклин [МПК_{50/90}, 0,12/1 мг/л; 94,1% чувствительность (EUCAST)] были самыми активными антибиотиками в отношении испытанных штаммов Enterobacteriaceae. Таким образом, цефтолозан-тазобактам был самым активным бета-лактамым антибиотиком в отношении *P.aeruginosa* и показал более высокую *in vitro* активность в отношении Enterobacteriaceae, чем используемые цефалоспорины и пиперациллин-тазобактам.

* JMI Laboratories, North Liberty, IA 52317, USA.

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ, ОТСУТСТВИЕ ВЛИЯНИЯ СЫВОРОТКИ И КИНЕТИКА БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЦЕФТАЗИДИМА-

**АВИБАКТАМ В ОТНОШЕНИИ ПРОДУЦИРУЮЩИХ
БЕТА-ЛАКТАМАЗУ ENTEROBACTERIACEAE
И PSEUDOMONAS AERUGINOSA.**

**BACTERICIDAL ACTIVITY, ABSENCE OF SERUM EFFECT,
AND TIME-KILL KINETICS OF CEFTAZIDIME-
AVIBACTAM AGAINST β -LACTAMASE-PRODUCING
ENTEROBACTERIACEAE AND PSEUDOMONAS
AERUGINOSA / T. R. KEEPERS*, M. GOMEZ, C. CELERI,
W. W. NICHOLS, K. M. KRAUSE // ANTIMICROBIAL
AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2014;
58: 9: 5297—5305.**

Авибактам, ингибитор бета-лактамаз не бета-лактамной природы, активен в отношении бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), КРС, AmpC и некоторых ОХА ферментов и увеличивает спектр антибактериальной активности цефтазидима за счёт включения в него устойчивых к цефтазидиму микроорганизмов, продуцирующих данные ферменты. В данном исследовании определяли бактерицидную активность цефтазидима-авибактама (Ц-А) в отношении 18 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и 15 штаммов Enterobacteriaceae, включая штаммы дикого типа и продуценты ESBL, КРС и/или AmpC. Значения МПК Ц-А (от 0,016 до 32 мкг/мл) были ниже значений одного цефтазидима (от 0,06 до ≥ 256 мкг/мл) для всех штаммов, за исключением 2 штаммов *P. aeruginosa* (1 *bla*_{VIM}-положительный штамм и 1 *bla*_{OXA-23}-положительный штамм). Соотношения минимальная бактерицидная концентрация/МПК Ц-А были ≤ 4 для всех штаммов, что свидетельствовало о бактерицидном характере действия комбинации. Сыворотка и альбумин сыворотки человека оказывали минимальное влияние на значения МПК Ц-А. Кинетика бактерицидного действия (time-kill) Ц-А, оцененная при введении многократных низких значений МПК, показала зависимое от времени снижение числа КОЕ/мл в период 0—6 ч у всех протестированных штаммов. У всех штаммов Enterobacteriaceae на 6 ч наблюдалось снижение числа КОЕ/мл на ≥ 3 -log₁₀, а у 3 из 6 штаммов *P. aeruginosa* на 6 ч. снижение составило 2-log₁₀. В «time-kill» исследованиях на 24 ч наблюдался вторичный рост некоторых штаммов. Полученные данные демонстрируют высокую бактерицидную активность Ц-А и говорят в пользу продолжения клинических испытаний Ц-А в качестве нового препарата выбора при лечении инфекций, вызванных Enterobacteriaceae и *P. aeruginosa*, в т. ч. штаммами, механизм устойчивости которых к цефтазидиму обусловлен продуцированием чувствительных к авибактаму бета-лактамаз.

* Cerexa, Inc., Oakland, Massachusetts, USA.

**АВИБАКТАМ И БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ КЛАССА С:
МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ, СОХРАНЕНИЕ
СВЯЗЫВАЮЩЕГО «КАРМАНА»
И РОЛЬ В УСТОЙЧИВОСТИ.**

**AVIBACTAM AND CLASS C β -LACTAMASES:
MECHANISM OF INHIBITION, CONSERVATION
OF THE BINDING POCKET, AND IMPLICATIONS
FOR RESISTANCE / S. D. LAHIRI*, M. R. JOHNSTONE,
P. L. ROSS, R. E. MCLAUGHLIN, N. B. OLIVIER,
R. A. ALM // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY OCTOBER 2014;
58: 10: 5704—5713.**

Авибактам — новый не беталактамный ингибитор широкого круга бета-лактамаз, включающий ферменты классов А, С и некоторые класса D, благодаря которым такие патогены с мультилекарственной устойчивостью, как *Pseudomonas aeruginosa* и Enterobacteriaceae spp., инактивируют бета-лактамы антибиотиков. В настоящее время авибактам проходит клинические испытания в комбинациях с цефтазидимом, цефтаролина фосфамиллом и азтреонамом. Авибактам может стать первым ингибитором бета-лактамаз, который обеспечит активность беталактамов при устойчивости, опосредованной ферментами класса С и представляющей нарастающую проблему как при госпитальных, так и внебольничных инфекциях. У авибактама необычный механизм действия: он является ковалентным ингибитором, действующим посредством раскрытия кольца, но в противоположность другим используемым ингибиторам бета-лактамаз эта реакция обратима. Представлена тонкая структура связи авибактама с бета-лактамазой класса С, AmpC *P. aeruginosa*, которая даёт представление о механизме ацилирования и рециклизации ферментов этого класса и различиях ингибирования между классами А и С. Были выделены варианты, устойчивые к авибактаму, чтобы идентифицировать радикалы, значимые для ингибирования. И, наконец, информация о структуре была использована для прогнозирования эффективного ингибирования посредством анализа последовательности и функциональных исследований бета-лактамаз класса С из многочисленной и разнообразной коллекции современных клинических штаммов (*P. aeruginosa* и некоторых Enterobacteriaceae spp.), выделенных в текущий период времени, чтобы понять влияние каких-либо предшествующих изменений связывающего «кармана» на ингибирование авибактамом.

* Infection Innovative Medicines, AstraZeneca R&D Boston, Boston, Massachusetts, USA.

**КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИЙ,
ОБУСЛОВЛЕННЫХ УСТОЙЧИВОСТИ**

К КАРБАПЕНЕМАМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ.

COMBINATION THERAPY FOR CARBAPENEM-RESISTANT GRAM-NEGATIVE BACTERIA /M. PAUL*, Y. CARMELI, E. DURANTE-MANGONI, J. W. MOUTON, E. TACCONELLI, U. THEURETZBACHER, C. MUSSINI, L. LEIBOVICI // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 9: 2305—2309.

Устойчивые к карбапенемам грамотрицательные бактерии (УК-ГОВ) представляют возрастающую угрозу в учреждениях здравоохранения. Главный вопрос, касающийся лечения вызванных УК-ГОВ инвазивных инфекций, заключается в применении комбинированной терапии. Потенциальные преимущества комбинированной терапии состоят в повышенной эффективности, обусловленной синергизмом, к недостаткам относятся побочные реакции и увеличенное потребление антибиотиков, способное привести к развитию устойчивости. Было выполнено несколько наблюдательных исследований для определения, есть ли преимущества комбинированной терапии над монотерапией колистин/полимиксин. Свойственные таким работам ограничения, по мнению авторов, состоят в наблюдательном дизайне и недостаточном объёме, что не даёт оснований ответить на поставленный вопрос. Отличительные особенности комбинированной и монотерапии важны при управлении клинической практикой до тех пор, пока не будут получены доказательная база и право набора пациентов для рандомизированных контролируемых испытаний (РКИ). В настоящее время выполнены и продолжаются несколько РКИ, проверяющих специфические комбинации антибиотиков. Но к настоящему времени, однако, нет доказательно обоснованных аргументов, поддерживающих большинство комбинированных, включая колистин/карбапенемы, схем терапии инфекций, вызванных УК-ГОВ.

* Division of Infectious Diseases, Rambam Health Care Campus and the Ruth and Bruce Rappaport Faculty of Medicine, Technion — Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

АКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИИ КОЛИСТИНА И ДОРИПЕНЕМА В КЛИНИЧЕСКИ РЕЛЕВАНТНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ В ОТНОШЕНИИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ НА *IN VITRO* ДИНАМИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ БИОПЛЁНКИ.

ACTIVITY OF COLISTIN COMBINED WITH DORIPENEM AT CLINICALLY RELEVANT CONCENTRATIONS AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT *PSEUDOMONAS*

***AERUGINOSA* IN AN *IN VITRO* DYNAMIC BIOFILM MODEL / J. LORA-TAMAYO, O. MURILLO, P. J. BERGEN, R. L. NATION, A. POUDYAL, X. LUO, H. Y. YU, J. ARIZA, J. LI* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 9: 2434—2442.**

Комбинированная терапия с колистином может быть необходима при лечении инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок. Оценивали бактерицидность в отношении планктонных и заключённых в биоплёнку клеток *Pseudomonas aeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) и развитие у них устойчивости к колистину при использовании комбинации колистин-дорибенем. На динамической модели биоплёнки в реакторе CDC изучали в течение 72 ч один колистиночувствительный референс-штамм (PAO1) и два колистиночувствительных MDR клинических штамма (HUB1 и HUB2; оба устойчивы к карбапенемам) в двух режимах колистина (постоянные концентрации 1,25 и 3,50 мг/л) и одном режиме дорибенема (C_{max} 25 мг/л каждые 8 ч), а также при их комбинации. Микробиологический ответ определяли по изменению log и абсолютному количеству бактерий. Бактерицидная активность в отношении клеток, заключённых в биоплёнку, наблюдалась только при монотерапии колистином 3,50 мг/л. При монотерапии колистином появление устойчивости было отмечено у двух штаммов (PAO1 и HUB1) только при режиме 3,50 мг/л. Комбинация колистин 3,50 мг/л плюс дорибенем приводила к снижению на 2—3 log₁₀ КОЕ/см² у обоих клинических штаммов и оставалась синергидной на 72 ч. У бактерий, заключённых в биоплёнку, устойчивость к колистину не наблюдалась при любой комбинации антибиотиков. В отношении планктонных клеток при всех режимах монотерапии бактерицидная активность не была отмечена, хотя при комбинации дорибенема с колистином (3,50 мг/л) наблюдалась повышенная бактерицидная активность против всех штаммов. При монотерапии устойчивость к колистину развивалась у 2 штаммов, но не была установлена при комбинированной терапии. Таким образом, дорибенем усиливал бактерицидность колистина в отношении клеток биоплёнки у чувствительных и устойчивых к карбапенемам штаммов, а комбинация антибиотиков сводила к минимуму развитие устойчивости к колистину.

* Drug Delivery, Disposition and Dynamics, Monash Institute of Pharmaceutical Sciences, Monash University, Melbourne, Australia.

КОМБИНАЦИЯ ЛЕВОФЛОКСАЦИН-ЦЕФТРИАКСОН ОСЛАБЛЯЕТ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС В ЛЁГКИХ МЫШЕЙ НА МОДЕЛИ СЕПТИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИИ,

ОБУСЛОВЛЕННОЙ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ, ПОСРЕДСТВОМ ПОДАВЛЕНИЯ ЦИТОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПНЕВМОЛИЗИНА И АУТОЛИЗИНА.

LEVOFLOXACIN-CEFTRIAZONE COMBINATION ATTENUATES LUNG INFLAMMATION IN A MOUSE MODEL OF BACTEREMIC PNEUMONIA CAUSED BY MULTIDRUG-RESISTANT *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* VIA INHIBITION OF CYTOLYTIC ACTIVITIES OF PNEUMOLYSIN AND AUTOLYSIN / A. MAJHI, R. ADHIKARY, A. BHATTACHARYYA, S. MAHANTI, B. BISHAYI*// ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2014; 58: 9: 5164—5180.

Задачей исследования было определить, будет ли *in vitro* антимикробная комбинация подавлять *in vivo* гены вирулентности пневмококков и связанный с этим воспалительный процесс в лёгочной ткани мышей, индуцированный инфекцией *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, с тем, чтобы рассматривать этот режим терапии в случаях тяжёлой пневмококковой инфекции. Исследовали *in vivo* изменения экспрессии детерминант вирулентности, используя определённую ранее эффективную комбинацию. BALB/с мышей инфицировали 10⁶ КОЕ бактерий. Через 18 ч после инфицирования вводили в/в левофлоксацин 150 мг/кг и/или цефтриаксон 50 мг/кг. Через 24 ч после начала лечения в сыворотке и лёгких определяли уровень цитокинов, хемокинов, С-реактивного белка, а также уровень миелопероксидазы и окиси азота, количество воспалительных клеток в бронхолёгочной жидкости, изменения экспрессии генов пневмолизина и аутолизина и экспрессию белка COX-2 и индуцибельной нитрооксидсинтазы (iNOS) в лёгких. Комбинированная терапия подавляла воспалительный процесс и стимулировала бактериальный клиренс. Экспрессия пневмолизина и аутолизина также была подавлена с одновременным снижением в лёгочной ткани экспрессии COX-2 и iNOS. Таким образом, комбинация левофлоксацина и цефтриаксона может быть применена в терапии даже в случаях пневмонии, вызванной лекарственно устойчивыми штаммами.

* Department of Physiology, Immunology Laboratory, University of Calcutta, University Colleges of Science and Technology, Calcutta, West Bengal, India.

ПЕПТИДЫ С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ БИОПЛЁНОК УСИЛИВАЮТ АКТИВНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЁНОК.

A BROAD-SPECTRUM ANTIBIOFILM PEPTIDE ENHANCES ANTIBIOTIC ACTION AGAINST BACTERIAL BIOFILMS / F. REFFUVEILLE, C. DE LA FUENTE-NÚÑEZ, S. MANSOUR, R. E. W. HANCOCK*// ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2014; 58: 9: 5363—5371.

Инфекции, сопровождающиеся образованием биоплёнок, составляют до 65% всех инфекций человека, но антимикробных препаратов, специфически действующих на биоплёнки, нет. Это делает имеющиеся в распоряжении терапевтические стратегии неэффективными, поскольку клетки биоплёнки в 10—1000 раз устойчивее к используемым антибиотикам, чем планктонные клетки. Описаны синергидные взаимодействия антибиотиков различных классов с недавно охарактеризованным пептидом 1018, активным в отношении биоплёнок, с целью предотвращать и ликвидировать бактериальные биоплёнки, образуемые ESKAPE группой патогенов с мультилекарственной устойчивостью (MDR) (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter species*). Синергидный эффект комбинаций пептида 1018 с цефтазидимом, ципрофлоксацином, имипенемом и тобрамицином составлял 50%, а концентрация антибиотика, необходимая для обработки биоплёнки, образованной *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* и метициллиноустойчивым *Staphylococcus aureus*, снижалась в 2-64 раза. Более того, при исследовании клеток биоплёнки в проточных условиях комбинация субингибиторных концентраций пептида (0,8 мкг/мл) и ципрофлоксацина (40 мкг/мл) снижала рассеивание и вызывала гибель клеток в зрелых биоплёнках *P.aeruginosa*. В дополнение к этому, кратковременная обработка комбинацией пептида и ципрофлоксацина предотвращала образование биоплёнки и подавляла ранее образованные *P.aeruginosa* PA14 биоплёнки. ПЦР-исследования показали, что пептид подавляет экспрессию мишеней различных антибиотиков в клетках биоплёнки. Таким образом, обработка пептидом представляет новую стратегию усиления активности антибиотиков в отношении биоплёнок, образуемых MDR- патогенами.

* Centre for Microbial Diseases and Immunity Research, Department of Microbiology and Immunology, University of British Columbia, Vancouver, Canada.

ПРОИЗВОДНЫЕ РОДСТВЕННОГО КАТЕЛИЦИДИНУ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА (CRAMP) МЫШЕЙ

ПОДАВЛЯЮТ ОБРАЗОВАНИЕ ГРИБКОВЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЁНОК.

DERIVATIVES OF THE MOUSE CATHELICIDIN-RELATED ANTIMICROBIAL PEPTIDE (CRAMP) INHIBIT FUNGAL AND BACTERIAL BIOFILM FORMATION / K. DE BRUCKER, N. DELATTIN, S. ROBIJNS, H. STEENACKERS, N. VERSTRAETEN, B. LANDUYT, W. LUYTEN, L. SCHOOF, B. DOVGAN, M. FRÖHLICH, J. MICHELIS, J. VANDERLEYDEN, B. P. A. CAMMUE*, K. THEVISSSEN // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2014; 58: 9: 5395—5404.

В островках Лангеранса поджелудочной железы мышей была идентифицирована усечённая до 26 аминокислотных остатков форма родственного кателицидина, содержащего 34 остатка аминокислот, антимикробного пептида (CRAMP). Данный пептид, P318, был на 67% идентичен антимикробному пептиду человека LL-37. Поскольку LL-37 был активен в отношении микроорганизмов и биоплёнок, определяли противогрибковую и противоплёночную активность P318 на примере патогенного грибка *Candida albicans*. P318 демонстрировал особую активность в отношении биоплёнки *C.albicans*, подавляя её образование при 0,15 мкМ, не влияя на выживание планктонных клеток при той же концентрации. Далее была испытана ингибиторная активность в отношении биоплёнки *C.albicans* серии усечённых аланин-замещённых производных пептида P318. Основываясь на противоплёночной активности этих производных и длине пептидов, были синтезированы укороченные аланин-замещённые в положении-10 пептиды (AS10; KLKKIAQKIKNFFQKLVP). AS10 подавлял образование биоплёнки *C.albicans* при концентрации 0,22 мкМ, а в комбинации с амфотерицином В и каспофунгином действие на зрелые биоплёнки носило синергидный характер. AS10 также подавлял как образование биоплёнки различными бактериями, так грибки и бактерии в смешанной биоплёнке. AS10 не влиял на жизнеспособность и функционирование клеток различного типа, задействованных в остеоинтеграции импланта, что указывает на перспективность дальнейших исследований его в качестве основного пептида для обработки импланта.

* Centre for Microbial and Plant Genetics, CMPG, KU Leuven, Leuven, Belgium.

* Department of Plant Systems Biology, VIB, Ghent, Belgium.

СИНЕРГИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И АНТИБИОТИКОВ НА CLOSTRIDIUM DIFFICILE.

SYNERGISTIC EFFECTS OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES AND ANTIBIOTICS AGAINST CLOSTRIDIUM DIFFICILE/ S. NUDING, T. FRASCH, M. SCHALLER, E. F. STANGE, L. T. ZABEL* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY OCTOBER 2014; 58: 10: 5719—5725.

Растущий в учреждениях здравоохранения уровень инфекций, вызванных *Clostridium difficile*, наряду с увеличением рецидивов и показателя устойчивости к антибиотикам в последние годы становится серьёзной проблемой. Исследовали возможность увеличения антибактериальной активности при использовании комбинации антибиотиков с антимикробными пептидами (АмП) человека. Были изучены *in vitro* активности АмП HBD1 — HBD3, HNP1, HD5, и LL-37, и антибиотиков тигециклина, моксифлоксацина, пиперациллина-тазобактама и меропенема по отдельности и в комбинациях в отношении 10 токсикогенных и 10 нетоксикогенных штаммов *C.difficile*. Выживаемость бактерий определяли проточной цитометрией, образование токсина иммуносорбентным методом (ELISA). При комбинировании субингибиторных концентраций АмП и антибиотиков в целом наблюдали аддитивный бактерицидный эффект на токсикогенные и нетоксикогенные штаммы *C.difficile*. При испытании комбинаций LL-37 и HBD3 со всеми антибиотиками эффект был синергидным. Электронная микроскопия выявила пертурбацию мембран в клеточных стенках бактерий под действием HBD3. У 3 из 10 токсикогенных штаммов обработка HBD3, LL-37, пиперациллином-тазобактамом и меропенемом приводила к увеличенному выделению токсина, который не нейтрализовался при добавлении HNP1. АмП повышали бактерицидное действие антибиотиков в отношении *C.difficile* независимо от механизма действия антибиотика. Пертурбация мембран или образование пор усиливали проникновение антибиотиков внутрь клетки и повышали антибактериальный эффект. Итак, комбинация антибиотиков с АмП рассматривается как перспективный новый подход к лечению *C.difficile* инфекций.

* Institute of Laboratory Medicine, Alb Fils Kliniken, Göppingen, Germany.

ВНЕБОЛЬНИЧНЫЙ МЕТИЦИЛЛИНОУСТОЙЧИВЫЙ ШТАММ STAPHYLOCOCCUS AUREUS USA300 ПРОТИВОСТОИТ МОДУЛИРУЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ АНТИБИОТИКОВ И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ НА СТАФИЛОКОККОВЫЙ ПРОТЕИН А.

COMMUNITY-ACQUIRED METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAIN USA300 RESISTS STAPHYLOCOCCAL PROTEIN A MODULATION

BY ANTIBIOTICS AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES /
E. CARDOT MARTIN, A. MICHEL, B. RAYNAL,
C. BADIOU, F. LAURENT, F. VANDENESCH, J. ETIENNE,
G. LINA, O. DUMITRESCU* // INTERNATIONAL
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS.
В ПЕЧАТИ.

Внебольничный метициллиноустойчивый *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) вызывает тяжёлые заболевания из-за вирулентных факторов, таких как стафилококковый протеин А (SpA), который затрудняет иммунный отклик. Ранее было показано, что антимикробные пептиды (АмП) и антибиотики снижают экспрессию SpA в CA-MRSA штаммах. В данной работе было определено влияние антибиотиков и АмП, по отдельности и в комбинации, на экспрессию SpA у различных штаммов CA-MRSA. Были выбраны шесть штаммов *S. aureus*, относящихся к основным глобально распространённым CA-MRSA клонам (ST8-USA300, ST80 и ST30). Штаммы культивировали до экспоненциальной фазы роста и затем инкубировали с антибиотиками (тигециклин, линезолид, клиндамицин и ванкомицин) при 0,25×МПК или с АмП [нейтрофильные пептиды человека (HNP)-1-3] при LD₅₀, по отдельности или в комбинации. Через 6 ч оценивали *spa* mRNA с помощью ПЦР в масштабе реального времени (RT-PCR), содержание протеина SpA измеряли через 18 ч специфическим методом ELISA. Взятые по отдельности антибиотики (клиндамицин, линезолид и тигециклин) и пептид HNP значительно снижали как образование SpA, так и уровни mRNA у ST30 и ST80 штаммов. При использовании в комбинациях HNP и клиндамицина, линезолида или тигециклина синергидное снижение образования SpA у штаммов ST80 и ST30 достигало 6–100 раз, а уровней *spa* mRNA в 4–20 раз. У штаммов клона USA300 из всех антибиотиков только клиндамицин снижал образование SpA (в 3,5 раза), а обработка комбинацией с HNP слабо понижала продуцирование SpA (1,7–2,2 раза). Итак, антибиотики и АмП не модулируют экспрессию SpA у штаммов клона USA300, в отличие от других CA-MRSA клонов. Эти результаты предполагают связь между вирулентностью и быстрым распространением USA300 штаммов со специфической регуляторной системой.

* Corresponding author at: Centre International de Recherche en Infectiologie (CIRI) INSERM U1111, Equipe 'Pathogénie des Staphylocoques', Université Lyon 1, Lyon, France.

СИНЕРГИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА
И АЗТРЕОНАМА В ОТНОШЕНИИ БИОПЛЁНОК
PSEUDOMONAS AERUGINOSA PAO1.

SYNERGY OF SILVER NANOPARTICLES
AND AZTREONAM AGAINST *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA PAO1 BIOFILMS / M. B. HABASH,
A. J. PARK, E. C. VIS, R. J. HARRIS,
C. M. KHURSIGARA* // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY OCTOBER 2014; 58:
10: 5818–5830.

Биоплёнки патогенных бактерий, такие как обнаруженные у больных муковисцидозом, проявляют повышенную устойчивость к антибиотикам, отчасти из-за присущего биоплёнкам строения. Защитные свойства биоплёнки ограничивают дисперсию антибиотиков и проникновение внутрь биоплёнки, и снижают эффективность антибиотиков, обычно подавляющих рост планктонных клеток. Для лечения персистирующих инфекций необходимы альтернативные подходы. Несмотря на то, что антимикробные свойства серебра известны не одно десятилетие, в настоящее время вновь возник интерес к серебру и содержащим серебро соединениям как антимикробным препаратам для лечения бактериальных инфекций. Оценивали эффективность наночастиц серебра (AgNPs), включённых в цитрат, взятых в отдельности или в комбинации с монобактамным антибиотиком азтреонамом в отношении биоплёнок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Из частиц разного размера наиболее эффективно подавляли образование биоплёнок в культуре *P. aeruginosa* 10-нм наночастицы, а в комбинации с суб-МПК азтреонама эффект подавления был синергидным. Визуальный анализ биоплёнок, обработанных AgNP размером 10 нм и азтреонамом, показал, что синергидный бактерицидный эффект обусловлен лучшим проникновением AgNP в матрицу биоплёнки, и усиливается разрушающим действием азтреонама на клеточную оболочку клеток, заключённых в биоплёнке. Согласно полученным данным, AgNP синергидно усиливают антимикробное действие азтреонама в отношении *P. aeruginosa in vitro* и свидетельствуют о потенциальной роли комбинаций AgNP и антибиотиков в лечении больных с хроническими инфекциями.

* Department of Molecular and Cellular Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada

* Molecular and Cellular Imaging Facility, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

ОБРАЗОВАНИЕ ПИОЦИАНИНА *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA ОБЕСПЕЧИВАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ
К ИОНАМ СЕРЕБРА.

PYOCYANIN PRODUCTION BY *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA CONFERS RESISTANCE TO IONIC SILVER /
M. MULLER*, N. D. MERRETT // ANTIMICROBIAL

**AGENTS CHEMOTHERAPY SEPTEMBER 2014;
58: 9: 5492—5499.**

Серебро в ионной форме (Ag^+), но не в виде металла (Ag^0), токсично для жизнедеятельности бактерий, и в течение многих лет использовалось для обработки раневых инфекций. Считалось, что низкое распространение устойчивости бактерий к серебру обусловлено неспецифической природой его токсичности. Но возросшее в последнее время использование серебра в качестве антимикробного препарата в медицине, в товарах потребления, промышленных изделиях вызывает повышенную озабоченность тем, что это может вызвать распространение устойчивости к серебру. *Pseudomonas aeruginosa*, часто встречающийся патоген, продуцирует пиоцианин, токсин с окислительно-восстановительными свойствами, который восстанавливает молекулярный кислород и ионы железа (Fe^{3+}). Цель исследования было определение возможности восстановления пиоцианином Ag^+ до Ag^0 , что может привести к устойчивости к серебру из-за снижения биодоступности катиона. С помощью поверхностной плазменной резонансной спектроскопии и сканирующего электронного микроскопирования было подтверждено, что пиоцианин в течение нескольких минут восстанавливает Ag^+ с образованием наночастиц Ag^0 и снижает биодоступность свободного Ag^+ на >95%. Подобным образом, пиоцианин-продуцирующий штамм *P.aeruginosa* (PA14) восстанавливает Ag^+ в отличие от пиоцианин-дефицитного (ΔphzM) штамма. Значения МПК Ag^+ при обработке каждого штамма, PA14 и ΔphzM Ag^+ (в виде AgNO_3), были равны соответственно 20 и 5 мкг/мл. Удаление пиоцианина из среды, на которой рос штамм PA14, или добавление его к среде культивирования мутанта ΔphzM меняло диаметрально значения МПК: 5 и 20 мкг/мл соответственно. Клинические штаммы демонстрировали подобную пиоцианин-зависимую устойчивость к Ag^+ . Авторы заключают, что устойчивость псевдомонад к серебру существует независимо от ранее определённых внутриклеточных механизмов устойчивости и может быть более широко распространённой, чем считалось ранее.

* Department of Surgery, School of Medicine, University of Western Sydney, Campbelltown, NSW, Australia.

**АКТИВНОСТЬ ЭХИНОКАНДИНОВ И ТРИАЗОЛОВ
В ОТНОШЕНИИ СОВРЕМЕННОЙ (2012) ГЛОБАЛЬНОЙ
КОЛЛЕКЦИИ ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСЕНЕЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ИНВАЗИВНЫХ ИНФЕКЦИЯХ.**

**ACTIVITY OF ECHINOCANDINS AND TRIAZOLES
AGAINST A CONTEMPORARY (2012) WORLDWIDE**

**COLLECTION OF YEAST AND MOULDS COLLECTED
FROM INVASIVE INFECTIONS / M. CASTANHEIRA,
S. A. MESSER, R. N. JONES, D. J. FARRELL,
M. A. PFALLER*// INTERNATIONAL JOURNAL
OF ANTIMICROBIAL AGENTS OCTOBER 2014;
44: 4: 320—326.**

В исследовании стандартными методами микроразведений в бульоне (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)) было оценено отношение 1717 клинических грибковых изолятов, возбудителей инвазивных грибковых инфекций, к 9 противогрибковым препаратам. В число тестируемых культур входили 1487 штаммов *Candida* spp., 109 *Aspergillus* spp., 86 не-*Candida* дрожжей (включая 52 штамма *Cryptococcus neoformans*) и 35 редких видов плесеней, полученных в течение 2012 г. из 72 больниц мира. Устойчивость *Candida* spp. к эхинокандинам была низкой, а уровень устойчивости к анидулафунгину, каспофунгину и микафунгину варьировал от 0,0 до 2,8% у различных видов. Устойчивые к эхинокандинам штаммы *Candida glabrata* содержали *fkс* мутации (*fkс2* HS1 F659Y, F659del, S663F и S663P), эти штаммы были также устойчивы к флуконазолу. Один штамм *Candida krusei* и один штамм *Candida dubliniensis* имели соответственно мутации L701M и S645P *fkс1*. У *Candida tropicalis* и *C.glabrata* был более высокий уровень устойчивости к флуконазолу, 6,1 и 6,9% соответственно, что было сравнимо с показателями других *Candida* spp. Устойчивые к флуконазолу штаммы *C.tropicalis* были выделены в 5 странах (США, Китай, Германия, Бельгия и Таиланд). Вориконазол был активен в отношении всех *Candida* spp., подавляя 91,2—99,7% штаммов, с учётом видоспецифических пограничных концентраций. Все препараты, за исключением эхинокандинов и посаконазола, были активны в отношении *Cr.neoformans*. Триазолы были активны в отношении других дрожжей [МПК₉₀ (минимальная подавляющая 90% протестированных штаммов) 2 мкг/мл]. Эхинокандины и активные в отношении плесеней триазолы были также активны в отношении *Aspergillus* [МПК/МФК₉₀ (минимальная эффективная концентрация в отношении 90% испытанных штаммов) была в пределах 0,015—2 мкг/мл]. Активность этих препаратов была ограниченной в отношении необычных видов плесеней (МПК/МФК₉₀ в пределах 4 мкг/мл — >16 мкг/мл).

* JMI Laboratories, 345 Beaver Creek Center, Ste A, North Liberty, IA 52317, USA

**ГРИБКОВЫЙ ЭНДОКАРДИТ:
СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ.**

**FUNGAL ENDOCARDITIS: CURRENT CHALLENGES /
P. TATTEVIN*, M. REVEST, A. LEFORT, C. MICHELET,**

Грибковый эндокардит (ГЭ) составляет <2% от за-
протоколированных случаев инфекционного эн-
докардита, но характеризуется высокой, >50%,
смертностью. ГЭ чаще всего встречается у боль-
ных с тяжёлыми нарушениями иммунодефицита
(онкогематология) в сочетании с хроническим
применением центрального венозного катетера и
широкого круга антибиотиков, а также у больных,
подвергшихся сосудистой хирургии, сопровожда-
емой субоптимальными мерами контроля за ин-
фекцией. Число случаев ГЭ возможно было сни-
жено в наиболее развитых странах благодаря
более безопасным методам (запрограммирован-
ная смена иглы) и усовершенствованным мерам
контроля за инфекцией в процессе кардиохирур-
гии. Использование специфических ёмкостей для
определения гемокультур при диагнозе ГЭ было
снижено благодаря оптимизации среды и автома-
тизированным системам культивирования. До-
стижения техники, включая обнаружение грибо-
вых антигенов (галактоманнан, антитела
маннан/антиманнан, β -1,3-d-глюканы), и ис-
пользование универсальной грибковой ПЦР, спе-

цифичной генам 18S рРНК, позволят повысить
уровень диагностики и снизить её продолжитель-
ность при ограниченности диагностических ГЭ
данных. Некоторые новые противогрибковые
препараты, введённые в начале 2000 гг., могут
кардинально улучшить ситуацию с ГЭ: 1) новый
класс, эхинокандины, значительно улучшил лече-
ние *Candida* эндокардита, благодаря фунгицидно-
му действию на дрожжи и лучшей переносимости
увеличенных доз; 2) повышена выживаемость
больных с инвазивным аспергиллёзом при замене
амфотерицина В вориконазолом, что может быть
применимо в случае *Aspergillus* sp. эндокардита,
хотя прогноз остаётся неутешительным. Эти до-
стижения позволят отдельным больным подвер-
гаться длительному медикаментозному лечению
без хирургического вмешательства, сопряжённого
с рисками.

* Service des Maladies Infectieuses et de Réanimation
Médicale, CHU Pontchaillou, 2 rue Henri Le
Guilloux, 35033 Rennes Cedex, France.

Материал подготовлен Н. С. Бондаревой

Указатель авторов и статей, опубликованных в журнале в 2014 году

- Абакумова Т. В.* см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)
Автономова А. В., Краснополская Л. М. Противовирусные свойства метаболитов базидиальных грибов 7–8 (41)
Алимбарова Л. М. Применение циклоферона при лечении герпесвирусной инфекции 3–4 (22)
Ананьева Е. П., Баранов С. С., Караваева А. В., Борисенко М. С., Соловский М. В., Н. В. Захарова Н. В., Праздникова Т. А., Тарабукина Е. Б. Полимерные комплексы офлоксацина и их антибактериальная активность 11–12 (3)
Андропова В. Л. см. Мальдов Д. Г. и др. 1–2 (10)
Андропова В. Л. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)
Антонеева И. И. см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)
Архангельская И. В. см. Селянская Н. А. и др. 11–12 (16)
Асташкин Е. И. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)
- Бабарина М. Б.* см. Соколова В. И. и др. 1–2 (20)
Бабарина М. Б. см. Соколова В. И. и др. 11–12 (35)
Бакулин В. М. см. Бакулин М. К. и др. 5–6 (41)
Бакулин В. М., Туманов А. С., Мартинсон Е. А., Литвинец С. Г., Бакулин М. К., Калининский В. Б. Влияние перфтордекалина на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубицина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования 7–8 (3)
Бакулин М. К., Туманов А. С., Бакулин В. М., Калининский В. Б. Вклад кировских микробиологов в разработку производства пенициллина и стрептомицина (к 70-летию создания технологии глубинного получения первых отечественных антибиотиков) 5–6 (41)
Бакулин М. К. см. Бакулин В. М. и др. 7–8 (3)
Бальцерович Н. Б. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
Бальцерович Н. Б. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
Баранов С. С. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)
Бельков А. П. см. Мальдов Д. Г. и др. 1–2 (10)
Бельков А. П. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)
Белова В. В. см. Ербасская А. В. и др. 1–2 (24)
Белова Л. А., Машин В. В., Колотик-Каменева О. Ю., Прошин А. Н. Влияние терапии цитофлавином® на функцию эндотелия и церебральную гемодинамику у больных гипертонической энцефалопатией 7–8 (30)
Бережа Б. Н. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)
Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Кузнецова Т. А., Крыжановский С. П., Ковалев Н. Н., Звягинцева Т. Н. Гепатопротекторные эффекты экстрактов и полисахаридов морских водорослей 3–4 (30)
Бибикова М. В. см. Даниленко А. Н. и др. 3–4 (3)
Бильченко А. В., Чуб О. И. Распространённость БЛРС типов TEM, SHV, CTX-M среди возбудителей хронического пиелонефрита 11–12 (24)
Блатун Л. А., Терехова Р. П. Мазь Офломелид: активность в отношении госпитальных штаммов микроорганизмов. 1–2 (15)
Богословская С. П. см. Сиволодский Е. П. и др. 9–10 (33)
Борисевич С. В. см. Логинова С. Я. и др. 1–2 (3)
Борисевич С. В. см. Черникова Н. К. и др. 9–10 (13)
Борисенко М. С. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)
Бородавко О. Н. см. Ермак С. Ю. и др. 7–8 (25)
Будрицкий А. М. см. Правада Н. С. и др. 5–6 (15)
Булгакова В. Г., Виноградова К. А., Орлова Т. И., Кожевин П. А., Полин А. Н. Действие антибиотиков как сигнальных молекул 1–2 (36)
Булгакова В. Г. см. Орлова Т. И. и др. 3–4 (38)
Буловская Л. Н. см. Ербасская А. В. и др. 1–2 (24)
- Васильева Е. В.* см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)
Виноградова К. А. см. Булгакова В. Г. и др. 1–2 (36)
Веркина Л. М. см. Селянская Н. А. и др. 11–12 (16)
Вострикова А. М. см. Кулапина О. И. 1–2 (6)
- Галегов Г. А.* см. Мальдов Д. Г. и др. 1–2 (10)
Галегов Г. А. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)
Галустян А. Н. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
Галустян А. Н. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
Генинг Т. П., Абакумова Т. В., Долгова Д. Р., Антонеева И. И., Генинг С. О., Пирмамедова С. С., Фомина А. В., Васильева Е. В. Редокс-зависимые процессы в плазме крови, нейтрофилах и эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии по схеме CAP 5–6 (20)
Генинг С. О. см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)
Геппе Н. А., Кондюрина Е. Г., Галустян А. Н., Пак Т. Е., Бальцерович Н. Б., Жиглинская О. В., Камаев А. В., Лазарева С. Г., Лалэко С. Л., Мельникова И. М., Перминова О. А., Сабитов А. У. Жидкая лекарственная форма Эргоферона — эффективное и безопасное средство лечения острых респираторных инфекций у детей. Промежуточные итоги многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного клинического исследования 5–6 (6)
Геппе Н. А., Кондюрина Е. Г., Галустян А. Н., Пак Т. Е., Бальцерович Н. Б., Жиглинская О. В., Камаев А. В., Лазарева С. Г., Лалэко С. Л., Мельникова И. М., Михайлова Е. В., Перминова О. А., Сабитов А. У., Сиваковский Ю. М. Ренгалин — новый препарат для лечения кашля у детей. Промежуточные итоги многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования 7–8 (16)
Говорова Л. В. см. Ербасская А. В. и др. 1–2 (24)
Гончар Н. В. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 1–2 (30)
Гончар Н. В., Партина И. В., Ныркова О. И., Дран А. С. Антибиотико- и фагорезистентность клинических штаммов кишечной палочки у госпитализированных детей Санкт-Петербурга, больных эшерихиозами 9–10 (38)
Горелик А. Л. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)
Горелова Г. В. см. Сиволодский Е. П. и др. 9–10 (33)
Григорьев С. Г. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 1–2 (30)
Григорян С. С. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)
Григорян С. С., Петров А. Ю., Исаева Е. И., Музыкин М. А., Коваленко А. Л., Романов М. Г. Индукция интерферонов 1-, 2- и 3-го типов солями акридонуксусной кислоты 9–10 (3)

Даниленко А. Н., Бибикова М. В., Спиридонова И. А. Определение параметров гидрофобности олигомицинов 3–4 (3)

Долгова Д. Р. см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)

Драп А. С. см. Гончар Н. В. и др. 9–10 (38)

Ермак С. Ю., Ляликов С. А., Зубрицкий М. Г., Бородавко О. Н. Применение препарата Циклоферон в терапии хронических гастродуоденитов у детей 7–8 (25)

Ербасская А. В., Иванова В. В., Говорова Л. В., Белова В. В., Буловская Л. Н. Эффективность действия антибиотиков у детей при ОРИ, осложнённый: пневмониями, в условиях Крайнего Севера в зависимости от типа ацетилирования 1–2 (24)

Ершов Ф. И., Полосков В. В. Современные отечественные этиотропные противовирусные препараты 11–12 (40)

Жиглинская О. В. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)

Жиглинская О. В. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)

Зайков Д. А. см. Соколова В. И. и др. 1–2 (20)

Зайков Д. А. см. Соколова В. И. и др. 11–12 (35)

Запорожец Т. С. см. Беседнова Н. Н. и др. 3–4 (30)

Захарова Н. В. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)

Зверев В. В. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)

Звягинцева Т. Н. см. Беседнова Н. Н. и др. 3–4 (30)

Зленко Ю. М. см. Селянская Н. А. и др. 11–12 (16)

Зубрицкий М. Г. см. Ермак С. Ю. и др. 7–8 (25)

Зуева Е. В. см. Сиволодский Е. П. и др. 9–10 (33)

Иванова В. В. см. Ербасская А. В. и др. 1–2 (24)

Ильичев А. В. см. Мальдов Д. Г. и др. 1–2 (10)

Ильичев А. В. см. Мальдов Д. Г. и др. 3–4 (16)

Исаева Е. И. см. Григорян С. С. и др. 9–10 (3)

Исаков В. А., Исаков Д. В. Иммуномодуляторы в терапии респираторных инфекций 11–12 (27)

Исаков Д. В. см. Исаков В. А. 11–12 (27)

К 90-летию со дня рождения академика С. М. Навашина 5–6 (54)

Калининский В. Б. см. Бакулин М. К. и др. 5–6 (41)

Калининский В. Б. см. Бакулин В. М. и др. 7–8 (3)

Камаев А. В. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)

Камаев А. В. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)

Караваева А. В. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)

Карасева О. В. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)

Каримова Е. В. см. Смирнова И. П. и др. 3–4 (12)

Катосова Л. К. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)

Ковалев Н. Н. см. Беседнова Н. Н. и др. 3–4 (30)

Коваленко А. Л. см. Григорян С. С. и др. 9–10 (3)

Кожевин П. А. см. Булгакова В. Г. и др. 1–2 (36)

Коленчукова О. А., Н. И. Сарматова Н. И. Механизмы воздействия устойчивых к метициллину штаммов *Staphylococcus aureus* на функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов 11–12 (20)

Колотик-Каменева О. Ю. см. Белова Л. А. и др. 7–8 (30)

Кондюрина Е. Г. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)

Кондюрина Е. Г. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)

Краснопольская Л. М. см. Автономова А. В. 7–8 (41)

Кругликов В. Д. см. Селянская Н. А. и др. 11–12 (16)

Крыжановская О. А. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)

Крыжановский С. П. см. Беседнова Н. Н. и др. 3–4 (30)

Кузнецова О. М. см. Смирнова И. П. и др. 3–4 (12)

Кузнецова Т. А. см. Беседнова Н. Н. и др. 3–4 (30)

Кулаков А. И. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)

Кулапина О. И., Вострикова А. М. Экспрессное определение цефалексина в биосредах 1–2 (6)

Кулапина О. И., Михайлова М. С. Изучение фармакокинетики цефуроксима по динамике его распределения в жидкости ротовой полости больных синуситами 9–10 (29)

Куликова Н. Г. см. Синёва О. Н. и др. 11–12 (11)

Лазарева А. В., Катосова Л. К., Крыжановская О. А., Пономаренко О. А., Карасева О. В., Горелик А. Л., Маянский Н. А. Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеального аспирата у детей с тяжёлой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии 7–8 (8)

Лазарева С. Г. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)

Лазарева С. Г. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)

Лалёко С. Л. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)

Лалёко С. Л. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)

Левин Г. Я., Соснина Л. Н. Спектрофотометрический метод определения концентрации аминогликозидов в плазме крови 3–4 (10)

Ленёва И. А., Фалынскова И. Н., Леонова Е. И., Федякина И. Т., Махмудова Н. Р., Осипова Е. А., Лепеха Л. Н., Михайлова Н. А., Зверев В. В. Эффективность умифеновира (Арбидола) на модели экспериментальной сочетанной вирусно-бактериальной пневмонии мышей 9–10 (17)

Леонова Е. И. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)

Лепеха Л. Н. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)

Литвинцев С. Г. см. Бакулин В. М. и др. 7–8 (3)

Логинова С. Я., Борисевич С. В., Русинов В. Л., Уломский У. Н., Чарушин В. Н., Чупахин О. Н. Изучение противовирусной активности триазавирина в отношении возбудителя клещевого энцефалита в культуре клеток 1–2 (3)

Ло Скиаво Л. А., Гончар Н. В., Суворов А. Н., Шабалов Н. П., Григорьев С. Г. Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных: детей 1–2 (30)

Ляликов С. А. см. Ермак С. Ю. и др. 7–8 (25)

Мальдов Д. Г., Галегов Г. А., Андропова В. Л., Ильичев А. В., Бельков А. П. Действие препарата Стимфорте на основные проявления воспаления при заражении экспериментальным: животных вирусом простого герпеса I 1–2 (10)

Мальдов Д. Г., Бельков А. П., Ильичев А. В., Асташкин Е. И., Григорян С. С., Андропова В. Л., Галегов Г. А. Вещества из пиролизированных тканей тушек пресмыкающихся различным образом модулируют иммунитет млекопитающих разного пола 3–4 (16)

Мартинсон Е. А. см. Бакулин В. М. и др. 7–8 (3)

Марынова М. А. см. Яхкин М. И. и др. 5–6 (34)
 Марынова М. А. см. Яхкин М. И. и др. 7–8 (37)
 Мачавариани Н. Г., Терехова Л. П. Биологически активные соединения, образуемые микроорганизмами-эндофитами 5–6 (26)
 Махмудова Н. Р. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)
 Машин В. В. см. Белова Л. А. и др. 7–8 (30)
 Маянский Н. А. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)
 Мельникова И. М. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
 Мельникова И. М. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Михайлов В. В. см. Черникова Н. К. и др. 9–10 (13)
 Михайлова Е. В. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Михайлова М. С. см. Кулапина О. Г. 9–10 (29)
 Михайлова Н. А. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)
 Молохова Е. И., Сорокина Ю. В. Сравнительное изучение реологических характеристик оригинального препарата Тридерм и его дженериков в форме крема 5–6 (3)
 Музыкин М. А. см. Григорян С. С. и др. 9–10 (3)

Назарчук А. А. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)
 Назарчук Г. Г. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)
 Никитин А. В. Механизмы нефротоксического действия иммунодепрессантов — ингибиторов кальцинейрина 1–2 (44)
 Николаев С. М. см. Торопова А. А. и др. 9–10 (25)
 Ныrkova О. И. см. Гончар Н. В. и др. 9–10 (38)

Олейник Д. П. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)
 Орлова В. С. см. Смирнова И. П. и др. 3–4 (12)
 Орлова Т. И. см. Булгакова В. Г. и др. 1–2 (36)
 Орлова Т. И., Булгакова В. Г., Полин А. Н. Вторичные метаболиты микроорганизмов — потенциальный резерв фармацевтических препаратов 3–4 (38)
 Осипова Е. А. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)

Палий Г. К., Назарчук А. А., Кулаков А. И., Назарчук Г. Г., Палий Д. В., Береза Б. Н., Олейник Д. П. Исследование кинетики антимикробного препарата декаметоксина 3–4 (7)
 Палий Д. В. см. Палий Г. К. и др. 3–4 (7)
 Пак Т. Е. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
 Пак Т. Е. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Партина И. В. см. Гончар Н. В. и др. 9–10 (38)
 Петров А. Ю. см. Григорян С. С. и др. 9–10 (3)
 Перминова О. А. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
 Перминова О. А. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Пирмамедова С. С. см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)
 Подборонов В. М., Смирнова И. П. Персистенция бактерий и вирусов в организме *Ixodes* 9–10 (10)
 Полин А. Н. см. Булгакова В. Г. и др. 1–2 (36)
 Полин А. Н. см. Орлова Т. И. и др. 3–4 (38)
 Полосков В. В. см. Ершов Ф. И. 11–12 (40)
 Пономаренко О. А. см. Лазарева А. В. и др. 7–8 (8)
 Правада Н. С., Будрицкий А. М., Суханов Д. С. Комплексная терапия пациентов с распространёнными формами туберкулёза лёгких с применением меглумина акридонатацетата 5–6 (15)
 Праздников Т. А. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)
 Прошин А. Н. см. Белова Л. А. и др. 7–8 (30)

Разуваева Я. Г. см. Торопова А. А. и др. 9–10 (25)
 Раковская И. В. см. Смирнова И. П. 11–12 (7)
 Расулов М. М. см. Яхкин М. И. и др. 5–6 (34)
 Расулов М. М. см. Яхкин М. И. и др. 7–8 (37)
 Романцов М. Г. см. Григорян С. С. и др. 9–10 (3)
 Руднев А. В. см. Смирнова И. П. и др. 3–4 (12)
 Русинов В. Л. см. Логинова С. Я. и др. 1–2 (3)

Сабитов А. У. см. Геппе Н. А. и др. 5–6 (6)
 Сабитов А. У. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Самбуева З. Г. см. Торопова А. А. и др. 9–10 (25)
 Санадзе А. Г. см. Соколова В. И. и др. 1–2 (20)
 Сарматова Н. И. см. Коленчукова О. А. 11–12 (20)
 Селянская Н. А., Тришина А. В., Веркина Л. М., Архангельская И. В., Кругликов В. Д., Зленко Ю. М. Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области 11–12 (16)
 Сиволодский Е. П., Горелова Г. В., Богословская С. П., Зуева Е. В. Чувствительность к антибиотикам и идентификация клинических штаммов *Pseudomonas fulva* 9–10 (33)
 Синёва О. Н., Куликова Н. Г., Филиппова С. Н., Терехова Л. П. Хранение культур актинобактерий — представителей родов *Streptomyces* и *Nonomuraea* методом низкотемпературной консервации 11–12 (11)
 Смирнова И. П., Шкинев В. М., Руднев А. В., Кузнецова О. М., Каримова Е. В., Орлова В. С. Изучение действия противоопухолевого фермента L-лизин- α -оксидазы из культуры *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 на окисление L-лизина методом капиллярного электрофореза 3–4 (12)
 Смирнова И. П. см. Подборонов В. М. 9–10 (10)
 Смирнова И. П., Раковская И. В. Исследование антимикоплазменной активности культуральной жидкости *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 — продуцента противоопухолевого и антивирусного фермента L-лизин- α -оксидазы 11–12 (7)
 Соколова В. И., Санадзе А. Г., Сычев Д. А., Бабарина М. Б., Зайков Д. А. Основные принципы лечения бронхолегочной инфекции у больных миастенией. 1–2 (20)
 Соколова В. И., Сычев Д. А., Бабарина М. Б., Зайков Д. А. Перспектива применения левофлоксацина для лечения больных с бронхолегочными заболеваниями и с гнойно-воспалительными поражениями кожи и мягких тканей 11–12 (35)
 Соловский М. В. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)
 Сорокина Ю. В. см. Молохова Е. И. 5–6 (3)
 Спиваковский Ю. М. см. Геппе Н. А. и др. 7–8 (16)
 Спиридонова И. А. см. Даниленко А. Н. и др. 3–4 (3)
 Соснина Л. Н. см. Левин Г. Я. 3–4 (10)
 Стороженко П. А. см. Яхкин М. И. и др. 5–6 (34)
 Стороженко П. А. см. Яхкин М. И. и др. 7–8 (37)
 Суворов А. Н. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 1–2 (30)
 Суханов Д. С. см. Правада Н. С. и др. 5–6 (15)
 Сычев Д. А. см. Соколова В. И. и др. 1–2 (20)
 Сычев Д. А. см. Соколова В. И. и др. 11–12 (35)

Тарабукина Е. Б. см. Ананьева Е. П. и др. 11–12 (3)

Таранцева К. Р. см. Яхкинд М. И. и др. 5–6 (34)
 Таранцева К. Р. см. Яхкинд М. И. и др. 7–8 (37)
 Терехова Л. П. см. Мачавариани Н. Г. 5–6 (26)
 Терехова Л. П. см. Синёва О. Н. и др. 11–12 (11)
 Терехова Л. П. см. Блатун Л. А. 1–2 (15)
 Торопова А. А., Николаев С. М., Разуваева Я. Г., Федоров А. В., Самбуева З. Г., Убеева И. П. Влияние экстракта *Нурсоит erectum* на морфофункциональное состояние печени крыс при тетрациклиновом гепатите 9–10 (25)
 Тришина А. В. см. Селянская Н. А. и др. 11–12 (16)
 Туманов А. С. см. Бакулин М. К. и др. 5–6 (41)
 Туманов А. С. см. Бакулин В. М. и др. 7–8 (3)

Убеева И. П. см. Торопова А. А. и др. 9–10 (25)
 Уломский У. Н. см. Логинова С. Я. и др. 1–2 (3)

Фалынскова И. Н. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)
 Федоров А. В. см. Торопова А. А. и др. 9–10 (25)
 Федякина И. Т. см. Ленёва И. А. и др. 9–10 (17)
 Филиппова С. Н. см. Синёва О. Н. 11–12 (11)
 Фомина А. В. см. Генинг Т. П. и др. 5–6 (20)

Чарушин В. Н. см. Логинова С. Я. и др. 1–2 (3)
 Черникова Н. К., Михайлов В. В., Борисевич С. В. Экспериментальная оценка иммуномодулирующей активности нового отечественного синтетического препарата «Тубосан» 9–10 (13)
 Чуб О. И. см. Бильченко А. В. 11–12 (24)
 Чупахин О. Н. см. Логинова С. Я. и др. 1–2 (3)

Шабалов Н. П. см. Ло Скиаво Л. А. и др. 1–2 (30)
 Шкинев В. М. см. Смирнова И. П. и др. 3–4 (12)

Яхкинд М. И., Таранцева К. Р., Марынова М. А., Стороженко П. А., Расулов М. М. Молекулярно импринтированные полимеры для пенициллинов и тетрациклинов 5–6(34)
 Яхкинд М. И., Таранцева К. Р., Марынова М. А., Стороженко П. А., Расулов М. М. Молекулярно импринтированные полимеры для макролидов, аминогликозидов и некоторых других биосинтетических антибиотиков 7–8 (37)

ЦИКЛОФЕРОН®

умное лекарство для лечения и профилактики гриппа и ОРВИ



- ✓ Быстрый индуктор интерферона*
- ✓ Обладает прямым противовирусным действием
- ✓ Разрешен детям с 4 лет и взрослым
- ✓ Сохраняет лечебный эффект даже при частом применении**
- ✓ Снижает риск развития осложнений при гриппе и ОРВИ в 9 раз***

ПРИЁМ ПРЕПАРАТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГРИППА/ОРВИ

Дни приёма:



ПРИЁМ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ГРИППА/ОРВИ

Дни приёма:



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

РОССИЯ, 192102, Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ,
УЛ. САЛОВА, Д. 72, КОР. 2, ЛИТ. А,
ТЕЛ.: +7 (812) 710-82-25
ФАКС: +7 (812) 764-62-84

Интеллект на защите
здоровья
polysan

* Ершов Ф. И., Киселев О. И. Интерфероны и их индукторы (от молекулы до лекарств). - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005.

** Л. А. Харитонов, О. Е. Есрафилова, М. Г. Романцов "Коррекция иммунного дисбаланса часто болеющих детей повторными респираторными инфекциями". Антибиотики и Химиотерапия, 2013, 58; 11-12.

*** Доказано клинически (Исаков В.А., Романцов М.Г. и соавт. Эффективность Циклоферона в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ. РМЖ 11, 2011).