

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 60



1-2'2015

Научно-практический журнал

Инъекционная эффективность в таблетках*

при респираторных
инфекциях



astellas

№1 в назначениях
антибиотиков¹

Вильпрафен® Солютаб®

джозамицин

Эффективный в отношении штаммов,
резистентных к кларитромицину
и азитромицину^{2,3}

Самый активный из макролидов
в отношении стрептококков⁴



Рег. уд. ЛС-001632 от 23.08.2010

* С.В. Яковлев, Е.В. Довгань. Аспекты эффективности антибиотиков. Справочник поликлинического врача. №6, 2014г., стр. 4-6.

1. Препараты компании Астеллас занимают первое место по назначениям врачами антибиотиков в крупнейших городах России. Настоящая информация основана на исследованиях, проводимых ООО "Синовейт Комкон", и действительна по состоянию на апрель 2014 года.

2. С.В. Сидоренко и соавт. Клиническая фармакология и терапия, 2008, 17(2):1-4.

3. Азовскова О.В., Козлов Р.С., Кречикова О.И., Иванчик Н.В. КМАХ, 2012, Том 14, №4, стр. 309-321

4. Р.С. Козлов, О.В. Сивая и соавт. Динамика резистентности S. pneumoniae к антибиотикам в России за период 1999-2009гг. (результаты многоцентрового проспективного исследования ПегАС), КМАХ, 2010, Том 12, №4, стр. 329-341.

Для специалистов здравоохранения

Представительство Частной компании с ограниченной ответственностью «Астеллас Фарма Юроп Б.В.»
109147, Россия, Москва, ул. Марксистская, 16. Тел.: +7(495) 737 07 55

Реклама.
RUS/SOL/09.2014/Kuzn/350

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ

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 2015

Типография:

ООО «Новелла»

Дата выхода: 02.04.2015

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 60

1—2'2015

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

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

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

Оригинальные статьи

Гостев В. В., Калиногорская О. С., Попенко Л. Н.,
Черненко Т. В., Науменко З. С., Ворошилова Т. М.,
Захарова Ю. А., Хохлова О. Е., Круглов А. Н., Ершова М. Г.,
Молчанова И. В., Сидоренко С. В.
Антибиотикорезистентность метициллинорезистентных
Staphylococcus aureus, циркулирующих
в Российской Федерации

В помощь практикующему врачу

Калиногорская О. С., Беланов С. С., Волкова М. О.,
Гостев В. В., Сидоренко С. В.
Антибиотикорезистентность и серотиповый состав
Streptococcus pneumoniae, выделенных у детей
в Санкт-Петербурге в 2010—2013 гг.

Акопов А. Л., Александрова Е. Б.,
Илькович М. М., Петров Д. В., Трофимов В. И.
Ренгалин — новый эффективный и безопасный препарат
в лечении кашля. Результаты многоцентрового
сравнительного рандомизированного клинического
исследования у больных с острыми респираторными
инфекциями

Румянцева С. А., Силина Е. В., Гомбоева Н. А., Ступин В. А.,
Васильев Ю. Д., Коваленко А. Л., Кабаева Е. Н.

Клинико-патофизиологические корреляции при остром
инсульте, визуализируемом по КТ в разные сроки

Стандартизация и контроль лекарственных средств

Шаройкина М. В., Рябцева М. С.,
Ковалева Е. Л., Неугодова Н. П.
Влияние параметра «скорость введения» при выполнении
теста «Аномальная токсичность» на обеспечение качества
антибиотика группы цефалоспоринов — цефтриаксона

Обзоры

Виноградова К. А., Булгакова В. Г.,
Полин А. Н., Кожевин П. А.
О биоплёнках стрептомицетов.
I. Распространение и формирование
Белов Б. С., Макаров С. А., Бялик Е. И.
Инфекция протезированного сустава:
современные подходы к диагностике и лечению

Original Papers

- 3 Gostev V. V., Kalinogorskaya O. S., Popenko L. N.,
Chernenkaya T. V., Naumenko Z. S., Voroshilova T. M.,
Zakharova Yu. A., Khokhlova O. E., Kruglov A. N., Ershova M. G.
Molchanova I. V., Sidorenko S. V.
Antibiotic Resistance of MRSA
in the Russian Federation

Guidelines For Practitioners

- 10 Kalinogorskaya O. S., Belanov S. S.,
Volkova M. O., Gostev V. V., Sidorenko S. V.
Antibiotic Resistance and Serotype Pattern
of *Streptococcus pneumoniae* Isolated from Children
in St. Petersburg in 2010—2013
- 19 Akopov A. L., Aleksandrova E. B.,
Il'kovich M. M., Petrov D. V., Trofimov V. I.
Rengalin, a New Efficacious and Safe Antitussive Agent.
Results of a Randomized, Comparative,
Multicenter Clinical Trial in Patients with Acute
Respiratory Tract Infections

- 27 Rumyantseva S. A., Silina E. V., Gomboeva N. A., Stupin V. A.,
Vasiliev Yu. D., Kovalenko A. L., Kabaeva E. N.
Clinical and Pathophysiological Correlations in Acute Stroke,
CT Visualized at Different Times

Drug Standardization and Control

- 35 Sharoykina M. V., Ryabtseva M. S.,
Kovaleva E. L., Neugodova N. P.
Influence of the Parameter «Rate of Administration» During
«Abnormal Toxicity» Test on Quality Control of Ceftriaxone,
an Antibiotic of the Cephalosporin Group

Reviews

- 39 Vinogradova K. A., Bulgakova V. G.,
Polin A. N., Kozhevin P. A.
Streptomyces Biofilms.
I. Occurrence and Formation
- 47 Belov B. S., Makarov S. A., Byalik E. I.
Joint Prosthetic Infection: Update Approaches
to Diagnosis and Treatment

По страницам журналов 53 Abstracts

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

Антибиотикорезистентность метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus*, циркулирующих в Российской Федерации

В. В. ГОСТЕВ¹, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ¹, Л. Н. ПОПЕНКО², Т. В. ЧЕРНЕНЬКАЯ³,
З. С. НАУМЕНКО⁴, Т. М. ВОРОШИЛОВА⁵, Ю. А. ЗАХАРОВА⁶, О. Е. ХОХЛОВА⁷,
А. Н. КРУГЛОВ⁸, И. Г. ЕРШОВА⁹, И. В. МОЛЧАНОВА¹⁰, С. В. СИДОРЕНКО¹

¹ ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА России», Санкт-Петербург

² НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург

³ НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва

⁴ ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова» Минздрава России, Курган

⁵ ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург

⁶ ФГБУЗ Пермский клинический центр ФМБА России, Пермь

⁷ ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск

⁸ ООО «Национальное агентство по клинической фармакологии и фармации», Москва

⁹ ГУЗ ЯО Инфекционная клиническая больница № 1, Ярославль

¹⁰ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск

Antibiotic Resistance of MRSA in the Russian Federation

V. V. GOSTEV, O. S. KALINOGORSKAYA, L. N. POPENKO, T. V. CHERNENKAYA, Z. S. NAUMENKO, T. M. VOROSHILOVA,
YU. A. ZAKHAROVA, O. E. KHOKHLOVA, A. N. KRUGLOV, M. G. ERSHOVA, I. V. MOLCHANOVA, S. V. SIDORENKO

Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg

I. I. Dzhanelidze Research Institute of Emergency Medical Service, St. Petersburg

N. V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medical Service, Moscow

G. A. Ilizarov Russian Scientific Centre for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan

A. M. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg

Perm Clinical Centre, Perm

V. F. Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk

National Agency for Clinical Pharmacology and Pharmacy, Moscow

Infection Clinical Hospital No. 1, Yaroslavl

Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk

В работе представлены результаты многоцентрового исследования по оценке антибиотикочувствительности метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) к 17 антибиотикам. В работу были включены 474 неповторяющихся изолятов MRSA (*mecA*⁺), собранных в 2011—2014 из 10 городов России. Антибиотикочувствительность оценивали методом серийных микроразведений в бульоне с определением МПК в соответствии с международными стандартами CLSI 2014 и EUCAST 2014. Наибольший уровень устойчивости MRSA был выявлен к ципрофлоксацину — 92% (МПК₅₀ 32 мкг/мл), гентамицину — 85% (МПК₅₀ 128 мкг/мл), эритромицину — 54% (МПК₅₀ 32 мкг/мл) и клиндамицину — 45% (МПК₅₀ 0,03 мкг/мл), а также к рифампицину — 38% (МПК₅₀ 0,06 мкг/мл). Частота выделения MRSA с МПК ванкомицина 2 мкг/мл составили 26%. Не выявлено корреляции между снижением чувствительности к ванкомицину и рифампицину. У 5% MRSA, выделенных из инфицированных хирургических ран, при инфекциях костей, сепсисе, выявлено снижение чувствительности к цефтаролину (МПК 2—4 мкг/мл). Высокую антибактериальную активность проявляли: ко-тримоксазол, фузидиевая кислота (МПК₅₀ 0,06 мкг/мл) и мупироцин (МПК₅₀ 0,5 мкг/мл), к этим препаратам были чувствительны 93—98% изолятов. Не выявлено резистентности к линезолиду и тигециклину. По спектру ассоциированной устойчивости большинство MRSA характеризовались резистентностью к препаратам 3—7 групп (56%). Фенотипы с одновременной устойчивостью к 8—10 группам препаратов составили 6%. Всего же выявлено 70 вариантов комбинаций ассоциированной устойчивости.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, метициллинорезистентные *S. aureus*.

The results of the multicentre trial on estimation of MRSA antibiotic susceptibility to 17 antibiotics are presented. 474 nonrepeating isolates of MRSA (*mecA*⁺), collected in 2011—2014 in 10 cities of the Russian Federation were used in the trial. The antibiotic susceptibility was determined by the method of serial microdilutions in broth with estimation of the MICs in accordance with the international standards CLSI 2014 and EUCAST 2014. The highest levels of the MRSA resistance were stated against ciprofloxacin — 92% (MIC₅₀ 32 mcg/ml), gentamicin — 85% (MIC₅₀ 128 mcg/ml), erythromycin — 54% (MIC₅₀ 32 mcg/ml)

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. НИИ детских инфекций

and clindamycin — 45% (MIC₅₀ 0.03 mcg/ml), as well as against rifampicin — 38% (MIC₅₀ 0.06 mcg/ml). The frequency of MRSA isolated at the vancomycin dose of 2 mcg/ml equaled 26%. No correlation of the decrease in susceptibility to vancomycin and rifampicin was observed. In 5% of MRSA isolated from infected surgical wounds in patients with bone infection or sepsis, there was observed a decrease in the susceptibility to ceftarolin (MIC 2–4 mcg/ml). Co-trimoxazole, fusidic acid (MIC₅₀ 0.06 mcg/ml) and mupirocin (MIC₅₀ 0.5 mcg/ml) showed high antibacterial activity, 93–98% of the isolates being susceptible to the drugs. No resistance to linezolid and tigecycline was detected. By the associate resistance spectrum, most of the MRSA isolates were characterized by resistance to drugs of 3–7 groups (56%). The phenotypes with simultaneous resistance to drugs of 8–10 groups amounted to 6%. As a whole, 70 variants of associate resistance combinations were detected.

Key words: antibiotics resistance, MRSA.

Введение

Метициллинорезистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA) являются одними из ведущих возбудителей внутрибольничных и внебольничных инфекций во всём мире. По последним данным CDC (2013) в США ежегодно регистрируется около 80000 случаев MRSA инфекций, из которых 11000 заканчиваются летальным исходом [1]. Огромные финансовые затраты на лечение таких инфекций связаны, прежде всего, с неэффективностью многих антибиотиков, длительным пребыванием пациентов в стационаре и высокой частотой осложнений. Сложность терапии обуславливается устойчивостью MRSA не только ко всем бета-лактамам антибиотикам, но и к широкому кругу препаратов других классов. Осложняет ситуацию появление изолятов со сниженной чувствительностью к ванкомицину: heterogeneous Vancomycin-intermediate *S.aureus* (hVISA) и Vancomycin-intermediate *S.aureus* (VISA) [2]. Мониторинг, а также внедрение жёстких противоэпидемических мероприятий в ряде стран Европы, США и Австралии привело к снижению частоты выделения MRSA [3, 4]. Также на снижение распространения MRSA повлияло внедрение в клиническую практику в последние 15 лет высокоактивных новых антибиотиков [5, 6]. К их числу можно отнести уже зарегистрированные в России препараты: линезолид, даптомицин, тигециклин и цефтаролин. Далбаванцин, телаванцин, тедизолид и плеуромотилины в России не зарегистрированы. К сожалению, ко всем перечисленным препаратам уже описаны механизмы устойчивости *Staphylococcus* spp., однако они не имеют глобального распространения.

В Российской Федерации проблема распространения и терапии MRSA инфекций стоит в одном ряду с нарастающей угрозой распространения грамотрицательных бактерий продуцентов бета-лактамаз, карбапенемаз [7]. Особенно это актуально для реанимационных, хирургических и ожоговых отделений. Осложняет ситуацию отсутствие единой системы по надзору за распространением резистентности в нашей стране. Первые сообщения о MRSA появились приблизительно в конце 1960 годов [8], практически на фоне начала глобального распространения внутригоспитальных MRSA в мире. За последние 25 лет было проведено не-

сколько крупных многоцентровых и множество локальных исследований по изучению резистентности стафилококков. Наиболее значимые из них: исследования изолятов MRSA с конца 1980 — начала 1990 Л. Т. Мусина с соавт. [9]; 1995–1996 гг. С. В. Сидоренко с соавт. [10]; многоцентровые исследования, проводимые в 2001, 2008 и 2012 гг. сотрудниками НИИ антимикробной химиотерапии [11–13]. Суммируя результаты этих и других данных, можно заключить, что частота выявления MRSA в стационарах России колеблется в очень широком диапазоне: от 0 до 80%, наблюдается рост резистентности к антибиотикам, широко используемых для терапии инфекций, обусловленных грамположительными микроорганизмами. Мониторинг уровня чувствительности, как к традиционным препаратам, так и новым, является важным элементом в формировании стратегии рациональной антибактериальной терапии. В этой связи целью настоящего исследования стала оценка чувствительности MRSA к антибиотикам, используемым в клинической практике для лечения стафилококковых инфекций.

Материал и методы

Бактериальные изоляты. Использовали неповторяющиеся изоляты MRSA, выделенные от больных с разными формами стафилококковых инфекций, а также от здоровых носителей. Изоляты были получены в 2011–2014 гг. из 15 стационаров Санкт-Петербурга, Москвы, Ярославля, Перми, Челябинска, Кургана, Ханты-Мансийска, Красноярска и некоторых других регионов. Идентификацию суточных культур *S.aureus*, выращенных на кровяном агаре, проводили на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия). В лаборатории НИИДИ изоляты депонировались в музей культур и хранились при -70°C в 3% Колумбийском агаре (bioMérieux, Франция) с 30 об. % глицерина.

Постановка ПЦР. Для определения гена *tesA* из суточных культур *S.aureus* готовили клеточную суспензию в объёме 200 мкл и выделяли тотальную ДНК с использованием наборов «ДНК-сорб Б» (АмплиСенс, Россия). Амплификацию проводили с праймерами, синтезированными в ЗАО Евроген (Россия) с использованием мастер-миксов этого же производителя в амплификаторе Терцик (Россия). Последовательности праймеров, условия ПЦР представлены в предыдущей работе [14].

Оценка антибиотикочувствительности. Антибиотикочувствительность оценивали методом серийных микроразведений с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК) в бульоне Cation-Adjusted Mueller Hinton (CAMH) II Broth («Becton Dickinson», США) в соответствии с протоколами CLSI от 2014 и EUCAST (версия 4.0). Были использованы сле-

дующие субстанции антибиотиков («Molekula», Англия): оксациллин (OXA), гентамицин (GEN), эритромицин (ERY), клиндамицин (CLI), ципрофлоксацин (CIP), моксифлоксацин (MFX), тетрациклин (TCY), мупироцин (MUP), фузидиевая кислота (FUS), клорамфеникол (CHL), триметоприм/сульфатомексазол (SXT), даптомицин (DAP), ванкомицин (VAN), рифампицин (RIF). Антибиотики других производителей: линезолид (LNZ) и тигециклин (TGC, «Pfizer», США), цефтаролин (CPT, «AstraZeneca», Англия). Постановку опытов проводили в 96-луночных планшетах (НПО «Медполимер», Санкт-Петербург). В качестве контрольных культур были использованы *S.aureus* ATCC 29213 и *S.aureus* Mu50 (ATCC700699).

Анализ и статистическая обработка данных. При обработке данных на платформе WHONET ver 5.6. рассчитывали следующие параметры: распределение и диапазон МПК, МПК₅₀, МПК₉₀, средняя геометрическая МПК (МПК_Г), количество и процент чувствительных изолятов (S), устойчивых (R), с промежуточной чувствительностью (I). В качестве критериев оценки клинической устойчивости/чувствительности (clinical breakpoint) использовали стандарты CLSI 2014 и EUCAST ver. 4.0. (2014). Для оценки микробиологической резистентности был использован критерий epidemiological cut-off (ECOFF), в соответствии с EUCAST.

Результаты и обсуждение

Распределение изолятов MRSA по источникам выделения и нозологическим формам приведено на рис. 1. Все включённые в исследование *S.aureus* (474 изолята) имели ген *mecA*.

Результаты оценки антибиотикочувствительности, а также распределения МПК к антибиотикам представлены в табл. 1 и 2 соответ-

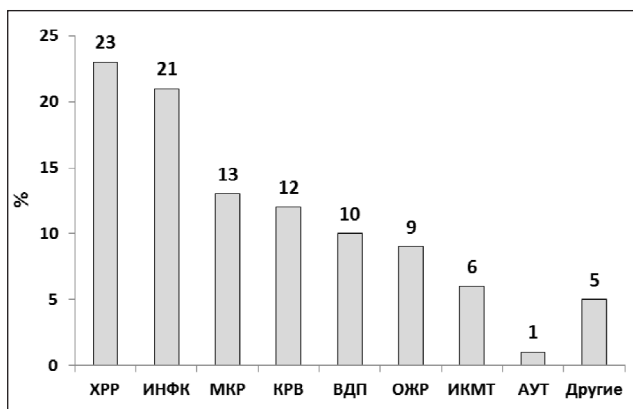


Рис. 1. Распределение изученных изолятов MRSA по источникам выделения.

ХРР — хирургические раны; ИНФК — различные формы инфекций костей (раневое отделяемое); МКР — мокрота (пневмонии); КРВ — кровь (сепсис); ВДП — инфекции верхних дыхательных путей, а также носоглоточное отделяемое у носителей; ОЖР — ожоговые раны; ИКМТ — инфекции кожи и мягких тканей; АУТ — аутопсийный материал.

венно. Ещё раз стоит отметить, что при детекции метициллинорезистентности с использованием оксациллина возможно появление ложной чувствительности, так доля изолятов в настоящем исследовании с МПК < 4 мкг/мл оксацилли-

Зинфоро®

цефтаролина фосамил

Зинфоро® – новый бета-лактам с анти-MRSA активностью:

- анти-MRSA активность при лечении осложненных инфекций кожи и мягких тканей¹
- активен в отношении проблемных штаммов *S.pneumoniae* при внебольничной пневмонии²

Регистрационный номер: ЛП-001912

Торговое название: Зинфоро®

Международное непатентованное название: цефтаролина фосамил

ПОКАЗАНИЯ

Препарат Зинфоро® показан для лечения у взрослых следующих инфекций:

- осложненные инфекции кожи и мягких тканей, вызванные чувствительными штаммами следующих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* (включая метициллин-резистентные штаммы), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* и *Morganella morganii*;
- внебольничная пневмония, вызванная чувствительными штаммами следующих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов: *Streptococcus pneumoniae* (включая случаи, сопровождающиеся бактериемией), *Staphylococcus aureus* (только метициллин-чувствительные штаммы), *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

- Повышенная чувствительность к цефтаролину фосамилю или L-аргинину.
- Повышенная чувствительность к цефалоспорином.
- Тяжелые реакции повышенной чувствительности немедленного типа (например, анафилактическая реакция) на любое другое антибактериальное средство, имеющее бета-лактамную структуру (например, пенициллины или карбапенемы).
- Тяжелая почечная недостаточность (клиренс креатинина (КК) ≤ 30 мл/мин), терминальная стадия почечной недостаточности и пациенты, находящиеся на гемодиализе.
- Детский возраст до 18 лет.

С ОСТОРОЖНОСТЬЮ: судорожный синдром в анамнезе.

ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ

Наиболее частыми нежелательными реакциями, развившимися у ≥ 3% больных, получавших цефтаролин, были диарея, головная боль, тошнота и зуд, которые были обычно слабо или умеренно выраженными. Очень часто (≥ 1/10): положительная прямая проба Кумбса.

Часто (≥ 1/100, < 1/10): диарея, тошнота, рвота, боль в животе, запор, головная боль, головокружение, сыпь, зуд, повышение активности трансаминаз, флебит, брадикардия, гипергликемия, гипокалиемия, лихорадка, реакции в месте инфузии (эритема, флебит, боль).

Перед применением препарата Зинфоро®, пожалуйста, ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению.

* Инструкция по медицинскому применению препарата Зинфоро® (Изменение №1 от 30.07.2014). Регистрационное удостоверение ЛП-001912.

Литература:

1. Louis D. Saravolatz, Gary E. Stein, and Leonard B. Johnson. Ceftazolin: A Novel Cephalosporin with Activity against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clinical Infectious Diseases 2011; 52(9):1156-1163.
2. David J. Farrell, Mariana Castanheira, Rodrigo E. Mendes, Hello S. Sader, and Ronald N. Jones. In Vitro Activity of Ceftazolin Against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*: A Review of Published Studies and the AWARE Surveillance Program (2008-2010). Clinical Infectious Diseases 2012; 55(S3):S206-14.

Дальнейшая информация предоставляется по требованию: ООО «АстраЗенек Фармасьютикалз», Россия 125284 Москва, ул. Беговая, д.3, стр.1. Тел.: +7 (495) 799 56 99, факс: +7 (495) 799 56 98



Таблица 1. Оценка антибактериальной активности 17 антибиотиков в отношении MRSA штаммов, включённых в исследование

АБ ²	Критерии CLSI 2014,			Критерии ¹ EUCAST v. 4.0,		Результаты							
	МКГ/мл			МКГ/мл		CLSI			EUCAST		МПК ₅₀	МПК ₉₀	МПК _{сг}
	S≤	I =	R≥	S≤	R >	S %	I %	R %	S %	R %	МКГ/мл		
OXA	2	—	4	2	2	1,5	—	98,5	1,5	98,5	256	512	122
CIP	1	2	4	1	1	6	2	92	8	92	32	128	25
GEN	4	8	16	1	1	15	—	85	15	85	128	128	47
CHL	8	16	32	8	8	24	5	71	24	76	64	128	37
ERY	0,5	1—4	8	1	2	44	4	52	45	54	32	128	4,5
TCY	4	8	16	1	2	47,5	0,5	52	47	52	16	64	2
MFx	0,5	1	2	0,5	1	16,5	32	52	16,5	52	2	4	1
CLI	0,5	1—2	4	0,25	0,5	55	—	45	54	45	0,03	64	1
RIF	1	2	4	0,06	0,5	62	0,4	38	55	38	0,06	4	0,3
MUP ³	- ^C	—	256	1	1	100	—	—	93	7	0,5	1	0,5
CPT	1	2	4	1	1	95	4,2	0,4	95	5	0,5	1	0,5
DAP	1	- ^D	- ^D	1	1	97	—	—	97	3	1	1	0,7
FUS ⁴	—	—	—	1	1	—	—	—	98	2	0,06	0,25	0,05
SXT ⁵	2	—	4	2	4	93	—	6,5	93	2	0,06	2	0,1
VAN	2	4—8	16	2	2	99	0,6	—	99	0,6	1	2	1
TGC ⁴	—	—	—	0,5	0,5	—	—	—	100	0	0,1	0,2	0,08
LNZ	4	—	8	4	4	100	—	0	100	0	2	2	1,4

Примечание. ¹ — границы промежуточной чувствительности (I) по критериям EUCAST не указываются; ² — антибиотики; ³ — для мупироцина в столбце с критериями EUCAST представлен критерий ECOFF; ⁴ — для фузидиевой кислоты, тигециклина не представлены критерии в CLSI, также не определены границы чувствительности к мупироцину и границы устойчивости к даптомицину; ⁵ — границы указаны относительно концентрации триметоприма.

на составила 2% (критерии CLSI), несмотря на наличие гена *tesA*. В целом, полученные результаты позволяют условно выделить три группы антибиотиков по степени чувствительности к ним. Первая группа — препараты, к которым MRSA проявляют критически высокий уровень устойчивости. Вторая группа препаратов — антибиотики с высокой антимикробной активностью и уровнем устойчивости не более 7%. Третья группа — препараты, к которым не было выявлено устойчивости или снижения чувствительности.

К первой группе следует отнести: ципрофлоксацин (92% устойчивых изолятов), гентамицин (85%), хлорамфеникол (76%), эритромицин (54%), тетрациклин (52%), моксифлоксацин (52%), клиндамицин (45%). По данным многочисленных исследований, проведённых в России и других странах, антибиотики этой условной группы всегда характеризуются высоким уровнем устойчивости среди MRSA. При параллельном анализе чувствительности эритромицина и клиндамицина было выявлено 10% изолятов с индуцибельной устойчивостью к клиндамицину (iMLS), и 45% с конститутивной (сMLS).

К фторхинолонам увеличение уровня устойчивости происходит на протяжении последних 15 лет. Так, если в 2001 доля *S.aureus*, устойчивых к ципрофлоксацину, составляла 32% [13], в 2008 — 41% [11], то в настоящем исследовании — 92%. К моксифлоксацину было устойчиво 83% (%R+%I)

изолятов, но этот антибиотик отличался гораздо более низкими значениями МПК. Так, МПК_{сг} ципрофлоксацина составила 25 мкг/мл против МПК_{сг}, равной 1 мкг/мл, для моксифлоксацина. Чувствительные к фторхинолонам изоляты были выделены в основном из отделяемого верхних дыхательных путей у носителей. К первой группе следует отнести и рифампицин. Следует указывать, что рифампицин в комбинации с другими антибиотиками, рекомендован для терапии некоторых форм инфекций MRSA. Количество устойчивых изолятов к рифампицину возросло с 17 (данные 2001 г. [13]) до 45%. Важность мониторинга уровня устойчивости к рифампицину обусловлена тем, что по принципу «параллельного ущерба» этот признак ряд исследователей рассматривают как предиктор формирования снижения чувствительности к гликопептидам. Устойчивость к этому антибиотику обусловлена мутациями в важнейшем регуляторном гене *groB*, который кодирует бета-субъединицу РНК-полимеразы. Этот же ген участвует и в формировании фенотипов hVISA/VISA [15]. Однако в настоящем исследовании мы не обнаружили зависимости параллельного увеличения МПК к ванкомицину и рифампицину. Частота выявления устойчивости к рифампицину (МПК≥4 мкг/мл) была приблизительно одинаковой как среди ванкомициночувствительных (15%), так и среди изолятов со сниженной чувствительностью к ванкомицину (12%).

Ко второй группе антибиотиков (по степени чувствительности) можно отнести мупироцин,

Таблица 2. Распределение МПК антибиотиков в отношении MRSA (в %)

Антибиотик	МПК, мкг/мл										
	≤0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256≤
Гентамицин	10	3,2	1,9	0,2	0,2	—	—	1,1	3	80,6	—
Ципрофлоксацин	6	1,3	1,3	1,7	4	5,9	11	26,2	24,5	9,1	9,3
Моксифлоксацин	11	5,5	31,9	34,8	12,4	4	0,2	—	0,2	—	—
Эритромицин	40	3,4	1,1	1,5	1,7	1,5	0,4	0,4	0,6	49,2	—
Клиндамицин	54,3	0,2	—	—	—	—	—	—	45,4	—	—
Хлорамфеникол	—	—	0,3	2,1	9,1	12,6	5	7,3	42,5	19,4	1,8
Тетрациклин	45,1	1,7	0,4	0,2	—	0,6	5,5	21,3	25,1	—	—

Антибиотик	МПК мкг/мл										
	≤0,016	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16≤
Ванкомицин	—	0,2	—	—	—	10,1	62,7	26,4	0,6	—	—
Даптомицин	—	0,3	—	—	0,8	35,8	60,6	2,6	—	—	—
Линезолид	—	—	—	0,2	0,2	5,7	43,7	46,8	3,4	—	—
Тигециклин	16,5	6,8	19,8	23,8	25,9	7,2	—	—	—	—	—
Цефтаролин	—	—	0,6	6,3	28,9	33,8	25,7	4,2	0,4	—	—
Ко-тримоксазол	26,5	11,6	22,6	9,3	12,4	3	3	5,1	4,4	0,6	1,5
Фузидиевая к-та	23,5	24,9	17,7	15,4	10,3	5,1	1,1	—	0,6	0,8	0,6
Мупироцин	—	—	—	8	20,3	41,4	23,4	5,5	0,4	—	1,1
Рифампицин	3,6	11,2	40	6,5	0,2	0,2	0,2	0,4	37,8*	—	—

Примечание. Серая заливка — доля изолятов, проявляющих микробиологическую устойчивость в соответствии с критериями EUCAST ECOFF; * — для рифампицина максимальное значение в ряде разведений было 4 мкг/мл.

цефтаролин, триметоприм/сульфаметоксазол, фузидиевую кислоту, даптомицин и ванкомицин. Критерием включения ванкомицина во вторую группу стал высокий уровень изолятов с МПК 2 мкг/мл. Эффект повышения уровня МПК ванкомицина в стафилококковой популяции на протяжении какого-то периода времени называют «MIC creep» («сползание МПК») [16]. Такое явление регистрируется во многих странах мира, однако параллельно существуют и исследования, опровергающие этот эффект [17, 18]. Изменения чувствительности стафилококков к гликопептидам носит сложный характер, включающий как генотипические особенности изолята (и популяции), так и степень потребления антимикробных препаратов. Сравнивая результаты Российских многоцентровых исследований, можно сделать вывод, что уровень MRSA с МПК 2 мкг/мл повысился в последние годы. Например, в конце 90 — начале 2000 годов доля таких изолятов составляла 1 — 5% [11, 13], в 2012 г этот показатель составил 7% [12], в нашем исследовании это доля возросла до 26%. MRSA с МПК ванкомицина 2 мкг/мл выделялись практически при всех нозологических формах, статистически значимых различий в частоте выделения таких изолятов из различных источников выявлено не было. Другие аспекты снижения чувствительности к ванкомицину (а также и даптомицину) были подробно рассмотрены нами ранее в работе [14].

Оценивая распределение изолятов по МПК фузидиевой кислоты, ко-тримоксазола и мупироцина, стоит отметить, что подавляющая часть

популяции относится к дикой (ECOFF критерий), что подчёркивает возможность использования этих препаратов в комбинации с другими антибиотиками (табл. 2). Цефтаролин показал высокий уровень антимикробной активности. Однако вызывает опасение тот факт, что, ещё не имея широкого клинического применения в России, уже выявляются изоляты (5%) со сниженной чувствительностью (2—4 мкг/мл). Также отмечается, что увеличение МПК цефтаролина связано с увеличением МПК оксациллина. В частности, не чувствительные к цефтаролину изоляты имели МПК оксациллина 512 мкг/мл и более. Все цефтаролиноустойчивые изоляты были выделены от пациентов с тяжёлыми инвазивными формами стафилококковых инфекций.

В третью группу (по степени чувствительности) вошли два препарата — это линезолид и тигециклин, которые имели соответственно диапазон МПК 0,12—4 мкг/мл и 0,016—0,5 мкг/мл, и при оценке распределения МПК (критерий ECOFF) все изоляты характеризовались как дикие.

Для характеристики профилей резистентности нами были выбраны все антибиотики за исключением хлорамфеникола, тигециклина, ванкомицина и линезолида. В качестве критериев резистентности были выбраны рекомендации EUCAST. Часто встречающиеся варианты комбинаций устойчивости к антибиотикам (фенотипы R и I) представлены на рис. 2. Всего было выявлено 70 вариантов комбинаций устойчивости, которые в среднем покрывали 3—7 групп препаратов. Например, 12% изолятов характе-

ризовались фенотипом устойчивости: OXA-GEN-CIP-MXF-ERY-CLI-TET-RIF. Изоляты с устойчивостью более чем к 8 группам препаратов составили 6%. Из них можно привести следующие примеры: OXA-GEN-CIP-MXF-ERY-CLI-TET-RIF-SXT-MUP (0,5%), OXA-GEN-CIP-MXF-ERY-CLI-TET-RIF-FUS-CPT (0,2%). Также были определены нехарактерные для MRSA профили резистентности, например, фенотипы с устойчивостью только к оксациллину (1%), или к оксациллину с одним ещё каким-либо антибиотиком (6%). Преимущественно такие изоляты были выделены при не инвазивных формах. Используя критерии для оценки мультирезистентности [19], нами не было выявлено изолятов MRSA, характеризующихся XDR (extensively drug-resistant) фенотипом, все изоляты были чувствительны хотя бы к двум группам препаратов, используемых для терапии. Мы не обнаружили прямой зависимости профиля резистентности от нозологии и источника выделения MRSA.

Закключение

Проведённое исследование отражает современное состояние уровня антибиотикочувствительности MRSA, циркулирующих на территории России. Несмотря на серьёзность инфекций, вызываемых этим патогеном, уровень устойчивости к разным антибиотикам нельзя считать критическим. Высокая доля резистентных изолятов сохраняется к таким группам антибиотиков, как фторхинолоны, аминогликозиды, макролиды, линкозамиды и фениколы. Такие антибиотики, как триметоприм/сульфаметоксазол, фузидиевая кислота, мупироцин, линезолид, тигециклин, проявляли выраженный антимикробный эффект в отношении MRSA. Новые препараты — даптомицин и

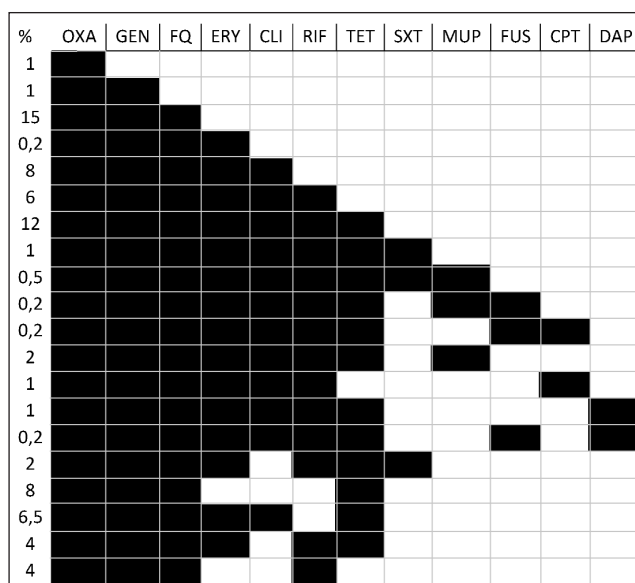


Рис. 2. Профили резистентности изучения изолятов MRSA по критериям EUCAST (представлены не все фенотипы).

Обозначения: черная заливка — устойчивость к антибиотик, нет заливки — чувствительность; FQ — фторхинолоны.

цефтаролин, несмотря на снижение чувствительности у единичных изолятов, также могут рассматриваться как альтернатива гликопептидам. Определённые опасения вызывает ситуация с увеличением количества изолятов с МПК 2 мкг/мл ванкомицина, и необычно высоким уровнем устойчивости к рифампицину (38%). Последний факт может отражать процесс формирования генотипов со сниженной чувствительностью к гликопептидам, примером подобной ситуации является Япония, где впервые были описаны VISA.

ЛИТЕРАТУРА

1. CDC MRSA Statistics. Available from: <http://www.cdc.gov/mrsa/statistics/index.html>.
2. Howden B.P. et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. Clin Microbiol Rev 2010; 23: 1: 99—139.
3. EARS-Net database. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/database.aspx>.
4. Kock R. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. Euro Surveill 2010; 15: 41: 19688.
5. Zhanel G.G. et al. New lipoglycopeptides: a comparative review of dalbavancin, oritavancin and telavancin. Drugs 2010; 70: 7: 859—886.
6. van Hal S.J., Paterson D.L. New Gram-positive antibiotics: better than vancomycin? Curr Opin Infect Dis 2011; 24: 6: 515—520.
7. Ageevets V.A. et al. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. Int J Antimicrob Agents 2014; 44: 2: 152—155.
8. Akatov A.K., Zueva V.S. Staphylococcus. AMS USSR, Moscow: Meditsina. 256.
9. Musina L.T. et al. Epidemiological surveillance of hospital infections induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Zh Mikrobiol 1995; 5: 64—67.
10. Сидоренко С.В., Резван С.П., Грудинина С.А., Кротова Л.А., Стерхова Г.В. Результаты многоцентрового исследования чувствительности стафилококков к антибиотикам в Москве и Санкт-Петербурге. Антибиотики и химиотер 1998; 43: 7: 15—25.
11. Дехнич А.В. и др. Эпидемиология резистентности штаммов *S.aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ Российских стационаров: результаты многоцентрового исследования. KMAX 2008; 10: 4: 333—344.
12. Sukhorukova M.V. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates in Russia: results of national multicenter surveillance study «MARATHON» 2011—2012 CMAC, 2014; 16: 4: 280—286.
13. Дехнич А.В. и др. Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в России: результаты многоцентрового исследования. KMAX 2002; 4: 4: 325—336.

14. Гостев В.В., Попенко Л.Н., Черенькая Т.В., Науменко З.С., Ворошилова Т.М., Захарова Ю.А., Хохлова О.Е., Круглов А.Н., Еришова М.Г., Ангелова С.Н., Полетаева Е.Д., Молчанова И.В., Сидоренко С.В. Оценка чувствительности MRSA к оксациллину, цефотаксиму, ванкомицину и даптомицину. Антибиотики и химиотер 2013; 58: 9—10: 13—20.
15. Watanabe Y. et al. Impact of *rpoB* mutations on reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2011; 49: 7: 2680—2684.
16. Dhand A., Sakoulas G. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. F1000 Med Rep 2012; 4: 4.
17. Edwards B. et al. Is vancomycin MIC «creep» method dependent? Analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* susceptibility trends in blood isolates from North East Scotland from 2006 to 2010. J Clin Microbiol 2012; 50: 2: 318—325.
18. Joana S. et al. Is vancomycin MIC creep a worldwide phenomenon? Assessment of *S.aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. BMC Res Notes 2013; 6: 65.
19. Magiorakos A.P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 3: 268—281.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гостев Владимир Валерьевич — к.б.н., научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Калиногорская Ольга Серафимовна — к.м.н., научный сотрудник отдела микрoэкологии человека, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Попенко Любовь Николаевна — заведующая лабораторией бактериологии, Государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе»

Черенькая Татьяна Витальевна — к.м.н., руководитель отдела клинической микробиологии, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

Науменко Зинаида Степановна — заведующая научно-клинической лабораторией микробиологии и иммунологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курган

Ворошилова Татьяна Михайловна — заведующая лабораторией бактериологических исследований Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» Министерства Российской Федера-

ции по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, Санкт-Петербург

Захарова Юлия Александровна — д.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией, Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Пермский клинический центр ФМБА России»

Хохлова Ольга Евгеньевна — к.б.н., доцент кафедры микробиологии им. Б.М.Зельмановича, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Круглов Александр Николаевич — к.м.н., заведующий лабораторией микробиологии, ООО «Национальное агентство клинической фармакологии и фармации»

Еришова Марина Геннадьевна — заведующая клинико-бактериологической лабораторией, Государственное учреждение здравоохранения Ярославской области Инфекционная клиническая больница №1, Ярославль

Молчанова Ирина Витальевна — заведующая Лабораторией клинической микробиологии, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства».

Антибиотикорезистентность и серотиповый состав *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у детей в Санкт-Петербурге в 2010—2013 гг.

О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ, С. С. БЕЛАНОВ, М. О. ВОЛКОВА, В. В. ГОСТЕВ, С. В. СИДОРЕНКО

НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

Antibiotic Resistance and Serotype Pattern of *Streptococcus pneumoniae* Isolated from Children in St. Petersburg in 2010—2013

O. S. KALINOGORSKAYA, S. S. BELANOV, M. O. VOLKOVA, V. V. GOSTEV, S. V. SIDORENKO

Research Institute of Children's Infections, St. Petersburg

Наблюдение за серотиповым составом и уровнем антибиотикорезистентности *S. pneumoniae*, циркулирующих в отдельных географических регионах, необходимо для обоснования рациональной этиотропной терапии пневмококковых инфекций и выбора оптимальных вакцинных препаратов для их профилактики. В исследование были включены 250 изолятов *S. pneumoniae*, выделенных в Санкт-Петербурге от детей с острым отитом, пневмонией, а также здоровых носителей в течение 2010—2013 годов. Анализ серотипового состава пневмококков показал, что наибольший охват обеспечивает 13-валентная конъюгированная вакцина (86,1% пневмококков, вызывающих пневмонию и 86,4% — вызывающих острый отит). У изученных изолятов выявлен высокий уровень антибиотикорезистентности к бета-лактамам и макролидам. По критериям EUCAST снижение чувствительности к пенициллину наблюдали у 32,4% изолятов, к цефотаксиму — у 14%, к эритромицину — у 33,2%, к цефтаролину наблюдалось наименьшее количество изолятов со сниженной чувствительностью — 6%. У 22,4% изолятов выявлялась ассоциированная устойчивость к пенициллину и эритромицину. Устойчивости к моксифлоксацину выявлено не было. Частота устойчивости к тетрациклину, ко-тримоксазолу и хлорамфениколу среди изолятов, выделенных у различных категорий пациентов, колебалась в пределах 30—50%. Распространение антибиотикорезистентности было наиболее характерно для изолятов, относившихся к серотипам 19A, 19F, 14 и серогруппе 6.

Ключевые слова: *S. pneumoniae*, дети, антибиотикорезистентность, серотиповый состав.

The surveillance of the serotype pattern and antibiotic resistance of *S. pneumoniae* in various geographical regions is required for the validity of rational etiotropic therapy of pneumococcal infections and the choice of the optimal vaccines for their prophylaxis. 250 *S. pneumoniae* isolates from children with acute otitis or pneumonia and healthy carriers in St. Petersburg in 2010—2013 were investigated. The analysis of the serotype pattern of the pneumococci showed that 13-valent conjugate vaccine was the most active (86.1% of pneumococci causing pneumonia and 86.4% of pneumococci causing acute otitis). The isolates were highly resistant to beta-lactams and macrolides. By the EUCAST criteria, the decrease in the susceptibility to penicillin, cefotaxime, erythromycin and ceftarolin was observed in 32.4%, 14%, 33.2 and 6% of the isolates respectively. 22.4% of the isolates showed associated resistance to penicillin and erythromycin. No resistance to moxifloxacin was detected. The frequency of resistance to tetracycline, co-trimoxazole and chloramphenicol in various patients ranged within 30—50%. The prevalence of the antibiotic resistance was mainly characteristic of the isolates serotypes 19A, 19F, 14 and serogroup 6.

Key words: *S. pneumoniae*, children, antibiotic resistance, serotype pattern.

Введение

Заболевания, вызываемые *Streptococcus pneumoniae*, являются актуальной проблемой для глобальной системы здравоохранения. Пневмококковые инфекции принято разделять на локализованные, или мукозальные (острый средний отит и синусит), и инвазивные (менингит и бактериемия без явного очага). Одна из наиболее важных пневмококковых инфекций — пневмо-

ния, она может быть как локализованной, так и инвазивной. К редким пневмококковым инфекциям относят артриты, инфекции кожи и мягких тканей, мочевыводящих путей, эндокардиты.

Внедрение в начале 40-х годов прошлого столетия в медицинскую практику пенициллина принципиально изменило течение пневмококковых инфекций. Средняя летальность при пневмококковых пневмониях после начала применения пенициллина снизилась с 30—35% до 5—8% [1]. Однако появление в 60-х годах XX века пневмококков со сниженной чувствительностью к пенициллину [2] и другим антибиотикам, их последую-

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 197022 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.9. НИИ детских инфекций

шее распространение поставило эффективность антибактериальной терапии под угрозу. При детальном изучении этой проблемы было установлено, что формирование микробной устойчивости к антибиотикам не всегда коррелирует с неудачами лечения. Умеренное снижение чувствительности к бета-лактамам не приводило к неудачам [3], в случае же с макролидами устойчивость была непосредственно связана с их неэффективностью [4]. Эти данные, а также фармакодинамические расчёты привели к пересмотру ведущими международными организациями CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institution — Институт клинических и лабораторных стандартов) [5] и EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing — Европейский комитет по оценке антибиотикочувствительности) [6] критериев чувствительности пневмококков к антибиотикам. К сожалению, до сих пор между критериями, предлагаемыми указанными организациями, сохраняются определённые различия, что существенно затрудняет практическую работу. Так, даже в терминологии между этими организациями существуют различия. Характеризуя категорию устойчивости, CLSI использует термин МПК $\geq$ (больше или равно), а EUCAST — МПК $>$ (больше), что по сути более правильно, так как из-за дискретности метода серийных разведений истинное значение МПК находится в промежутке между концентрацией, при которой наблюдают подавление видимого роста, и концентрацией в 2 раза меньшей, при которой видимый рост ещё сохраняется.

В эпидемиологии антибиотикоустойчивых пневмококков значительные изменения произошли после начала массового применения пневмококковых конъюгированных вакцин. Указанные вакцины обеспечивают защиту не только взрослых, но и детей от серотипов пневмококков, вызывающих наиболее тяжёлые инвазивные инфекции. В США через 8 лет после внедрения в практику 7-валентной конъюгированной вакцины частота устойчивости к пенициллину в различных возрастных группах снизилась на 45–64% за счёт элиминации из циркуляции антибиотикоустойчивых серотипов, входящих в состав вакцины, но в то же время наблюдали быстрое распространение антибиотикоустойчивых «невакцинных» серотипов, прежде всего серотипа 19A [7]. Последующее внедрение в практику 13-валентной вакцины, в состав которой входит серотип 19A, привело к 2011 г. к снижению его роли, но появилась тенденция к распространению других антибиотикоустойчивых серотипов (35B, 6C, 23A) [8]. Распространение антибиотикоустойчивого серотипа 19A наблюдали после начала применения 7-валентной вакцины и в других регионах [9]. В целом следует признать, что согласно опыту США, со-

временные антипневмококковые вакцины могут приводить к временному снижению частоты антибиотикоустойчивых штаммов, но не обеспечивают длительного и стабильного снижения уровня антибиотикорезистентности пневмококков [10, 11].

В Российской Федерации антипневмококковая вакцинация включена в Национальный календарь прививок в 2014 г., при этом для применения разрешены 10- и 13-валентные конъюгированные вакцины. Учитывая накопленный международный опыт, есть все основания предполагать, что в Российской Федерации по мере увеличения контингента привитых будут происходить изменения в уровне антибиотикочувствительности и серотиповом составе пневмококков.

Целью настоящей работы была оценка антибиотикорезистентности и серотипового состава *S.pneumoniae*, выделенных от больных с острым средним отитом, пневмонией, а также от здоровых носителей. Кроме того, в связи с переходом бактериологических лабораторий Российской Федерации на критерии EUCAST, было признано целесообразным проанализировать полученные результаты с использованием двух систем интерпретации (EUCAST и CLSI).

Материал и методы

Пациенты и изоляты. В исследование были включены изоляты *S.pneumoniae*, выделенные в период с 2010 по 2013 гг. в бактериологической лаборатории НИИ детских инфекций (Санкт-Петербург) от детей в возрасте до 18 лет. Источниками выделения *S.pneumoniae* при менингите была спинномозговая жидкость; при пневмонии — мокрота и материал бронхоальвеолярного лаважа; при остром отите — жидкость среднего уха, полученная при парацентезе; при носительстве — мазки из носоглотки, при синусите — содержимое придаточных пазух, полученное при пункции.

Выделение и идентификация *S.pneumoniae*. Для первичного посева биологического материала использовали Колумбийский агар (bioMérieux, Франция) с добавлением 5% бараньей крови. Инкубация проводилась в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 (3–7 %) при температуре 35°C в течение 24 ч. Идентификацию пневмококков проводили на основе характерной морфологии колоний на кровяном агаре, наличия α -гемолиза, чувствительности к оптохину, лизиса в 10% растворе дезоксихолата натрия (Sigma, США) и/или положительных результатов латекс-агглютинации с использованием набора Slidex Pneumo-Kit (bioMérieux, Франция). После идентификации изоляты хранили в криопробирках (DELTALAB, Испания) при температуре -80°C.

Оценка антибиотикочувствительности. Для оценки антибиотикочувствительности определяли МПК антибактериальных препаратов методом серийных микроразведений в бульоне по рекомендациям CLSI [12]. В один ряд лунок микротитровальных планшетов (НПО Медполимер, Санкт-Петербург), вносили растворы антибиотиков в бульоне Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted) (Becton Dickinson, США), а затем в последующих лунках готовили двукратные серийные разведения с таким расчётом, чтобы после инокуляции получить в них заданные концентрации. Для приготовления растворов использовали субстанции следующих антибиотиков с известной активностью: эритромицин (ERY), клиндамицин (CLY), левофлоксацин (LVX), моксифлоксацин (MXF), тетрациклин (TCY), хлорамфеникол (CHL), ко-

тримоксазол (SXT), имипенем (IMP), меропенем (MEM), эртапенем (ETR), цефотаксим (CTX) производства Molekula, Великобритания; пенициллин (PEN) и амоксициллин (AMX) производства Sigma; а также цефтаролин (CPT) производства AstraZeneca, Великобритания.

Для инокуляции использовали суспензию из суточных культур изолятов *S.pneumoniae*, выращенных на кровяном агаре. Суспензию готовили в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия, концентрацией 0,5 по стандарту McFarland, далее полученную микробную взвесь разводили бульоном Mueller Hinton II Broth (Cation-Adjusted) (Becton Dickinson, США) с добавлением 5% лизированной крови лошади таким образом, чтобы при инокуляции конечная концентрация бактерий в лунках планшетов составила 5×10^5 КОЕ/мл. После этого планшеты инкубировали при температуре 35°C в течение 20–24 ч в обычных атмосферных условиях. При каждом определении чувствительности для контроля качества использовали штамм, рекомендованный CLSI — *S.pneumoniae* ATCC 49 619. За МПК принимали минимальную концентрацию антибиотиков, вызывающих подавление видимого роста бактерий. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с критериями CLSI [5] и EUCAST [6] 2014 года.

При анализе результатов выделяли категорию «нечувствительных» изолятов, в которую включали изоляты, относившиеся к «промежуточным» и «устойчивым».

Серотипирование. ПЦР-типирование ДНК из культур пневмококков проводили методом, описанным в работе [13], с учётом модификаций условий амплификации и последовательностей праймеров, приведённых на сайте Центров по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and prevention — CDC, США). (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/pcr.htm>). Использовали амплификатор «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Продукты амплификации детектировали в 2 % агарозном геле (Sigma, США) с последующей визуализацией бромистым этидием (Merk, Германия) при УФ-излучении ($\lambda=310\text{nm}$) в трансиллюминаторе Molecular Imager® Gel Doc XR System (Bio-Rad, США). Размеры ПЦР-продуктов определяли сравнением с маркером молекулярного веса ДНК (100 bp DNA Ladder; Fermentas, Литва).

Полученная в ходе исследования информация хранилась на бумажных носителях в виде протоколов исследования, а также в виде базы данных с использованием программы WHONET 5.6 (World Health Organization, Швейцария).

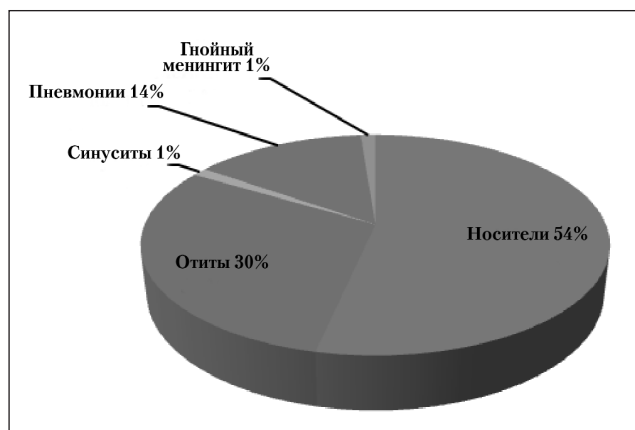


Рис. 1. Распределение изолятов *S.pneumoniae* по нозологическим формам пневмококковых инфекций, %.

Результаты исследований

Распределение изолятов по источникам выделения. В исследование включено 250 изолятов *S.pneumoniae*, выделенных в Санкт-Петербурге в период с 2010 по 2013 г. у детей с различными формами пневмококковых инфекций, а также при здоровом носительстве. Распределение изолятов по нозологическим формам приведено на рис. 1.

Учитывая незначительное количество изолятов, выделенных при синусите и менингите, для дальнейшего анализа изоляты выделенные при отите и синусите были объединены в одну группу, в другую группу были объединены изоляты, выделенные при пневмонии и менингите.

Серотиповый состав *S.pneumoniae*. Серотиповый состав *S.pneumoniae*, выделенных при пневмококковых инфекциях и у здоровых носителей, представлен в табл. 1. Как следует из приведён-

Таблица 1. Серотиповый состав *S.pneumoniae*, выделенных при здоровом носительстве и пневмококковых инфекциях

Серотипы	Пневмония		Отиты, синуситы		Носители		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
6A/B/C	6	16,7	12	14,8	27	20,3	45	18,0
9V/I	1	2,8	3	3,7	5	3,8	9	3,6
14	4	11,1	1	1,2	1	0,8	6	2,4
18A/B/C	0	0	1	1,2	1	0,8	2	0,8
19F	4	11,1	22	27,2	25	18,8	51	20,4
23F	10	27,8	7	8,6	21	15,8	38	1,2
Всего ПКВ7	25	69,4	46	57,8	80	60,2	151	60,4
1	2	5,6	0	0	0	0	2	0,8
Всего ПКВ10	27	75	46	57,8	80	60,2	153	61,2
3	2	5,6	17	21,0	5	3,8	24	9,6
19A	2	5,6	7	8,6	2	1,5	11	4,4
Всего ПКВ13	31	86,1	70	86,4	87	65,4	188	75,2
8	0	0	2	2,5	0	0	2	0,8
10A	0	0	0	0	1	0,8	1	0,4
12F	0	0	0	0	2	1,5	2	0,8
15	0	0	0	0	2	1,5	2	0,8
17F	0	0	0	0	1	0,8	1	0,4
34	0	0	1	1,2	0	0	1	0,4
35F	1	2,8	0	0	0	0	1	0,4
n/t	4	11,1	8	9,9	39	29,3	51	20,4
Всего	36	100,0	81	100,0	133	100,0	250	100,0

Таблица 2. Антибиотикочувствительность *S.pneumoniae*, выделенных при здоровом носительстве и пневмококковых инфекциях

Антибиотик	Критерии	У/Ч	Пневмония (n=36)			Отиты (n=80)			Носительство (n=134)			Всего (n=250)		
			У	П	Ч	У	П	Ч	У	П	Ч	У	П	Ч
Пенициллин	EUCAST	>2/≤0,06	16,7	27,8	55,6	7,5	16,2	76,2	9,0	25,4	65,6	9,6	22,8	67,6
	CLSI	≥8/≤2	2,8	13,9	83,3	2,5	5,0	92,5	4,5	4,5	91,0	3,6	6,0	90,4
Амоксициллин	CLSI	≥8/≤2	2,8	2,8	94,4	2,5	1,3	96,2	1,5	3,7	96,8	2,0	2,8	95,2
Ампициллин	EUCAST	>2/≤0,5	—	—	—	4,3	10,0	85,7	—	—	—	4,3	10,0	85,7
	EUCAST	>2/≤0,5	2,8	19,4	77,8	1,2	1,2	97,6	0,7	10,5	88,5	1,2	12,8	86,0
Цефотаксим	CLSI	≥4/≤1	2,8	8,3	88,9	1,2	0	98,8	0,7	1,5	97,8	1,2	2,0	96,8
	EUCAST	>0,25/≤0,25	11,1	0	88,9	9,9	0	90,1	2,3	0	97,7	6,0	0	94,0
Цефтаролин	CLSI	/≤0,5	2,8	0	97,2	3,8	0	96,2	0	0	100,0	1,6	0	98,4
	EUCAST//CLSI	>0,5/≤0,25/≥1/≤0,25	30,6	2,8	66,7	21,2	1,2	77,5	37,3	2,2	60,5	31,2	2	66,8
Эритромицин	EUCAST//CLSI	>0,25/≤0,5/≥1/≤0,25	13,9	0	86,1	8,8	0	91,2	18,7	0	81,3	14,8	0	85,2
Клиндамицин	EUCAST//CLSI	>0,5/≤0,5/≥4/≤1	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0	0	0	100,0
Моксифлоксацин	EUCAST//CLSI	>2/≤1/≥4/≤1	41,7	2,8	55,5	30,0	10,0	60,0	32,8	3,0	64,2	33,2	5,2	61,6
Тетрациклин	EUCAST//CLSI	>2/≤1/≥4/≤0,5	37,5	33,0	29,2	28,8	34,6	36,5	38,7	21,0	40,3	34,8	28,2	37,0
Ко-тримоксазол	EUCAST//CLSI	>8/≤8/≥8/≤4	47,2	0	52,8	38,0	0	62,0	50,7	0	49,3	46,2	0	53,8
Хлорамфеникол	EUCAST//CLSI													

Примечание. У — устойчивость; Ч — чувствительность; П — промежуточная чувствительность.

ных материалов, серотиповый состав *S.pneumoniae*, выделенных в различных ситуациях, несколько различался. При пневмонии доминировали серотип 23F и серогруппа 6A/B/C, далее с равной частотой следовали серотипы 14 и 19F. При ОСО наиболее частым был серотип 3, далее следовали серотип 19F и серогруппа 6A/B/C. При носительстве чаще всего выделяли серогруппу 6A/B/C и серотипы 19F и 23F. При носительстве достаточно большую часть штаммов не удалось типировать (29,3%).

Таким образом, доминирующими в изученной популяции пневмококков во всех группах пациентов и здоровых носителей оказались серотипы/серогруппы 19F, 6A/B/C и 23F. В различных группах детей различалась лишь их относительная значимость. Наибольшие различия касаются роли серотипа 3 в различных группах: при ОСО на его долю приходится 21%, а при носительстве и пневмонии — 3,8% и 5,6% соответственно.

Охват серотипов пневмококков, циркулирующих среди детей в Санкт-Петербурге, вакцинами ПКВ7 и ПКВ10 существенно не различался и составлял приблизительно 60%, только при пневмонии уровень охвата ПКВ10 был несколько выше и составил 75%. ПКВ13 по охвату демонстрировала явные преимущества по сравнению с другими вакцинами, при пневмонии и отите этот показатель составил приблизительно 86,0%, а при носительстве был несколько ниже (75%).

При этом следует отметить, что представленные данные по охвату серотипов для ПКВ7 и ПКВ10 несколько завышены, так как предполагают охват этими вакцинами всех серотипов серогруппы 6. Указанное допущение было принято из-за невозможности дифференцировать с помощью использованных методов отдельные серотипы внутри серогруппы 6. На самом деле охват се-

ротипов 6A и 6B обеспечивает только ПКВ13, ПКВ7 и ПКВ10 охватывают только серотип 6B.

Антибиотикорезистентность *S.pneumoniae*

Характеристика антибиотикочувствительности *S.pneumoniae*, выделенных при здоровом носительстве и при пневмококковых инфекциях, приведена в табл. 2.

Резистентность *S.pneumoniae* к бета-лактамам

Пенициллин. Несмотря на то что в клинической практике России для лечения респираторных инфекций, прежде всего пневмонии, пенициллин применяется неоправданно редко, антибиотик сохраняет свое значение как индикаторный препарат для выявления микробиологической устойчивости к бета-лактамам. Для детального анализа устойчивости пневмококков к пенициллину на рисунке 2 приведено распределение МПК антибиотика в отношении всех включённых в исследование изолятов, а также значения критериев чувствительности, предлагаемые EUCAST и CLSI.

Идеология EUCAST предполагает чёткое разграничение микробной и клинической чувствительности/устойчивости. Основным параметром, отделяющим «дику» (лишённую приобретённой устойчивости) популяцию от микробиологически устойчивой, является «эпидемиологическая точка отсечения». Для пенициллина в отношении *S.pneumoniae* за «эпидемиологическую точку отсечения» принята МПК, равная 0,06 мкг/мл. К микробиологически устойчивой популяции относились 32,4% изученных изолятов.

EUCAST и CLSI декларируют, что для обоснования критериев клинической чувствительности/устойчивости они используют данные об активности антибиотиков *in vitro*, результаты

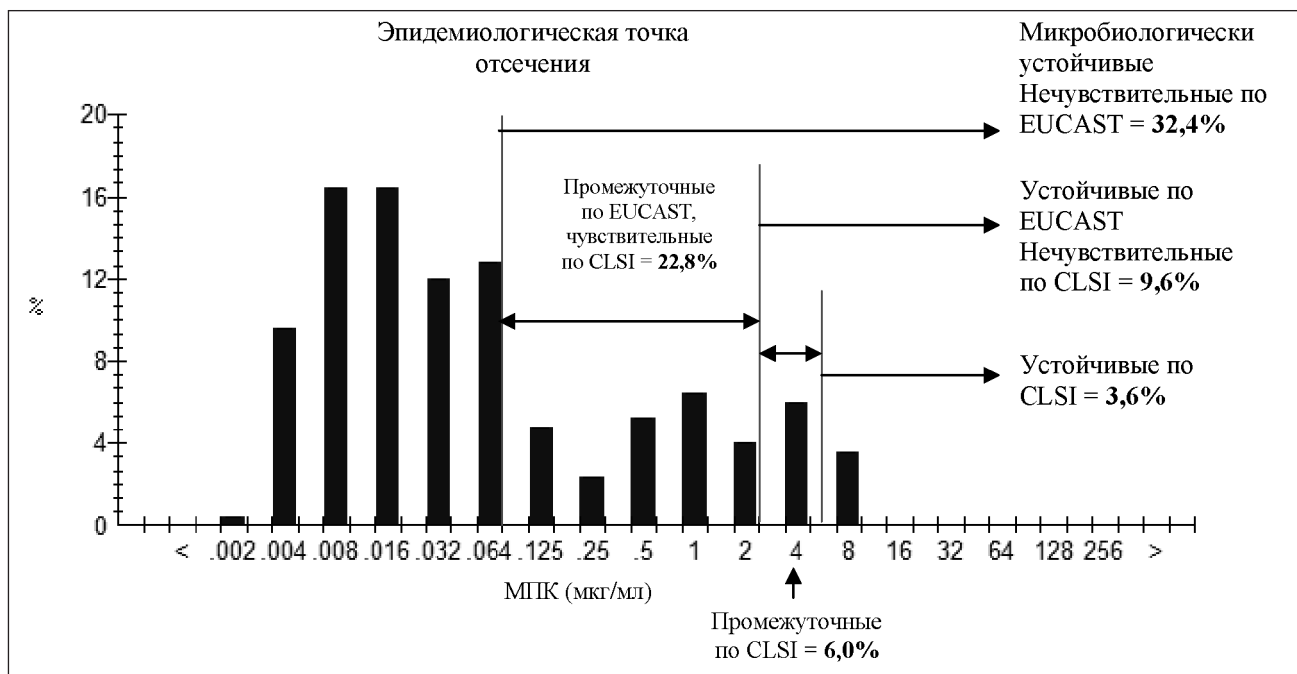


Рис. 2. Распределение МПК пенициллина в отношении *S.pneumoniae*, и интерпретация результатов оценки их чувствительности с применением критериев EUCAST и CLSI.

фармакодинамического моделирования и клинических наблюдений, однако лишь EUCAST приводит конкретные данные. Так, клинические критерии чувствительности к пенициллину обоснованы в документе European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Benzylpenicillin: Rationale for the EUCAST clinical breakpoints, version 1.0 <http://www.eucast.org>. Общим для EUCAST и CLSI является использование различных критериев для изолятов, полученных при менингите и при инфекциях другой локализации. *S.pneumoniae*, выделенные при менингите, считаются устойчивыми к пенициллину при МПК > 0,06 мкг/мл, в исследованной выборке таких изолятов оказалось 32,4 %. К полученным результатам следует относиться с осторожностью, прогнозировать уровень резистентности к пенициллину пневмококков, вызывающих менингит, вряд ли возможно, поскольку практически все изученные изоляты были выделены при респираторных инфекциях.

Согласно критериям EUCAST пневмококки, выделенные при инфекциях, отличных от менингита, относятся к промежуточным при значениях МПК от >0,06 до 2,0 мкг/мл включительно, а к устойчивым — при МПК > 2,0 мкг/мл. Изолятов с такими параметрами выявлено 22,8 и 9,6% соответственно. Учитывая широкие возможности по варьированию доз пенициллина в процессе лечения, EUCAST конкретизирует рекомендации по дозированию антибиотика при пневмонии в зависимости от чувствительности возбудителя. При лечении пневмонии, вызванной *S.pneumoniae* с МПК ≤ 0,5 мкг/мл возможно использовать пенициллин в суточной 7,7 млн ЕД. При МПК возбу-

дителя ≤ 1,0 мкг/мл рекомендуется суточная доза 11,4—15,4 млн ЕД, а при МПК ≤ 2,0 мкг/мл необходима доза до 24 млн ЕД.

CLSI не выделяет отдельных категорий микробной и клинической устойчивости и относит все изоляты с МПК ≤ 2,0 мкг/мл к категории чувствительных, но в комментарии указывает, что для лечения пневмококковых инфекций с указанным уровнем чувствительности возбудителя необходимо использовать дозу пенициллина не менее 12 млн ЕД в сутки. По критериям CLSI при МПК пенициллина 4,0 мкг/мл изоляты относят к промежуточным, для лечения вызванных ими инфекций необходимо использовать антибиотик в дозе 18—24 млн ЕД в сутки, указанный уровень устойчивости был выявлен у 6,0% изолятов. В отношении 3,6% изолятов МПК пенициллина составила 8,0 мкг/мл, по критериям CLSI они были отнесены к устойчивым.

Очевидно, что критерии EUCAST по сравнению с критериями CLSI являются более жесткими, однако, скорее всего, они позволяют с большей достоверностью прогнозировать эффективность лечения, что имеет неоспоримое практическое значение. Так, среди изолятов, выделенных от пациентов с пневмонией, по критериям EUCAST устойчивыми были 16,7%, а по критериям CLSI только 2,8%. Уровень устойчивости среди изолятов, выделенных при остром отите, был существенно ниже и составил по критериям EUCAST и CLSI соответственно 7,5 и 2,5% изолятов. При этом необходимо отметить, что парентеральное применение пенициллина для лечения пневмококковых инфекций верхних дыхательных путей, в частности острого отита, нецелесообразно.

Амоксициллин. Интерпретация результатов оценки чувствительности *S.pneumoniae* к аминопенициллинам также связана с определёнными трудностями. CLSI предлагает одинаковые критерии чувствительности к амоксициллину и амоксициллину/клавуланату, согласно этим критериям 2,0 % изученных изолятов относились к категории устойчивых (МПК $\geq 8,0$ мкг/мл), 2,8% — к промежуточным (МПК 4,0 мкг/мл). Существенных различий в частоте снижения чувствительности к амоксициллину среди *S.pneumoniae*, выделенных при различных инфекциях и у здоровых носителей, не выявлено. Каких-либо комментариев по использованию аминопенициллинов для лечения пневмококковых инфекций CLSI не приводит.

EUCAST до настоящего времени не разработал критерии чувствительности к амоксициллину, амоксициллину/клавуланату и ампициллину/сульбактаму. Для оценки чувствительности к перечисленным антибиотикам предлагается использовать результаты определения МПК ампициллина. В 2015 г. к клиническим критериям чувствительности пневмококков к бета-лактамам EUCAST был добавлен комментарий, согласно которому при инфекциях, вызванных изолятами с промежуточной чувствительностью к ампициллину, следует избегать перорального назначения ампициллина, амоксициллина и амоксициллина/клавуланата (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2015. <http://www.eucast.org>). Каких-либо обоснований данной рекомендации EUCAST не приводит. Согласно критериям EUCAST, пневмококки относят к чувствительным к ампициллину при МПК $\leq 0,5$ мкг/мл, к промежуточным — при МПК 1,0–2,0 мкг/мл, к устойчивым — при МПК $> 2,0$ мкг/мл. В рамках данного исследования МПК ампициллина была определена в отношении 70 изолятов, полученных от пациентов с острым отитом, среди них 14,3% относились к промежуточным и устойчивым.

Цефотаксим. Различия в критериях чувствительности к цефотаксиму по EUCAST и CLSI незначительны. В обеих системах изоляты считаются устойчивыми при МПК $> 2,0$ мкг/мл. К чувствительным по EUCAST относятся изоляты при МПК $\leq 0,5$ мкг/мл, а по CLSI — при МПК $\leq 1,0$ мкг/мл. Таким образом, частота устойчивых среди всех изолятов, включённых в исследование, в обеих системах одинакова, а частота чувствительных по EUCAST несколько ниже, чем по CLSI — 86,0 и 96,8% соответственно. Наименьший уровень чувствительности по EUCAST отмечен среди изолятов, выделенных при пневмонии (77,8%), наибольший — среди выделенных при отите (97,6%).

Цефтаролин. В отличие от других бета-лактамов цефтаролин обладает более высокой аффин-

ностью в отношении белка ПСБ2х, который определяет устойчивость к пенициллину *S.pneumoniae*. Высокая аффинность цефтаролина ко всем шести ПСБ пневмококка делает его активным в отношении штаммов, устойчивых к пенициллину, амоксициллину, цефалоспорином, макролидам и фторхинолонам. Для активности цефтаролина в отношении *S.pneumoniae* характерны принципиально те же закономерности, что и для цефотаксима, но уровень чувствительности самый высокий среди бета-лактамов.

Резистентность к макролидам и линкозамидам. Критерии чувствительности пневмококков к эритромицину (индикаторному антибиотику для 14- и 15-членных макролидов) у EUCAST и CLSI совпадают. Средний уровень устойчивости среди всех изолятов, включённых в исследование, составлял 31,2%, к промежуточным относились только 2% изолятов. Наибольшая частота устойчивости была отмечена среди изолятов, выделенных от носителей (37,3%), наименьшая — среди изолятов от пациентов с острым отитом (21,2%).

Несмотря на незначительные различия в критериях чувствительности к клиндамицину между EUCAST и CLSI, результаты интерпретации полностью совпали. Частота устойчивости к клиндамицину (маркёр резистентности к 16-членным макролидам) была приблизительно в 2 раза ниже, чем к эритромицину и в среднем составила 14,8%. Наибольший уровень устойчивости был отмечен среди изолятов, полученных от носителей, наименьшей — среди изолятов от пациентов с отитом.

Ассоциированная устойчивость *S.pneumoniae* к пенициллину и эритромицину. На рис. 3 приведено распределение изолятов, демонстрирующих различные значения МПК пенициллина и эритромицина. Как следует из рис. 3 22,8% изолятов демонстрировали одновременное снижение чувствительности к эритромицину и пенициллину.

Резистентность к моксифлоксацину. Критерии чувствительности к моксифлоксацину по EUCAST существенно жёстче, чем по CLSI, однако устойчивых изолятов выявлено не было.

Резистентность к антибиотикам других групп.

Тетрациклин. Критерии чувствительности пневмококков к тетрациклину между EUCAST и CLSI совпадают. В среднем частота устойчивости к тетрациклину составила 33,2%. Наибольший уровень был отмечен среди изолятов, полученных от пациентов с пневмонией (41,7%), наименьшей — от пациентов с отитом (30,0%).

Ко-тримоксазол. Несмотря на незначительные различия в критериях между EUCAST и CLSI результаты оценки чувствительности к ко-тримоксазолу с использованием двух указанных систем совпали. В среднем среди всех изученных

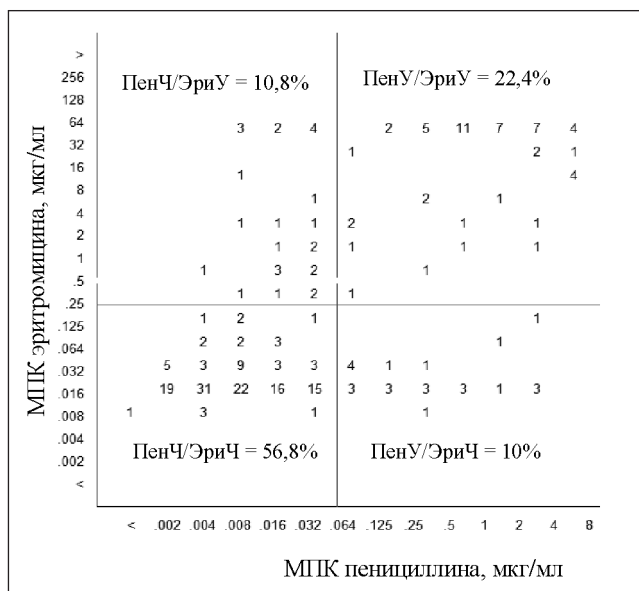


Рис. 3. Распределение МПК эритромицина и пенициллина в отношении *S.pneumoniae* (количество изолятов, подавляемых различными концентрациями антибиотиков).

изолятов к устойчивым относились 34,8%. Наибольшая частота устойчивости была выявлена среди изолятов, полученных от пациентов с пневмонией (37,5%) и от здоровых носителей (38,7%), наименьшая — среди изолятов от пациентов с отитом (28,8%).

Хлорамфеникол. Результаты оценки чувствительности пневмококков к хлорамфениколу по CLSI и UECASST полностью совпали, несмотря на незначительные различия в критериях. Среди всех изученных изолятов устойчивыми оказались 46,2%, наибольшая частота устойчивости отмечена среди изолятов от пациентов с пневмонией (47,2%) и от здоровых носителей (50,7%), наименьшая — от пациентов с отитом (38,0%).

Антибиотикорезистентность среди *S.pneumoniae*, относящихся к различным серотипам

Данные об антибиотикорезистентности пневмококков различных серотипов приведены в табл. 3. Как следует из представленных материалов, наибольшая частота устойчивости была характерна для изолятов серотипа 19А. Все 11 изолятов этого серотипа проявляли выраженное в разной степени снижение чувствительности к пенициллину, а также отличались в сравнении с другими серотипами наиболее высокой частотой устойчивости к амоксициллину, цефотаксиму, цефтаролину, эритромицину и тетрациклину. Серотип 19А уступал другим серотипам только по частоте устойчивости к хлорамфениколу и ко-тримоксазолу.

Для других распространенных серотипов (19F, 6А/В/С и 14) также была характерна высокая частота устойчивости к пенициллину, варьирующая приблизительно от 30 до 60% и к эритромицину от 29 до 46%. Далее в порядке снижения частоты устойчивости следовали серотипы 9V/L и 23F. Серотипы 1, 18А/В/С, 12F, 15, 35F, 10А, 17F и 34 были представлены единичными изолятами и в большинстве случаев сохраняли чувствительность к антибиотикам.

Следует отметить относительно высокую частоту устойчивости к антибиотикам среди нетипируемых изолятов, которые были выделены в основном от здоровых носителей. Важной особенностью была низкая частота устойчивости среди достаточно распространенного серотипа 3. Из 24 изолятов этого серотипа лишь единичные проявляли снижение чувствительности к пенициллину, эритромицину и другим антибиотикам. Значительная роль *S.pneumoniae* серотипа 3 в этиологии острого отита (21% случаев) проявилась в несколько меньшей частоте устойчивости среди

Таблица 3. Антибиотикорезистентность (% нечувствительных изолятов) *S.pneumoniae*, относящихся к различным серотипам

Серотипы	Количество изолятов	PEN		AMX	CTX		CPT		ERY	CLI	CHL	SXT	TET
		EUCAST	CLSI		EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI					
19F	51	41,2	23,5	5,9	27,5	25,5	19,6	9,8	29,4	21,6	45,1	41,2	43,1
n\т	51	76,5	13,7	7,8	7,8	7,8	7,8	3,9	29,4	9,8	60,8	45,1	31,4
6A/B/C	45	33,3	15,6	2,2	11,1	11,1	6,7	4,4	46,7	31,1	40	33,3	35,6
23F	38	21,1	2,6	2,6	5,3	5,3	7,8	0	15,8	0	34,2	31,6	23,7
3	24	8,3	0,0	0,0	0	0	0	0	8,3	4,2	25	29,2	16,7
19A	11	100,0	54,5	27,3	72,7	36,4	54,5	45,5	81,8	45,5	45,5	27,3	72,7
9V/L	9	44,4	11,1	0	11,1	11,1	22,2	11,1	22,2	11,1	44,4	33,3	22,2
14	6	66,7	16,7	0	16,7	0	0	0	33,3	0	83,3	83,3	16,7
8	3	33,3	0	0	0	0	0	0	33,3	0	0	0	33,3
1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18A/B/C	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12F	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	2	100,0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0
35F	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0
17F	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	100
34	1	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0

пневмококков, выделенных от пациентов с отитами в сравнении с другими группами.

Обсуждение результатов

Результаты настоящей работы имеют значение с двух точек зрения. Во-первых, они отражают современный уровень распространения антибиотикорезистентности среди *S.pneumoniae* и могут быть использованы для оптимизации эмпирической терапии пневмококковых инфекций. Во-вторых, эти результаты принципиально необходимы для формирования системы наблюдения за пневмококковыми инфекциями, оценки эффективности вакцинации и своевременной корректировки серотипового состава пневмококковых вакцин.

Сравнивая уровень резистентности пневмококков к бета-лактамам антибиотикам, выявленный в ходе настоящего исследования и в более ранних публикациях, прежде всего, следует указать на сложности анализа, связанные с различиями в критериях, использованных в отдельных работах. В Москве в период с 1998 по 2007 гг. частота выделения изолятов со сниженной чувствительностью к пенициллину колебалась от 11 до 25% [14]. Анализ работы [15], несмотря на неточности изложения материала, позволяет предположить, что в ряде регионов России в период с 1999 по 2009 гг. этот показатель колебался в пределах 7–11%. В Москве в 2009–2013 гг. среди изолятов пневмококков, выделенных преимущественно от носителей, частота снижения чувствительности к пенициллину составляла 28% [16], а среди изолятов выделенных из полости среднего уха при отите — 45% [17]. По результатам изучения около 3000 изолятов, полученных более чем из 100 центров в Европе в 2009–2012 гг., частота снижения чувствительности к пенициллину составляла 28,9% [18]. Среди инвазивных *S.pneumoniae* частота выделения не чувствительных к пенициллину изолятов в отдельных европейских странах колебалась от 1,1 до 40% [19]. Результаты, полученные в настоящей работе, близки к европейским данным и результатам двух последних публикаций из Москвы. Таким образом, следует признать наличие явной тенденции к быстрому росту устойчивости пневмококков к бета-лактамам антибиотикам в Европейской части Российской Федерации.

В ранее опубликованных в России работах устойчивость к амоксициллину или не выявляли, или её уровень был менее 1% [15, 17], 2,5% не чувствительных к амоксициллину изолятов было обнаружено в Москве в 2007 г. [14]. Выявленный в настоящем исследовании уровень устойчивости к амоксициллину (4,8% — по критериям CLSI и 14,3% — по критериям EUCAST), конечно, невысок, но тенденция к его росту также очевидна. В этой связи необходимо рассмотреть вопрос о повышении доз амоксициллина для эмпирической

терапии пневмококковых инфекций дыхательных путей. Наиболее обоснованным использование повышенных доз амоксициллина будет у пациентов с факторами риска резистентных возбудителей. В рекомендациях Американского общества инфекционных болезней (Infectious Diseases Society of America — IDSA) по лечению бактериального риносинусита у взрослых и детей повышенные дозы антибиотика (2,0 в сутки у взрослых и 90 мг/кг — у детей) предлагается использовать в регионах с частотой устойчивости к амоксициллину $\geq 10\%$; у пациентов экстремальных возрастных групп (≤ 2 и ≥ 65 лет) или иммунокомпрометированных; при недавней госпитализации или приёме антибиотиков в течение предшествующего месяца; при тяжёлом течении инфекции (интоксикация и температура тела выше 39°C) или угрозе инфекционных осложнений [20]. Представляется, что указанный подход применим и при других массовых респираторных инфекциях.

Сравнительная оценка частоты устойчивости пневмококков к макролидам не вызывает особых затруднений, поскольку критерии предлагаемые EUCAST и CLSI мало различаются. По данным исследований, опубликованных до 2010 г., частота устойчивости к макролидам в России была невысокой и либо колебалась в пределах 3,6–8,1% [15], либо несколько превышала 10% [21]. Выявленный в настоящем исследовании значительно более высокий уровень устойчивости (от 21,2% до 37,3% у различных категорий пациентов), близок к таковому выявленному в Москве [17] и ближайшей к Санкт-Петербургу европейской стране — Финляндии (устойчивость среди 10–25% инвазивных изолятов) [19]. Вполне очевидно, что эмпирическое применение макролидов (особенно 14- и 15-членных) для лечения пневмококковых инфекций в Европейской части Российской Федерации должно быть минимизировано.

Среди изученных изолятов *S.pneumoniae* не было выявлено устойчивости к моксифлоксацину. Частота устойчивости к тетрациклину, котримоксазолу и хлорамфениколу среди различных категорий пациентов колебалась в пределах 30–50%, что совпадает с ранее опубликованными данными [15, 21, 22].

Распространение антибиотикорезистентности было наиболее характерно для изолятов, относившихся к серотипам 19A, 19F, 14 и серогруппе 6, что совпадает с глобальными тенденциями [19]. Эти данные подтверждают потенциальные преимущества 13-валентной пневмококковой вакцины перед вакцинами с меньшим числом серотипов. Из доступных в медицинской практике пневмококковых конъюгированных вакцин, только 13-валентная вакцина может ограничить распространение серотипа 19A, отличающегося наибольшим уровнем антибиотикорезистентности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Austrian R. The pneumococcus at the millennium: not down, not out. J Infect Dis 1999; 179: Suppl 2: S338—341.
2. Jacobs M.R., Koornhof H.J., Robins-Browne R.M., Stevenson C.M., Vermaak Z.A., Freiman I., Miller G.B., Witcomb M.A., Isaacson M., Ward J.I. et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. N Engl J Med 1978; 299: 735–740.
3. Yu V.L., Chiou C.C., Feldman C., Ortqvist A., Rello J., Morris A.J., Baddour L.M., Luna C.M., Snyderman D.R., Ip M. et al. An international prospective study of pneumococcal bacteremia: correlation with *in vitro* resistance, antibiotics administered, and clinical outcome. Clin Infect Dis 2003; 37: 230–237.
4. Lonks J.R., Garau J., Gomez L., Xercavins M., Ochoa de Echaguen A., Gareen I.F., Reiss P.T., Medeiros A.A. Failure of macrolide antibiotic treatment in patients with bacteremia due to erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis 2002; 35: 556—564.
5. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. (Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute). 2014.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>.
7. Hampton L.M., Farley M.M., Schaffner W., Thomas A., Reingold A., Harrison L.H., Lynfield R., Bennett N.M., Petit S., Gershman K. et al. Prevention of antibiotic-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* with conjugate vaccines. J Infect Dis 2012; 205, 401—411.
8. Richter S.S., Heilmann K.P., Dohrn C.L., Riahi F., Diekema D.J., Doern G.V. Pneumococcal Serotypes before and after Introduction of Conjugate Vaccines, United States, 1999–2011(1.). Emerg Infect Dis 2013; 19: 1074—1083.
9. Torne A.N., Dias J.G., Quinten C., Hruha F., Busana M.C., Lopalco P.L., Gauci A.J., Pastore-Celentano L., and disease, E.c.e.f.p. European enhanced surveillance of invasive pneumococcal disease in 2010: Data from 26 European countries in the post-heptavalent conjugate vaccine era. Vaccine 2014; 32: 3644—3650.
10. Mera R.M., Miller L.A., Amrine-Madsen H., Sahm D.F. The impact of the pneumococcal conjugate vaccine on antimicrobial resistance in the United States since 1996: evidence for a significant rebound by 2007 in many classes of antibiotics. Microb Drug Resist 2009; 15: 261—268.
11. Jones R.N., Sader H.S., Mendes R.E., Flamm R.K. Update on antimicrobial susceptibility trends among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: report of ceftaroline activity from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998—2011). Diagn Microbiol Infect Dis 2013; 75: 107—109.
12. CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard, Ninth edition. CLSI document M7-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2009.
13. Pai R., Gertz R.E., Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. J Clin Microbiol 2006; 44: 124—131.
14. Савинова Т.А., Сидоренко С.В., Буданов С.В., Грудина С.А. Динамика распространения резистентности к бета-лактамам антибиотикам среди *Streptococcus pneumoniae* и ее клиническая значимость. Антибиотики и химиотер 2010; 55: 1—2: 12—20.
15. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И., Иванчик Н.В., «ПеГАС», Г.и.п. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999—2009 гг. (Результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС). Клин микробиол антимикроб химиотер 2010; 12: 1—13.
16. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O., Lazareva A., Katosova L., Ivanenko A., Kulichenko T., Namazova-Baranova L., Baranov A. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. Int J Infect Dis 2014; 20: 58—62.
17. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O., Pakhomov A., Kulichenko T., Ivanenko A., Lazareva M., Lazareva A., Katosova L., Namazova-Baranova L. et al. Bacterial Etiology of Acute Otitis Media and Characterization of Pneumococcal Serotypes and Genotypes among Children in Moscow, Russia. Pediatr Infect Dis J 2014.
18. Tomic V., Dowdzicky M.J. Regional and global antimicrobial susceptibility among isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) from 2009 to 2012 and comparison with previous years of T.E.S.T. (2004–2008). Ann Clin Microbiol Antimicrob 2014; 13: 52.
19. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2014.
20. Chow A.W., Benninger M.S., Brook I., Brozek J.L., Goldstein E.J., Hicks L.A., Pankey G.A., Seleznick M., Volturo G., Wald E.R. et al. IDSA Clinical Practice Guideline for Acute Bacterial Rhinosinusitis in Children and Adults. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2012; 54: e72—e112.
21. Сидоренко С.В., Грудина С.А., Филимонова О.Ю., Столярова Л.Г. Резистентность к макролидам и линкозамидам среди *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* в Российской Федерации. Клин фармакол тер 2008; 17: 1—5.
22. Грудина С.А., Сидоренко С.В., Катосова Л.К., Фатова Н.А., Еремичева Л.В., Фурлетова Н.М., Ютанова Н.С. Динамика распространения антибиотикорезистентности среди *Streptococcus pneumoniae* в Москве в период с 1998 по 2003 гг. Антибиотики и химиотер 2004; 49: 4: 25—34.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Калиногорская Ольга Серафимовна — к.м.н., научный сотрудник отдела микрoэкологии человека, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Беланов Сергей Сергеевич — младший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Волкова Марина Олеговна — кандидат медицинских наук, врач-бактериолог отдела микрoэкологии человека, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-

но-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Гостев Владимир Валерьевич — к.б.н., научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства».

Ренгалин — новый эффективный и безопасный препарат в лечении кашля. Результаты многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования у больных с острыми респираторными инфекциями

А. Л. АКОПОВ¹, Е. Б. АЛЕКСАНДРОВА², М. М. ИЛЬКОВИЧ¹, Д. В. ПЕТРОВ³, В. И. ТРОФИМОВ¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

² Поликлиника № 5 Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

³ Ярославская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ярославль

Rengalin, a New Efficacious and Safe Antitussive Agent. Results of a Randomized, Comparative, Multicenter Clinical Trial in Patients with Acute Respiratory Tract Infections

A. L. AKOPOV, E. B. ALEKSANDROVA, M. M. IL'KOVICH, D. V. PETROV, V. I. TROFIMOV

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

Ambulatory Care Clinic No. 5, Moscow

Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl

Ренгалин — комбинированный релиз-активный препарат для лечения кашля на основе антител к брадикинину, гистамину и морфину, оказывает воздействие на различные звенья кашлевого рефлекса за счёт модифицирующего влияния на эндогенные молекулы-мишени и их взаимосвязь с рецепторами. Эффективность препарата, подтверждённая ранее в экспериментальных и клинических исследованиях, обусловлена особой релиз-активностью, которая обеспечивается технологией его производства. **Методы.** Оценка эффективности и безопасности ренгалина в лечении кашля, вызванного острыми респираторными инфекциями (ОРИ), в сравнении с комплексным кодеинсодержащим препаратом (коделак®) проводилась в ходе многоцентрового рандомизированного клинического исследования с участием 143 пациентов. У всех участников исследования был сухой/непродуктивный кашель на фоне ОРИ (фарингита, ларингита, ларинготрахеита, трахеита, трахеобронхита, бронхита) продолжительностью не менее 12 часов и не более 7 дней. Ренгалин был назначен 73 больным по 2 таблетки 3 раза в сутки в первые три дня и в половинной дозе — последующие 4 дня; коделак® — 70 пациентам по 1 таблетке 3 раза в день в течение всех 7 дней. Первичными критериями эффективности были сроки купирования кашля и степень снижения его интенсивности, которую оценивали в баллах по «Шкале тяжести кашля». В ходе исследования выбыл 1 пациент из группы ренгалина и 3 — из группы коделака. В статье представлены результаты лечения 139 участников, завершивших участие в исследовании в соответствии с протоколом (Per Protokol-анализ). Обработка данных проводилась с учётом статистической модели non-inferiority (не меньшей эффективности, или сопоставимости). **Результаты.** Антитуссивный эффект ренгалина был значимо сопоставим ($p < 0,025$) с активностью коделака®; сроки полного излечения от кашля (дневного и ночного) составили $7,2 \pm 1,0$ суток (против $7,0 \pm 1,1$ в группе коделака). Эффективность ренгалина проявлялась в выраженном снижении тяжести кашля, начиная с первых суток лечения. В итоге всех семи дней терапии тяжесть кашля снизилась на — $3,1 \pm 0,9$ баллов (против — $3,1 \pm 1,0$ баллов в группе коделака; $p < 0,05$), составив к окончанию курса лечения $0,2 \pm 0,5$ баллов в обеих группах. Непродуктивный/сухой частый кашель полностью излечился у 76% пациентов; у остальных участников исследования сохранялся в виде «остаточного кашля». Все пациенты группы ренгалина завершили участие в исследовании выздоровлением либо значительным улучшением, ни у одного пациента не было зарегистрировано вторичных бактериальных осложнений. Положительные изменения состояния пациентов за неделю подтверждались итоговой динамикой суммарных оценок качества жизни, включая физический и психологический компоненты здоровья (опросник SF-36), и качества сна, которые на фоне лечения ренгалином были сравнимы с результатами приёма коделака® ($p < 0,025$). По окончании курса лечения врачи-исследователи оценили эффект ренгалина как «выраженный». Итоговый индекс клинической эффективности (CGI-EI) в группах ренгалина и коделака был сопоставим, составив $3,7 \pm 0,5$ баллов ($p < 0,025$). Безопасность применения ренгалина оценивали у всех 143 рандомизированных пациентов. Отсутствие нежелательных явлений, имеющих достоверную связь с исследуемой терапией, данные мониторинга лабораторных показателей подтвердили высокий уровень безопасности препарата. Ренгалин хорошо переносился пациентами, был совместим с другими лекарственными средствами для лечения ОРИ и сопутствующей патологии. Приверженность пациентов к терапии была 100%. **Выводы.** Ренгалин — новый эффективный и безопасный препарат для лечения кашля на фоне ОРИ. Снижение тяжести дневного и ночного кашля начинается с первого дня приёма ренгалина и продолжается на протяжении всего курса терапии. К завершению семи дней лечения интенсивность кашля уменьшается почти на 100% и её динамика сопоставима с результатами применения коделака®. Действуя на различные звенья кашлевого рефлекса, ренгалин позволяет получить антитуссивный эффект в начальном периоде ОРИ (при сухом, раздражающем кашле) и протуссивный («оптимизирующий кашель») эффект в последующем периоде

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 197022 Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6—8. Первый СПб ГМУ им. И. П. Павлова

заболевания. Ренгалин способствует выздоровлению пациентов от кашля при ОРВИ без развития вторичных бактериальных осложнений.

Ключевые слова: ренгалин, кашель, противокашлевое действие, лечение кашля.

Rengalin is a release-active combination antitussive drug based on antibodies to bradykinin, to histamine and morphine. It acts at various mechanisms of cough reflex by modifying endogenous target molecules and their interaction with receptors. The drug's efficacy, as demonstrated previously in experimental and clinical studies, is mediated by specific release-activity obtained as a result of the production process. *Methods.* Efficacy and safety assessment of rengalin in the treatment of cough induced by acute upper respiratory tract infections (URIs) in comparison with a complex codeine-containing drug (codelac®) was performed as part of a multicenter, randomized clinical trial involving 143 patients. All the participants presented with dry/non-productive cough caused by URIs (pharyngitis, laryngitis, tracheitis, tracheobronchitis, bronchitis). The duration of cough varied between 12 hours and 7 days. Rengalin was administered in 73 patients receiving 2 tablets 3 times daily for initial three days, and half reduced doses — for the subsequent four days; codelac® was administered in 70 patients who were given 1 tablet 3 times daily for the entire treatment period (7 days). Primary efficacy endpoints were time to cough resolution and reduction in the severity of the cough (scored using a Cough Severity Scale). One patient in Rengalin group and three patients in Codelac group were withdrawn from the study. The article presents treatment outcomes obtained for 139 participants who completed the study in accordance with the protocol (Per Protokol-analysis). The data analysis was based on a non-inferiority (or comparability) statistical design for efficacy endpoints. *Results.* The antitussive effect of rengalin was significantly comparable ($p < 0.025$) with that of codelac®; the time to complete resolution of cough (both daytime and nocturnal) was 7.2 ± 1.0 days (versus 7.0 ± 1.1 in the group of codelac). Rengalin's efficacy was evidenced by a sufficiently reduced cough severity in the initial few days after treatment onset. As a result of the entire 7-day treatment, the severity score was reduced by 3.1 ± 0.9 (versus 3.1 ± 1.0 in the group of codelac; $p < 0.05$), totaling 0.2 ± 0.5 point in both groups at the end of the administration period. The frequent non-productive/dry cough was fully resolved in 76% of patients. All the participants in Rengalin group achieved either convalescent outcomes or significant improvement; none of the patients developed secondary bacterial complications. Positive changes in the patients' state over the week were finally confirmed by evaluating the total quality of life scores, including physical and mental component scores (SF-36 questionnaire), and total sleep quality scores, which were comparative between patients treated with rengalin and codelac® ($p < 0.025$). At the end of the administration period, the effect of rengalin was rated by the physician investigators as 'pronounced'. The Clinical Global Impression Scale-Efficacy Indices (CGI-EI) in the groups of rengalin and codelac were comparable, equating a score of 3.7 ± 0.5 ($p < 0.025$). The safety outcomes of rengalin treatment were assessed across all 143 randomized patients. The drug's high safety profile was confirmed by the absence of adverse events that could be reliably related to the study treatment, and by monitoring of laboratory variables. Rengalin demonstrated good tolerability and favorable compatibility with other medications for URIs with concomitant pathology. The patients showed 100% treatment compliance. *Conclusions.* Rengalin is a new efficacious and safe drug indicated for the treatment of URI-induced cough. The severity of daytime and nocturnal cough begins to decrease as soon as on the first day after rengalin administration, with severity reduction observed throughout the whole treatment period. At the completion of the 7-day administration, cough severity is reduced by almost 100% and its changes are comparable with the outcomes of treatment with codelac®. By targeting various cough reflex mediators, rengalin enables achieving an antitussive effect in the early days after URI onset (in dry, irritative cough episodes), and a pro-tussive effect at later points of treatment. Rengalin promotes resolution of URI-induced cough without development of secondary bacterial complications.

Key words: rengalin, cough, antitussive effect, treatment.

Введение

Кашель находится на пятом месте среди причин, заставляющих больных обращаться к врачу, и на первом — среди симптомов, обусловленных патологией органов дыхания [1–3]. По статистике, на кашель жалуются примерно 20% всех заболевших острыми респираторными инфекциями (ОРИ) [2–5].

Как известно, кашель имеет «две стороны одной медали» [1, 6]. Полезный, с одной стороны (очищает дыхательные пути), в том числе у больных с хроническими заболеваниями лёгких, кашель может оказывать негативное влияние на качество жизни, нарушая сон, повседневную активность, утомляя больных. Кашель при острых заболеваниях требует активного лечения, и врач должен добиваться безусловного его исчезновения, используя, по показаниям,

противокашлевые («antitussive») или «оптимизирующие» кашель («protussive») лекарственные средства [1, 3, 4, 7, 8].

При заболеваниях дыхательных путей, сопровождающихся непродуктивным, упорным, мучительным кашлем, применяют противокашлевые препараты центрального или периферического действия, которые улучшают субъективное состояние больного, уменьшают риск развития осложнений [1, 3, 4, 7, 9, 10]. К лекарственным средствам центрального действия относят кодеин (метилморфин) и другие близкие к морфину соединения, которые являются рецептурными препаратами и не лишены побочных эффектов, поскольку их противокашлевое действие не избирательно [7, 11]. Одновременное влияние на дыхательный центр ведёт к уменьшению вентиляции; кроме того, могут наблюдаться сонли-

вость, запоры, головная боль, нарушения координации движений глазных яблок.

В ходе лечения кашля при ОРИ зачастую встает вопрос о смене противокашлевого препарата на средство с протуссивным действием, которое способствует отхождению мокроты. Выходом из данной ситуации может быть применение комбинированных препаратов, к которым относится новое лекарственное средство Ренгалин (ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ»), разработанное на основе антител к брадикинину (анти-В), гистамину (анти-Н) и морфину (анти-М). Препарат является релиз-активным (от англ. *release* — освобождение), его эффективность обусловлена высвобождением особой активности в ходе технологической обработки исходных антител [12]. Ренгалин модифицирует эндогенные молекулы-мишени (брадикинин, гистамин и морфин), изменяя их взаимодействие со своими рецепторами, участвующими в формировании кашля [13–16]. За счёт влияния компонентов препарата на кашлевой центр, афферентные нервные волокна дыхательных путей, отёк и воспаление в респираторном тракте ренгалин воздействует на разные звенья кашлевого рефлекса — центральные и периферические. Не являясь экспекторантом и муколитиком, он облегчает отхождение мокроты за счёт спазмолитического и противоотёчного действия [17–20]. В связи с комплексным влиянием ренгалина может использоваться в лечении как непродуктивного, так и продуктивного кашля.

В данной статье представлены результаты клинического исследования, проведённого с целью сравнительной (с комплексным препаратом Коделак®) оценки эффективности и безопасности ренгалина в лечении кашля, вызванного ОРИ у взрослых.

Материал и методы

В исследование было включено 143 амбулаторных пациента старше 18 лет с непродуктивным кашлем длительностью не менее 12 часов и не более 7 дней, который являлся проявлением клинически подтверждённой ОРИ (острого фарингита, ларингита, ларинготрахеита, трахеита, трахеобронхита, бронхита).

Критериями не включения являлись инвазивные бактериальные инфекции (в том числе пневмония), бронхообструктивные заболевания, острая дыхательная недостаточность, онкологические заболевания, необходимость назначения мукоактивных препаратов, заболевания ЦНС, обострение или декомпенсация хронических заболеваний, непереносимость любого из компонентов лекарственных препаратов, используемых в лечении, беременность и кормление грудью, нежелание соблюдать методы контрацепции, алкоголизм и наркомания, существенные отклонения от нормы лабораторных показателей и участие в других исследованиях.

Методом непрерывной списочной рандомизации пациенты были распределены на две группы — получавшие ренгалин ($n=73$) или коделак ($n=70$). Больные получали лечение в соответствии с инструкциями по применению исследуемого препарата и препарата сравнения. Ренгалин назначали по 2 таблетки 3 раза в сутки в первые три дня и в половинной дозе — в

последующие 4 дня; коделак® (в 1 таблетке содержится кодеина 8 мг, натрия гидрокарбоната 200 мг, солодки корней 200 мг, травы термопсиса ланцетного 20 мг) — по 1 таблетке 3 раза в день в течение всех 7 дней.

В ходе исследования пациенты могли получать терапию ОРИ, исходя из принятых стандартов лечения, за исключением противокашлевых средств. К запрещённым относились также препараты, в описании которых указано раздражающее или подавляющее влияние на кашлевой центр; средства, вызывающие или подавляющие рвотный рефлекс; ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, β -блокаторы, бронхолитики, антигистаминные и лекарственные средства, при применении которых у пациента ранее отмечались аллергические реакции.

Обе группы пациентов были сопоставимы по социально-демографическим, антропометрическим и клиническим характеристикам. Средний возраст участников исследования был $42,4 \pm 14,8$ лет (диапазон — от 18 до 74 лет); 32% были мужчины, 68% — женщины. Исходная тяжесть дневного кашля у пациентов обеих групп была одинаковой: в группе ренгалина — $3,3 \pm 0,8$ баллов, в группе коделака — $3,3 \pm 0,9$ баллов (по «Шкале тяжести кашля» от 0 до 5 баллов) [21], что означало наличие частого кашля, который влиял (4 балла) либо нет (3 балла) на повседневную активность пациента. Тяжесть кашля в ночные часы в группе ренгалина составляла $2,3 \pm 0,9$ баллов и свидетельствовала о том, что пациенты, страдая от кашля, пробуждались ночью часто (3 балла) либо однократно (2 балла); в группе коделака интенсивность кашля в начале исследования оценивалась в $2,0 \pm 1,1$ баллов.

Около одной трети пациентов (32% в группе ренгалина и 30% в группе коделака) имели сопутствующие заболевания, среди которых чаще встречалась первичная артериальная гипертензия (4 и 10% соответственно), реже — заболевания желудочно-кишечного тракта, костно-мышечной, мочеполовой и эндокринной системы (от 1 до 4% в группах), по поводу которых больные получали соответствующую терапию. Из лекарственных средств, разрешённых для лечения ОРИ, единичным пациентам были назначены противовирусные препараты, в том числе арбидол (1 пациенту из группы ренгалина и 4 — из группы коделака); кагоцел (3 и 2 соответственно), ингавирин (1 — в группе ренгалина), а также местные антисептические препараты и средства элиминационно-ирригационной терапии; одному больному из группы коделака был назначен антибиотик (азитромицин). Все сексуально активные пациенты фертильного возраста обоего пола соблюдали методы контрацепции в ходе всего периода исследования и в течение 30 дней после его завершения.

Участники исследования вели дневник, в котором ежедневно заполняли шкалу тяжести дневного и ночного кашля [21], отмечали его характер. В процессе лечения пациенты совершали три визита к врачу-исследователю (на 2-й, 4-й и 8-й дни), в ходе которых проводилась оценка кашля и других симптомов ОРИ, регистрировались сопутствующая терапия и безопасность лечения, контролировалось ведение дневника, рассчитывалась комплаентность. Исходно и по окончании лечения проводились лабораторные исследования (общеклинический и биохимический анализы крови и мочи), оценивалось качество жизни (по опроснику SF-36) и сна (по опроснику для оценки качества сна у больных с кашлем). В общей сложности пациенты наблюдались в течение 8 суток, включая скрининг (1 день) и 7 дней лечения (2–8-й дни). На завершающем визите врач оценивал, в какой степени препарат оказывал лечебное воздействие на кашель и как часто вызывал побочные эффекты, определяя индекс эффективности (от максимального 4,0 до минимального 0,25 баллов) по Шкале CGI-EI.

В качестве первичных конечных точек исследования анализировали сроки купирования кашля в группах и степень уменьшения тяжести кашля за время участия пациента в исследовании. Вторичными конечными точками были количество пациентов (в %), у которых кашель купировался на момент

Таблица 1. Общая продолжительность дневного и ночного кашля

Статистические показатели	Ренгалин (n=72)		Коделак (n=67)	
M±SD	7,2±1,0		7,0±1,1	
95% CI Mean	7,0	7,5	6,7	7,2
Diff C-T	-0,28±1,07			
95% CI _{diff}	-0,64÷0,08			
δ	±0,70			
p	<0,025*			

Примечание. Здесь и в табл. 2: M — среднее значение; SD — стандартное отклонение; Diff — разница между эффектами двух препаратов; C — контрольный препарат (или препарат сравнения, Коделак®); T — тестируемый (или исследуемый) препарат (Ренгалин); CI — доверительный интервал; * — эффекты сравниваемых препаратов значимо сопоставимы (здесь и в табл. 2).

завершения участия в исследовании; изменение качества жизни и сна; средний балл шкалы CGI-EI в группах.

В ходе наблюдения выбыло 4 пациента, в том числе 1 — из группы ренгалина (из-за невозможности пациента следовать требованиям протокола) и 3 — из группы коделака (2 — вследствие желания пациента досрочно завершить исследование по причине неэффективности терапии/иной причине; 1 — из-за значительных отклонений от протокола). В период исследования замену участников не проводили (в соответствии с требованиями протокола).

Эффективность ренгалина оценивали по результатам лечения и наблюдения за 139 пациентами, завершившими участие в исследовании в соответствии с протоколом (Per Protocol анализ); оценку безопасности проводили у всех 143 рандомизированных пациентов. Результаты анализировали с использованием статистического пакета SAS-9.3. Применялась статистическая модель non-inferiority (не меньшей эффективности, или сопоставимости): нулевая гипотеза формулировалась как $E_c - E_t \geq \delta$; альтернативная — как $E_t > E_c - \delta$ (где E_c — эффект контрольного препарата; E_t — эффект тестируемого препарата; δ — уровень клинической неразличимости, равный 10% от эффекта контрольного препарата). Использовались элементы описательной, параметрической (для непрерывных и интервальных переменных) и непараметрической (частотный анализ по категориальным переменным) статистики. Частотный анализ проводился с помощью критерия χ^2 , модификации Cochran-Mantel-Haenszel критерия χ^2 для множественных сравнений (CMH χ^2) и точного критерия Фишера.

Результаты исследования

Общая продолжительность кашля (сроки полного купирования и дневного, и ночного кашля) у пациентов группы ренгалина составила 7,2±1,0 суток, группы коделака — 7,0±1,1 суток (табл. 1). В дневные часы кашель сохранялся дольше, чем ночью, у большинства пациентов. Средняя продолжительность дневного кашля на фоне применения ренгалина составила 7,1±1,1 суток; коделака — 6,9±1,1 суток. Продолжительность ночного кашля в среднем была 5,4±1,7 и 5,0±1,8 суток соответственно. По данным статистического анализа, сроки полного купирования кашля (отсутствие кашля и днем, и ночью) были сопоставимы в обеих группах, поскольку у пациентов группы ренгалина они не выходили за пределы $\delta=10\%$ от результатов лечения в группе коделака ($p<0,025$). Следует подчеркнуть, что противокашлевая эффективность коделака®, продемонстрированная в данном исследовании, была не хуже, чем в опубликованных результатах, которые были получены

в ходе ранее проведенных клинических испытаний его терапевтической эффективности [22].

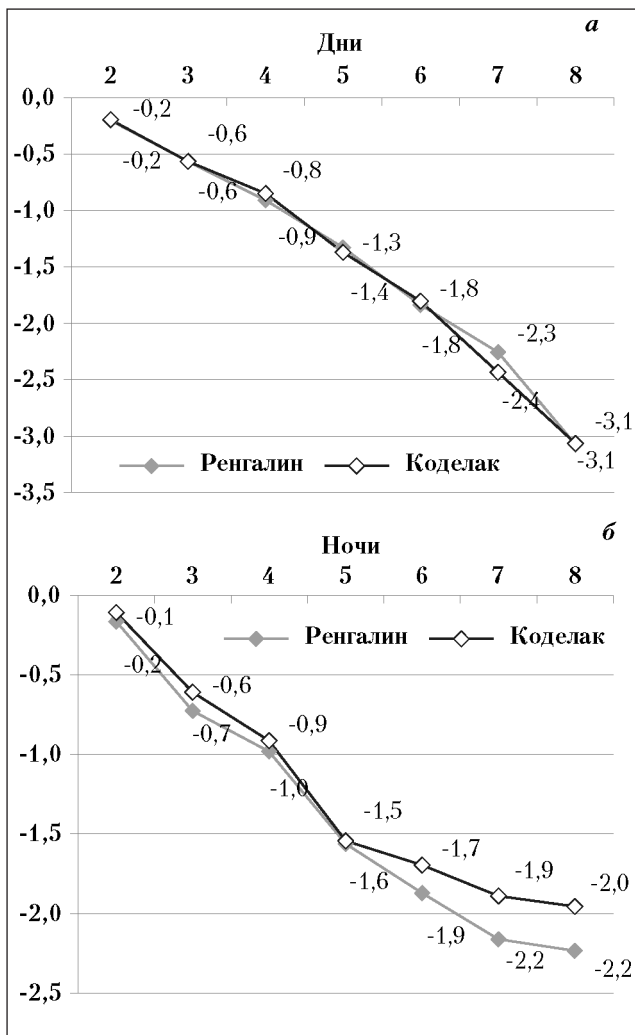
Снижение тяжести дневного кашля на фоне лечения ренгалином отмечалось, начиная с первых суток. Средний балл «Шкалы тяжести» 2,8±0,6 на третий день терапии свидетельствовал о кратковременном, редком, не влияющем на дневную активность кашле. Начиная с шестого дня наблюдения, средний балл тяжести дневного кашля уменьшался до 1,5±0,8 баллов; это означало, что часть пациентов беспокоил лишь однократный кратковременный, другую часть — кратковременный, не чаще 2—3 эпизодов в день, кашель. К окончанию терапии интенсивность кашля в 0,2±0,5 баллов свидетельствовала о его отсутствии либо о наличии «остаточного» кашля. В итоге семи дней терапии тяжесть кашля уменьшилась на 3,1±0,9 баллов (рис. 1, а). Динамика интенсивности дневного кашля в группе коделака® была сходной, а суммарное снижение составило —3,1±1,0 баллов.

Наиболее существенное снижение тяжести ночного кашля на фоне лечения ренгалином отмечено в первые трое суток: суммарный балл уменьшился до 1,6±0,9 (среднее снижение на 1,0±0,8 баллов) и указывал на наличие кашля при засыпании/пробуждении или однократное пробуждение в течение ночи. В последующие сутки лечения терапевтическая эффективность ренгалина продолжала нарастать и привела к итоговому снижению кашля в ночные часы на 2,2±0,9 баллов. К завершению курса лечения интенсивность кашля была минимальной (0,1±0,3 баллов), свидетельствуя об остаточных его проявлениях в ночные часы. Абсолютные и относительные значения тяжести ночного кашля в группе коделака показали аналогичную динамику (см. рис. 1, б). По данным статистического анализа, степень уменьшения интенсивности кашля в группе ренгалина не выходила за пределы $\delta=10\%$ от результатов лечения в группе коделака (Diff C-T=—0,02; 90% CI_{diff}=—0,28÷0,32; $\delta=\pm 0,31$; CI_{diff}>—0,31; $p<0,05$), что подтверждало клиническую неразличимость двух препаратов.

Анализ вторичных конечных точек также продемонстрировал терапевтическую эффектив-

Таблица 2. Относительное изменение суммарных баллов физического и психического компонентов здоровья пациентов на фоне лечения в сравниваемых группах

Статистические показатели	Физический компонент		Психический компонент	
	Группа		Группа	
	Ренгалин (n=72)	Коделак (n=67)	Ренгалин (n=72)	Коделак (n=67)
M±SD	1,08±0,10	1,08±0,10	1,09±0,20	1,08±0,20
95% CI Mean	1,1 1,1	1,1 1,1	1,1 1,1	1,0 1,1
Diff C-T	0,0±0,13		-0,01±0,18	
95% CI _{diff}	-0,04÷0,04		-0,07÷0,05	
δ	±0,11		±0,11	
p	<0,025		<0,025	

**Рис. 1.** Динамика относительных изменений тяжести кашля в баллах в дневное и ночное время.

ность ренгалина, сопоставимую с эффектом коделака®. Исходно подавляющее большинство пациентов группы ренгалина (87%) имели интенсивный частый кашель в 3 или 4 балла, который у 44% больных нарушал их обычную активность. В группе коделака® удельный вес таких больных был чуть ниже — 78 и 37% соответственно. Последующая динамика «перераспределения» долей пациентов с разной интенсивностью кашля была примерно одинаковой в обеих группах. Итоговый

процент пациентов, у которых на фоне терапии отмечалось полное купирование кашля и в дневное, и в ночное время суток в группе ренгалина составил 76%, в группе коделака® — 89%. Доля пациентов, у которых кашель полностью отсутствовал в ночное время, но еще сохранялся днем, оценивалась в 92 и 98% в группах ренгалина и коделака® соответственно.

Положительные изменения состояния пациентов с кашлем не могли не сказаться на качестве их жизни и сна. Оценка с помощью опросника SF-36 в динамике лечения показала улучшение физического и психологического компонентов здоровья участников исследования. В целом за 7 дней лечения физический компонент здоровья возрос в 1,08 раза в обеих группах; ментальная составляющая в группе ренгалина увеличилась в 1,09 раза (против 1,08 в группе коделака®). Статистический анализ показал, что изменение суммарных баллов физической и ментальной составляющих на фоне лечения ренгалином находятся в пределах $\delta=10\%$ от изменения аналогичных показателей в группе коделака® (табл. 2).

Итоговая динамика показателя качества сна за неделю также свидетельствовала о его улучшении. Если в начале наблюдения средний балл пациентов группы ренгалина составлял $10,3 \pm 2,5$, то через 7 дней лечения на фоне практически полного излечения от ночного кашля сон пациентов улучшился, что отражалось снижением суммарного балла до $8,4 \pm 2,1$ (рис. 2). В группе сравнения аналогичные показатели были сопоставимы ($10,3 \pm 2,5$ и $8,5 \pm 1,7$ баллов соответственно), что подтверждали результаты статистического анализа изменений качества сна в обеих группах ($\text{Diff C-T}=0,01$; $95\% \text{ CI}_{\text{diff}}=-0,05 \div 0,08$; $\delta=\pm 0,08$; $\text{CI}_{\text{diff}}>-0,08$; $p<0,025$).

По окончании курса терапии врачи-исследователи оценили эффект ренгалина как «выраженный». Средний суммарный балл ($3,7 \pm 0,5$) означал, что применение Ренгалина приводило к полному излечению от кашля либо значительному улучшению состояния пациентов к концу курса лечения. Побочные эффекты, отсутствовавшие у подавляющего большинства пациентов, были зафиксированы в единичных случаях, не имели достоверной связи с применением препа-

рата и не оказывали значимого влияния на функциональные возможности пациента. Итоговый индекс клинической эффективности CGI-EI в группах ренгалина и коделака® был сопоставим ($3,7 \pm 0,6$ баллов; $p < 0,025$).

Мониторинг нежелательных явлений и лабораторных показателей в ходе исследования позволил подтвердить безопасность ренгалина. Серьёзных нежелательных явлений при применении препарата зарегистрировано не было. Одно нежелательное явление в виде умеренного увеличения числа эозинофилов в анализе крови, по мнению врача-исследователя, имело маловероятную связь с проводимой терапией. Два случая повышения уровня аланинаминотрансферазы в группе коделака® также имели маловероятную связь с препаратом. Никаких действий по отношению к исследуемой терапии не предпринималось. Частотный анализ не показал значимых различий между количеством пациентов с нежелательными явлениями в обеих группах (точный критерий Фишера; $p = 0,615$). Пациенты отметили хорошую переносимость ренгалина. Препарат не вызывал угнетения дыхания, наркогенного и снотворного эффектов. Лечение ренгалином хорошо сочеталось с другими препаратами для лечения ОРИ, а также с терапией сопутствующих (фоновых) заболеваний. Показатель комплаентности был почти 100%, приверженность лечению ренгалином была значимо выше, чем коделаком®.

Обсуждение результатов

Анализ результатов исследования свидетельствует об эффективности ренгалина в лечении кашля, вызванного острыми респираторными заболеваниями. Противокашлевая эффективность препарата заключалась, прежде всего, в сокращении периода болезни, в течение которого пациента беспокоил сухой раздражающий кашель. Сроки полного купирования кашля на фоне применения ренгалина были сопоставимы с эффектом, который давала терапия известным препаратом коделака® [22], в состав которого входит кодеин, оказывающий подавляющее воздействие на кашлевой центр [7, 11]. Острый кашель, который развивался на фоне ОРИ, был сухим/непродуктивным, частым и нарушал у многих пациентов их повседневную активность, полностью излечивался у подавляющего большинства пациентов и лишь у части из них сохранялся в дневные часы в виде «остаточного» кашля.

Описанные эффекты ренгалина обусловлены комплексным влиянием комбинированного препарата на различные звенья формирования кашлевого рефлекса [1, 3, 6, 14–16]. На первых этапах развития инфекционно-воспалительного процесса, когда преобладают процессы по-

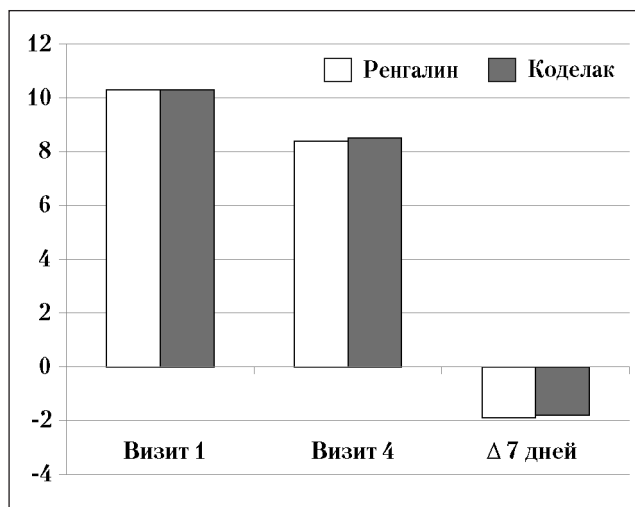


Рис. 2. Динамика суммарного балла опросника качества сна на фоне лечения.

вреждения слизистой оболочки дыхательных путей («сухое» воспаление с высокой возбудимостью кашлевых рецепторов) и когда пациент страдает от острого, раздражающего, частого кашля, свою активность проявляют анти-М. Действуя на центральное звено кашлевого рефлекса, они разрывают рефлекторную дугу кашля и приводят к антигуссипному эффекту. На последующих этапах респираторной инфекции, когда преобладает экссудативно-катаральное воспаление, наиболее значимы анти-В и анти-Н. Анти-В оказывают влияние на воспалительный процесс и формирование кашлевого рефлекса за счёт подавления синтеза и освобождения брадикинина, простагландинов, ФНО- α , ряда интерлейкинов и гистамина; снижения диапедеза лейкоцитов; расслабления гладкой мускулатуры органов дыхания. Анти-Н посредством модулирующего воздействия на активность Н1 и Н2 рецепторов уменьшают сосудистую проницаемость, гиперпродукцию слизи и гистаминолиберацию, тем самым снижая выраженность отёка и экссудации. За счёт сочетанного влияния трёх компонентов на центральные и периферические звенья кашлевого рефлекса, а также на его причину (воспаление в респираторном тракте) ренгалин оказывает противокашлевое, спазмолитическое, противотёчное действие, облегчает отхождение мокроты, способствуя быстрому выздоровлению пациента от кашля и инфекционного воспаления в дыхательных путях. Таким образом, сочетание отдельных компонентов позволяет решать разные терапевтические цели при лечении пациентов с кашлем в течение всего периода ОРИ.

Эффект применения ренгалина заключался не только в лечении самого кашля, но и в положительном влиянии на физическую и менталь-

ную составляющую здоровья, а также ночной сон пациентов. Позитивное влияние терапии нашло отражение в высоком индексе эффективности, который определили по итогам лечения врачи-исследователи.

Заключение

Терапевтическое действие ренгалина проявлялось в эффективном купировании дневного и ночного кашля. Прогрессивное снижение интенсивности кашля начиналось с первого дня применения ренгалина и продолжалось на протяжении всего периода терапии. К завершению семидневного курса лечения тяжесть кашля уменьшилась почти на 100%; минимальная его выраженность в виде остаточных проявлений (однократные кратковременные эпизоды кашля в течение суток) сохранялась примерно у четверти участников исследования. Антитуссивная активность ренгалина сопоставима с эффективностью комбинированного препарата коделак®.

Положительные изменения состояния пациентов на фоне применения ренгалина приводили

к улучшению качества их жизни и ночного сна. Препарат оказывал противокашлевое действие, способствовал выздоровлению без развития вторичных бактериальных осложнений, хорошо переносился больными и сочетался с другими лекарственными средствами для лечения ОРИ и фоновой патологии.

Таким образом, на основании результатов исследования можно заключить, что ренгалин является эффективным и безопасным лекарственным средством лечения пациентов с кашлем на фоне ОРИ. Комбинированный состав и сочетанное действие его компонентов позволяет получить антитуссивный эффект в начальном периоде заболевания при сухом, раздражающем, нарушающем повседневную активность больного кашле, и протуссивный («оптимизирующий кашель») эффект в последующем, что в итоге помогает достичь основной терапевтической цели — излечения от кашля у большинства больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г., Абросимов В.Н. Кашель. Изд 2, М.: «Эхо», 2012; 128.
2. ERS guidelines on the assessment of cough. ERS Task Force. Morice A.H., Fontana G.A., Belvisi M.G. et al. Eur Respir J 2007; 29: 1256—1276.
3. Pratter M.R. Cough and the common cold: ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest 2006; 129: 59S—62S.
4. Dipinigitis P.V., Colice G.L., Goolsby M.J. et al. Acute cough: a diagnostic and therapeutic challenge. Cough 2009; 5: 11.
5. Footitt J., Johnston S.L. Cough and viruses in airways disease: mechanisms. Pulm Pharmacol Ther 2009; 22: 2: 108—113.
6. Canning B.J. Anatomy and neurophysiology of the cough reflex. ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2006; 129: 1: 33—47.
7. Bolser D.C. Cough suppressant and pharmacologic protussive therapy: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2006; 129: 1: 238—249.
8. Chang C.C., Platter G.M.R., Brightling C.E. et al. An empiric integrative approach to the management of cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2006; 129 1: 222—273.
9. Irwin R.S., Baumann M.H., Bolser D.C. et al. Diagnosis and management of cough. Executive Summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2006; 129: 1S—23S.
10. Smith S.M., Schroeder K., Fahey T. Over-the-counter (OTC) medications for acute cough in children and adults in ambulatory settings. The Cochrane Library, 2010, Issue 9. The Cochrane Collaboration. Published by JohnWiley & Sons, Ltd.
11. Bolser D.C., Degennaro F.C. Effect of codeine on the inspiratory and expiratory burst pattern during active cough in cats. Brain Res 1994; 662: 25—30.
12. Эпштейн О.И. Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза. Успех физиол наук 2013, 44: 3: 54—76.
13. Эпштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М. и др. Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. Монография. — М.: 2005.
14. Ковалева В.Л., Зак М.С., Мартюшев А.В. и др. Противокашлевая активность сверхмалых доз антител. III Международный симпозиум «Механизмы действия сверхмалых доз», Мат Москва 2002; 254—254.
15. Kovaleva V.L., Zak M.S., Martyushev A.V. et al. Antitussive activity of antibodies in ultralow doses. III International Symposium «Mechanism of Action of Ultralow Doses». М.: 2002: 273—273.
16. Kovaleva V.L., Zak M.S., Sergeeva S., Epstein O.I. Antitussive activity of antibodies in ultralow doses. XIV World Congress of Pharmacology «The New Century of Pharmacology». Moscone Convention Center, San Francisco, California, July 7—12, 2002. Abstract Volume. Pharmacologist 2002; 44: 2: Suppl 1: 227—228.
17. Ковалева В. Л., Зак М.С., Эпштейн О. И., Сергеева С. А. Изучение влияния сверхмалых доз антител к гистамину на контрактуру гладких мышц изолированной трахеи морской свинки. X Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Мат. М.: 2003: 721—721.
18. Ковалева В. Л., Зак М.С., Эпштейн О. И., Сергеева С. А. Исследование влияния сверхмалых доз антител к брадикинину на кашлевой рефлекс у интактных и иммунизированных морских свинок. X Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Материалы. М.: 2003; 721—721.
19. Сергеева С.А., Ковалева В.Л., Зак М.С., Эпштейн О.И. Исследование противокашлевой активности сверхмалых доз антител к брадикинину у морских свинок. Тезисы докладов IX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Материалы. М.: 2002; 694—694.
20. Эпштейн О.И., Ковалева В.Л., Зак М.С., Дугина Ю.Л. Сверхмалые дозы антител к медиаторам воспаления: противокашлевые свойства антител к брадикинину, гистамину и серотонину. Бюлл эксперим биол 2003; 1: 61—64.
21. Hsu J.Y., Stone R.A., Logan-Sinclair R.B. et al. Coughing frequency in patients with persistent cough: assessment using a 24-hour ambulatory recorder. Eur. Respir J. 1994; 7: 1246—1253.
22. Тимченко В.Н., Павлова Е.Б. Использование комбинированного препарата на основе лекарственных трав с кодеином в лечении острых респираторных заболеваний у детей. Вопр совр пед 2007; 6: 5: 96—99.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Акопов А. Л. — д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии, заведующий отделением хирургической пульмонологии НИИ пульмонологии, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Александрова Е. Б. — к.м.н., заместитель главного врача по медицинской части, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Поликлиника № 5» Управления делами Президента Российской Федерации

Илькович М. М. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пульмонологии ФПО с клиникой, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский

государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Петров Д. В. — к.м.н., доцент кафедры поликлинической терапии и клинической лабораторной диагностики с курсом ОВП ИПДО, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Трофимов В. И. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии

Клинико-патофизиологические корреляции при остром инсульте, визуализируемом по КТ в разные сроки

С. А. РУМЯНЦЕВА¹, Е. В. СИЛИНА², Н. А. ГОМБОЕВА², В. А. СТУПИН¹,
Ю. Д. ВАСИЛЬЕВ³, А. Л. КОВАЛЕНКО⁴, Е. Н. КАБАЕВА^{2,3}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России

³ Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова, Москва

⁴ Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

Clinical and Pathophysiological Correlations in Acute Stroke, CT Visualized at Different Times

S. A. RUMYANTSEVA, E. V. SILINA, N. A. GOMBOEVA, V. A. STUPIN, YU. D. VASILIEV, A. L. KOVALENKO, E. N. KABAEVA

N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University, Moscow

O. M. Filatov Municipal Clinical Hospital No. 15, Moscow

Institute of Toxicology, Federal Medico-Biological Agency, St. Petersburg

Проведено клиническое исследование с включением 221 пациента с инфарктом мозга в возрасте от 32 до 93 лет, поступавших в сосудистый центр в сроки от 3 до 48 часов (в среднем через 6 часов) от момента развития клинических симптомов инсульта, подтвержденного компьютерной томографией (КТ). В зависимости от сроков визуализации очага пациенты были разделены на группы «ранней» визуализации (РВ; 50,2%) и «поздней» визуализации (ПВ; 49,8%). В группе РВ очаг выявлен на КТ в момент госпитализации, в группе ПВ — только при повторной КТ, проведенной на 2—3 сутки. У больных с ПВ установлена более выраженная фоновая тяжесть, рост летальности и неблагоприятных функциональных исходов, коррелирующих с ростом и объемом очага инсульта, по сравнению с группой РВ. Выявлены патофизиологические корреляции ферментного спектра крови и параметров кислотно-основного состояния, объясняющие позднюю визуализацию очага инфаркта мозга более поздним и тяжелым срывом механизмов поддержания стабильности внутриклеточного энергосинтеза в циклах аэробного и анаэробного гликолиза.

Ключевые слова: инсульт, инфаркт мозга, исход, компьютерная томография, визуализация, пенумбра, энергосинтез, кислотно-основное состояние, лактацидоз, гликолиз.

Two hundred twenty one patients aged 32—93 years with brain infarction, admitted to a Vascular Neurology Center in the first 3—48 hours (mean 6 hours) after the onset of the symptoms of stroke with computed tomography (CT) verified diagnosis were enrolled in the study. According to the timing of the CT-verification the patients were divided into 2 groups: «early» visualization (EV 50.2%) and «late» visualization (LV, 49.8%). In the EV group the lesion was visualized by CT on the admission (3—6 hours after the admission), in the LV group it was visualized only when CT was repeated 2—3 days after the admission. The patients in the LV group demonstrated increased severity of the underlying pathology, increased mortality and unfavourable functional outcomes correlating with the stroke lesion volume vs. the EV group. There was observed pathophysiological correlation of the blood enzymatic spectrum and acid-base balance parameters, explaining the late lesion visualization by delayed and more pronounced intracellular energy synthesis stabilization mechanisms failure in the aerobic and anaerobic glycolysis cycles.

Key words: stroke, cerebral infarction, outcome, computed tomography, vizualization, penumbra, energosynthesis, acid-base status, lactic acidosis, glycolysis.

Введение

К моменту реализации Федеральной целевой программы «Снижение заболеваемости, смертности и инвалидизации от церебрального инсульта» достигнуты большие успехи в вопросах ранней диагностики, госпитализации и оказания квалифицированной помощи больным с сосуди-

стыми церебральными катастрофами [1—4]. Однако накопление огромного клинического опыта ставит перед клиницистами много новых нерешённых задач. Одной из них является тактика по отношению к пациентам, имеющим клиническую картину острого инсульта, не подтверждаемую данными нейровизуализации, прежде всего компьютерной томографией [5], входящей в стандарты ранней диагностики [6]. Это создает проблемы в постановке диагноза и общении региональных сосудистых центров (РСЦ) и первич-

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1. РНИМУ им. Н. И. Пирогова

Таблица 1. Фоновые заболевания у больных в группах с ранней и поздней визуализацией инсульта

Фоновые заболевания	Ранняя визуализация	Поздняя визуализация	<i>p</i>
Артериальная гипертензия	111 (100%)	110 (100%)	1,0
ИБС, стенокардия	81 (73,0%)	73 (66,4%)	0,178
Мерцательная аритмия	38 (34,2%)	52 (47,3%)	0,188
Сахарный диабет	31 (27,9%)	19 (17,3%)	0,145
Постинфарктный кардиосклероз	23 (20,7%)	25 (22,7%)	0,142
Стеноз МАГ	38 (34,2%)	20 (18,2%)	0,196
Инсульт в анамнезе	29 (26,1%)	37 (33,6%)	0,142

ных сосудистых отделений (ПСО) со страховыми компаниями. Согласно Приказу МЗ РФ № 1740Н от 29.12. 2012 г. в стандарты диагностики инсульта в 90% случаев (0,9) включена «компьютерная томография головы», хотя известно, что в ранние сроки она наиболее информативна у больных с геморрагическим инсультом. Магнитно-резонансная томография (МРТ) же, которая позволяет рано идентифицировать ишемические изменения в мозге, будет оплачена страховыми компаниями только у 1 больного из 10 (0,1). Отсутствие верифицированного диагноза не позволяет в полной мере осуществлять лечебные мероприятия, и целесообразность нахождения больных в нейроблоках инсультных отделений подтверждается только наличием симптоматики. К сожалению, особенности клиники, исходы, клинико-биохимические корреляции и другие аспекты течения инфаркта мозга, визуализируемого по КТ через сутки и более после госпитализации больных, изучены и описаны в неврологической литературе недостаточно подробно.

Целью настоящего исследования стало изучение особенностей клиники и патофизиологических корреляций при инфаркте мозга, визуализируемом методом КТ в разные сроки от дебюта клинических симптомов.

Материал и методы

Из 2050 больных, пролеченных в РСЦ на базе ГКБ №15 за год, в исследование был включен 221 пациент в возрасте от 32 до 93 лет (средний возраст $69,4 \pm 13,7$, медиана — 72 года), поступавший в стационар в сроки от 3 до 48 ч от момента развития клинических симптомов инсульта. У всех больных диагноз инфаркта мозга был установлен по клиническим данным и подтвержден нейровизуализацией с помощью метода КТ в разные сроки. 90 больных (40,7%) были мужчинами и 131 (59,3%) — женщинами. В зависимости от сроков визуализации очага инфаркта по КТ, пациенты были разделены на две группы. В первую, названную группой «ранней визуализации» (РВ), вошли 111 человек (50,2%), у которых очаг ишемии с локализацией, соответствовавшей клиническим симптомам инсульта, был выявлен уже в ходе первого КТ исследования, проведенного на момент госпитализации. 27 больным данной группы на 3—15 (в среднем на 6 сутки) для уточнения динамики морфологических изменений в мозге была проведена повторная КТ. Группу «поздней визуализации» (ПВ) составили 110 (49,8%) больных, у которых очаг ишемии был обнаружен только при КТ, проведенной повторно, на 2—3 сутки от момента госпитализации, так как при первом исследовании обнаружить даже ранние ишемические интрацеребральные изменения не удалось.

У 107 (48,4%) пациентов инсульт локализовался в левом полушарии, у 88 (39,8%) — в правом, у 20 (9,0%) — в вертебробазилярной системе (ВБС), у 6 (2,7%) пациентов он был мультифокальным. Уровень сознания при госпитализации варьировал от ясного до комы. Большинство [171 (77,4%)] пациентов поступало в ясном сознании, у 21 (9,5%) — сознание было нарушено до уровня сонливости, у 23 (10,4%) — до оглушения, 5 (2,3%) — до сопора, у 1 (0,5%) — до комы. Частота и выраженность различных фоновых сосудистых заболеваний в двух группах больных, представленные в табл. 1, были сопоставимы.

При сравнительном анализе было установлено, что сроки визуализации инсульта не зависели от его локализации. Так, инсульт в левом полушарии был зарегистрирован в 52 (46,8%) случаях в группе ранней и у 55 (50,0%) больных в группе поздней визуализации; в правом полушарии он был диагностирован у 46 (41,4%) и 42 (38,2%) больных соответственно; в ВБС у 13 (11,7%) и 7 (6,4%) ($p > 0,05$) больных.

Оценка состояния пациентов проводилась в динамике (1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 20-е сутки) на основании комплекса клинических, лабораторных и инструментальных методов:

1. КТ
2. Соматический и неврологический осмотры
3. Общий и биохимический анализ крови
4. Кислотно-щелочное состояние (КЩС) и ферментный спектр венозной крови
5. Когорта шкал, оценивающих неврологические расстройства, динамику социальной адаптации и мобильности пациентов (шкала NIH, индекс социальной адаптации Bartel, модифицированная шкала Renkin).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программ SPSS 15.0 с применением стандартных параметрических и непараметрических критериев оценки статистической значимости. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке сроков поступления в стационар, было установлено, что в период до 3 часов от начала заболевания были госпитализированы 19 (17,1%) пациентов группы РВ и 15 (13,6%) — группы ПВ; в период от 3 до 6 часов — 21 (18,9%) РВ и 15 (13,6%) пациентов ПВ; через 6—12 часов — 27 (24,3%) пациентов РВ и 26 (23,6%) — ПВ; через 12—24 часа — 44 (39,7%) группы РВ и 31 (28,3%) — ПВ; и через 24—48 часов в стационар поступило 23 (20,9%) больных только группы поздней визуализации. Таким образом, максимальное число поздно госпитализированных больных пришлось на вторую группу, при этом ни на первые, ни на вторые сутки от момента появления клинических симптомов, очага ишемии у них выявлено не было. Отсутствовали такие «классические» ранние признаки инсульта, как объёмные воздействия на ликворные пространства, снижение рентгеновской плотности вещества мозга,

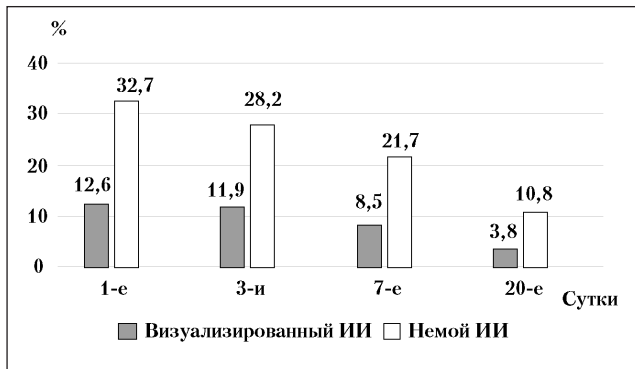


Рис. 1. Динамика доли больных исследуемых групп с нарушенным сознанием (%).

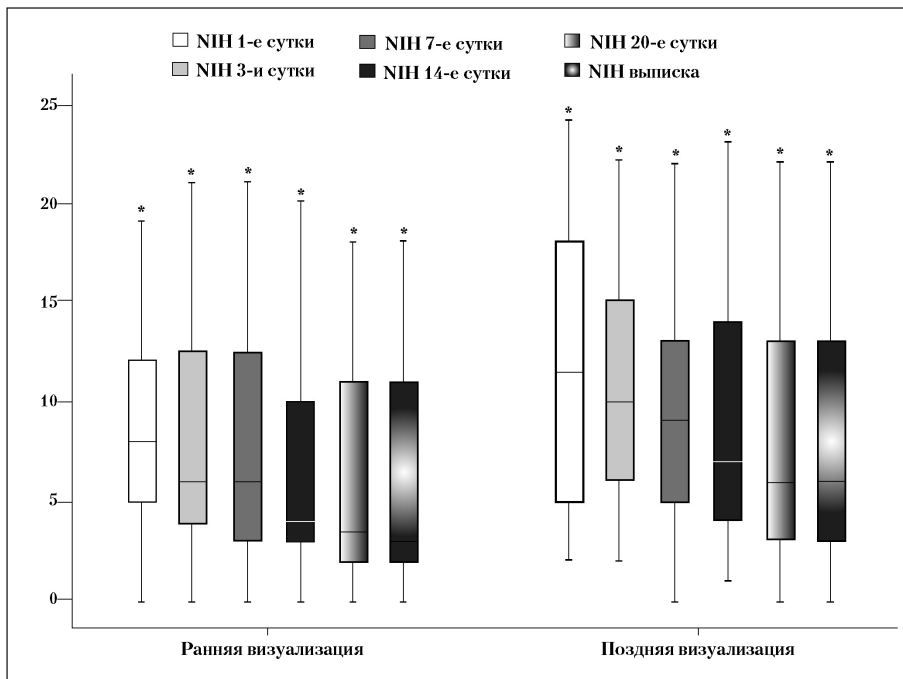


Рис. 2. Динамика симптоматики по шкале NIH в группах больных с РВ и ПВ.

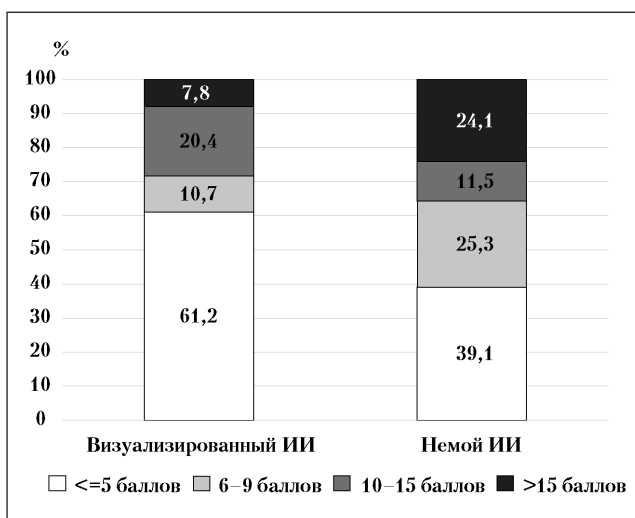


Рис. 3. Процентные соотношения симптоматики к выписке по шкале NIH у больных с РВ и ПВ.

появление гиперденсивных участков по ходу средней мозговой артерии, снижение дифференцировки между серым и белым веществом головного мозга [6—9]. Не обнаруживалась и гиподенсивность, которую многие исследователи считают высокоспецифичным (95%) ранним симптомом при визуализации очага ишемии в период от 3 до 6 часов от момента появления клинических симптомов инсульта [7, 8, 10, 11].

При оценке фонового состояния больных и его динамики было установлено, что большая фоновая тяжесть на момент госпитализации была отмечена в группе с ПВ, что было обусловлено в том числе, большей частотой расстройств сознания, которые

наблюдались у 32,7% больных группы поздней и всего у 12,6% — ранней визуализации; $p < 0,05$). Эта тенденция сохранялась весь период нахождения больных в стационаре. Так, в группе ПВ больных с нарушенным сознанием было в 2,6 раза больше на 1-е сутки, в 2,4 раза больше на 3 сутки, и в 2,6 раза больше на 7-е сутки, чем в группе РВ ($p < 0,05$) (рис. 1).

При оценке по шкале NIH пациенты с ПВ также имели более выраженную очаговую неврологическую симптоматику. Средний балл по NIH составил $8,52 \pm 0,46$ ($Me = 8$ при межквартильном интервале 5/12 баллов) в группе РВ и $13,87 \pm 0,61$ ($Me = 14$ при межквартильном интервале 9/19 баллов) в группе

ПВ. Таким образом, при ПВ тяжесть неврологической симптоматики была в среднем на 6 баллов больше, чем при РВ ($p < 0,001$). Так же как и расстройства сознания, тенденция к большей тяжести очаговой симптоматики прослеживалась в группе ПВ на протяжении всего периода наблюдения за больными в стационаре, несмотря на однотипный объем и характер терапии у больных обеих групп. На момент выписки (с 7 по 48-е сутки; $Me = 21$ сутки) у пациентов группы РВ средний балл по шкале NIH равнялся 4, варьируя от 0 до 25, в то время как в группе ПВ он был на 2 балла больше, составляя 6 и варьируя от 0 до 26 (рис. 2).

К моменту выписки результат менее 6 баллов по шкале NIH, свидетельствующий о хорошем исходе, был у 61,2% больных группы РВ и 39,1% группы ПВ, а свыше 15 баллов, отражающий грубый неврологический дефицит, у 7,8 и 24,1% больных соответственно ($p < 0,01$) (рис. 3).

Разница в тяжести очаговой симптоматики нашла отражение и в особенностях функционального статуса больных, оцениваемого по индексу Bartel. Так, на 20-е сутки в группе ранней визуализации он составил $52,25 \pm 23,69 / 2,65$ ($Me=55$ при межквартильном интервале 30/70 баллов) в группе больных с ранней и $44,80 \pm 28,38 / 3,28$ ($Me=40$ при межквартильном интервале 20/70 баллов) — с поздней визуализацией инсульта ($p<0,05$) (рис. 4).

Более тяжёлое течение инсульта, выявленное в группе больных с поздней визуализацией, влияло и на рост летальности. Так, общая госпитальная летальность составила 18,1% ($n=40$), при этом она была в 2,09 раза выше при поздней ($n=27$; 24,5%), чем при ранней визуализации ($n=13$; 11,7%; $p<0,05$). Летальные исходы были констатированы у больных групп РВ и ПВ в период от 1 до 48 суток ($Me=12$ суток). При этом в период до 10 суток, когда неблагоприятный исход обусловлен размером и тяжестью самого инсульта [12–14], умерло 19 из 40 (48,7%); 51,3% больных умерло позднее 10 суток в результате развития вторичных осложнений и синдрома полиорганной недостаточности. При этом у пациентов с РВ летальность составила 33,3% в период до 10 дней и 66,7% — позднее 10 суток (до 25 дней). При ПВ, наоборот, максимальная летальность была в первые 10 дней заболевания ($n=15$; 55,5%), а позднее 10-х суток (до 48 дней) умерло 44,5% ($n=12$) больных ($p<0,05$). Сроки госпитальной летальности в группах РВ и ПВ с шагом в 5 дней представлены на рис. 5.

Более высокая летальность, тяжесть очаговой симптоматики и худшие функциональные исходы коррелировали с разными размерами очагов ишемии у больных групп ранней и поздней визуализации. Так, объём очага ишемии в группе РВ составил $56,1 \pm 10,1$ см³ ($Me=14,62$ см³ при межквартильном интервале 2,94/76,28 см³ [0,28; 257,78]). На повторном КТ, выполненном на 3–15 сутки (в среднем (Me) на 6 сутки), объём ишемии составил $69,0 \pm 15,8$ см³ ($Me=27,10$ см³ при межквартильном интервале 7,14/104,38 см³ [1,76; 297,73]). В группе ПВ на 1 сутки госпитализации очаг ишемии не обнаруживался, а при повторном исследовании, проведённом в среднем (Me) на 3-и сутки (при межквартильном интервале 2/6 сутки) от дебюта клинических симптомов, этот объём составил уже $105,8 \pm 15,9$ см³ ($Me=56,38$ см³ при межквартильном интервале 5,87 / 142,56 см³ [0,86; 390,32]). Таким образом, в ходе исследования был выявлен парадокс, свидетельствующий о том, что объём очага ишемии, не визуализируемого в ранние сроки инсульта, к моменту визуализации, т.е. на 2–3 сутки, становится в 2,08 раза больше, чем очаг, рано проявляющийся на КТ ($p<0,05$) (рис. 6).

Представленные данные оказались неожиданными для исследователей и требовали пато-

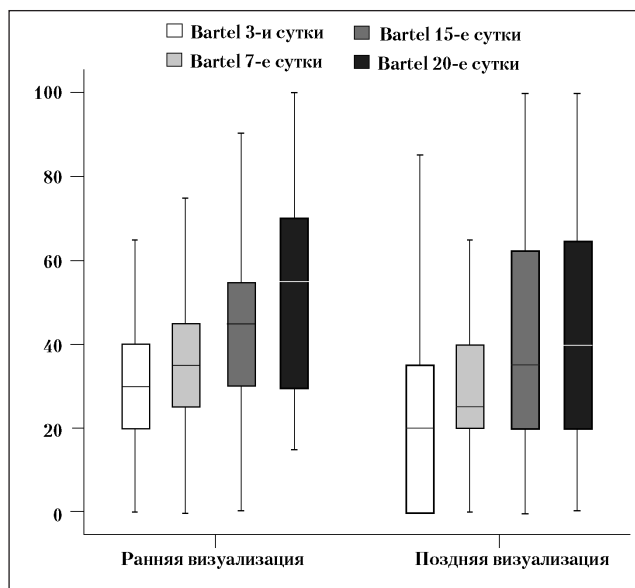


Рис. 4. Динамика состояния больных групп РВ и ПВ по индексу Бартель.

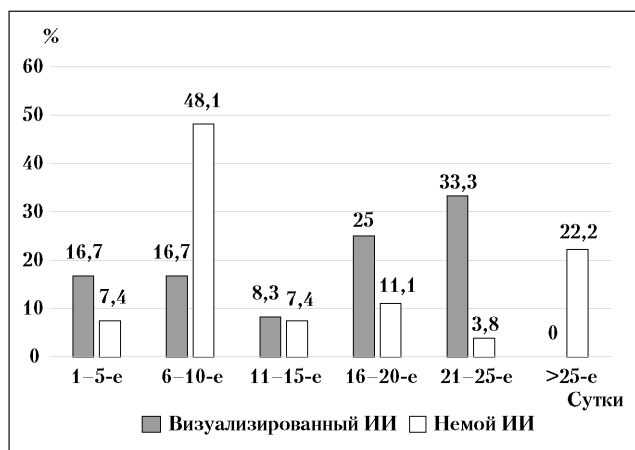


Рис. 5. Сроки госпитальной летальности больных (в %) в группах с РВ и ПВ.

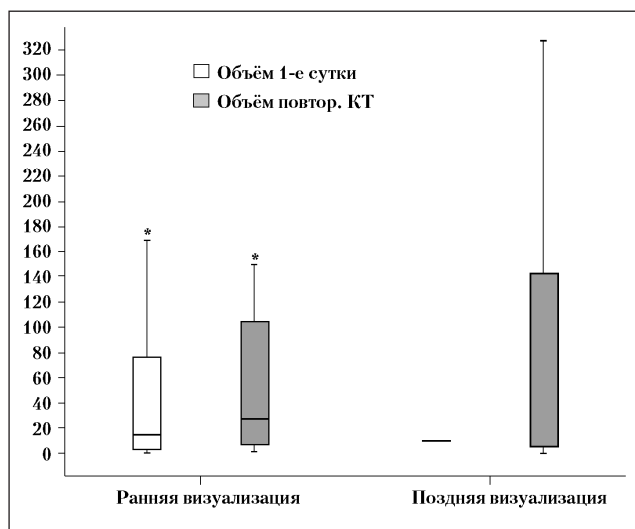


Рис. 6. Фоновые значения и динамика объёма ишемии по данным КТ при ранней и поздней визуализации.

Таблица 2. Кислотно-основной состав венозной крови у больных групп РВ и ПВ в динамике

Показатель и его нормальные значения	Группа	Динамика показателей		
		1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
pH (7,35—7,45)	РВ	7,36	7,41	7,39
		7,32/7,40	7,35/7,45	7,35/7,41
		7,37	7,39	7,38
pCO ₂ вена (46—58 мм рт. ст.)	РВ	7,34/7,39	7,33/7,42	7,33/7,41
		45,0 *	42,9	41,0 *
		39,5/48,5	34,7/47,2	34,0/44,5
pO ₂ вена (37—41 мм рт. ст.)	РВ	46,1 *	44,0	45,1 *
		42,1/50,6	39,4/52,3	35,8/50,9
		36,4	42,6	41,0
SaO ₂ (95—99%)	РВ	27,8/41,9	30,5/51,1	36,6/48,0
		36,0	38,5	37,8
		26,8/42,2	34,9/46,0	31,6/43,3
Лактат (0,5—1,6 ммоль/л)	РВ	66,4	81	83
		48/77,5	75/89	76/89,9
		64,4	71	74
сНCO ₃ (21—28 ммоль/л)	РВ	50,8/77,0	65/82	61/79,5
		2,1	1,9 *	1,6 *
		1,6/2,4	1,2/2,7	1,0/2,3
	ПВ	1,9	2,1 *	2,1 *
		1,6/2,2	1,6/2,7	1,1/2,8
		24,3*	25,6	23,8
	РВ	22,1/25,9	24,2/27,8	22,0/26,5
		25,1*	25,4	24,8
		23,5/27,7	22,4/26,6	21,1/27,9

Примечание. * — достоверное межгрупповое различие в одноимённой точке исследования при $p < 0,05$.

физиологического объяснения более позднего появления КТ-признаков церебральной ишемии в группе больных с ПВ. Как известно, метод КТ, стандартно применяющийся для фоновой визуализации объёма и характера церебрального поражения у больных с подозрением на острый инсульт, поступающих в РСЦ или ПСО, использует физические принципы, позволяющие увидеть критическую ишемию мозговой ткани с выявлением зон функционального молчания (пенумбры) и очагового некроза (ядерная зона) [6, 8]. В основе их развития у больных с ишемическим инсультом лежит разная степень локального энергодефицита, обусловленного снижением интрацеребрального кровотока, приводящего к расстройствам внутриклеточного энергосинтеза [15—19]. В связи с этим была сделана попытка оценить биохимические константы, характеризующие у пациентов двух групп такие процессы внутриклеточного энергосинтеза, как аэробный и анаэробный гликолиз.

Для этого были проанализированы некоторые параметры кислотно-основного состояния (КОС) и ферментного спектра крови (табл. 2).

При исследовании не было получено достоверной разницы у больных двух групп ни по уровням pH, ни по парциальному давлению кислорода и сатурации. Однако зарегистрирована более выраженная и длительная депрессия pO₂ и SaO₂ у больных группы ПВ, что говорит об усилении кислородного голодания у данной категории пациентов. Парциальное напряжение углекислого газа (pCO₂)

на 1-е и 7-е сутки венозной крови было ниже при РВ, что является ответом на гипоксемию, направленным на улучшение доставки кислорода в капилляры и оксигенацию. Кроме того, к моменту поступления в венозной крови у больных с ПВ концентрация бикарбоната (HCO₃) и оснований (BEb) варьировала в пределах нормы, при РВ — их уровень был снижен, что свидетельствует о развивающемся метаболическом ацидозе уже на 1-е сутки. К 3-м суткам уровень HCO₃ нормализовался в группе РВ, что наряду с ростом pH свидетельствует об активации механизмов компенсации. Так, на 1-е сутки пациентов с pH меньше 7,36 было 40,8% в группе РВ и 34,2% в группе ПВ ($p < 0,05$). Таким образом, у пациентов с РВ на 1-е сутки КОС и кислородный статус отличались наибольшим дисбалансом, но к 3—7-м суткам отмечалось постепенное их восстановление, а при ПВ, наоборот, отмечалось нарастание тканевой гипоксии с максимальной выраженностью к 3—7-м суткам, что коррелировало с более тяжёлым течением и ранней летальности больных. В то же время показатели, характеризующие завершённость или незавершённость анаэробного гликолиза, а именно уровни лактата и PCO₂, достоверно различались с превалированием незавершённости ферментации глюкозы в группе поздней визуализации.

Помимо параметров КОС, общепринятым маркёром расстройств гликолиза является изменение уровня фермента лактатдегидрогеназы-1 (ЛДГ-1), также исследованной в двух группах больных в динамике. В ходе анализа уровней

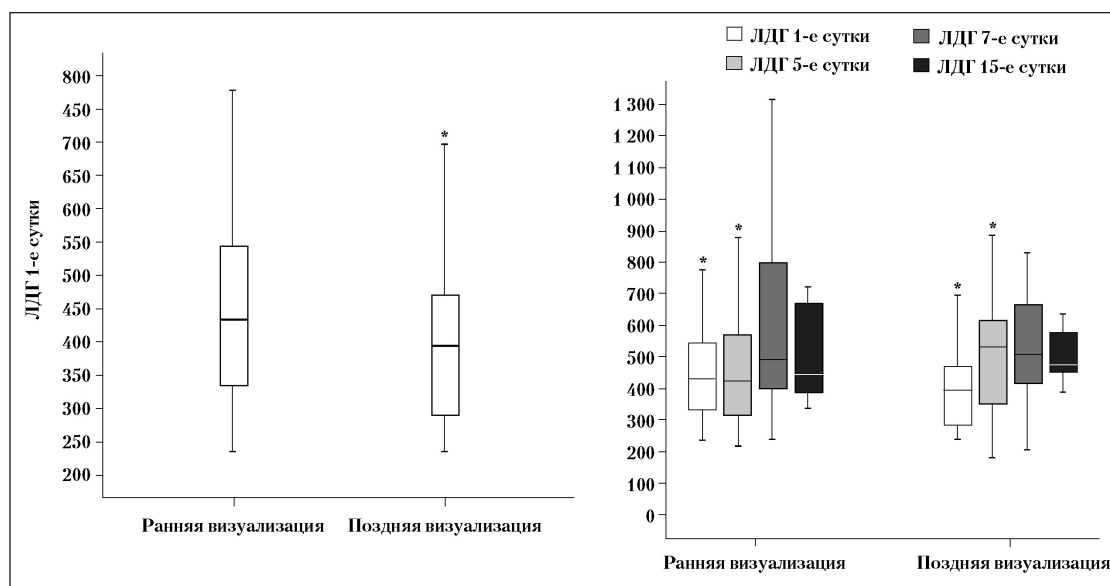


Рис. 7. Уровень ЛДГ при госпитализации и в динамике в группах ранней и поздней визуализации.

лактата и ЛДГ-1 обнаружены различия, позволяющие приблизиться к раскрытию механизмов разных сроков визуализации очага ишемии по КТ. Известно, что соотношение уровней лактата и катализирующего его фермента ЛДГ-1 позволяет охарактеризовать степень ингибирования трансформации глюкозы в пировиноградную кислоту с ростом лактата и подавлением синтеза ацетилкоэнзима-А, что является отражением грубой депрессии процессов энергосинтеза в циклах анаэробного и аэробного гликолиза при церебральной ишемии. Представленный в основном в сердце и мозге фермент гликолиза ЛДГ-1, катализирующий превращение лактата в пируват с образованием NADH^+ , синтезируемый организмом при дефиците внутриклеточной энергии, был достоверно выше (в среднем на 14%) у больных группы РВ (медиана ЛДГ-1 на 1-е сутки пребывания больных в стационаре составила 434 нмоль/с • л при РВ и 396 нмоль/с • л при ПВ; $p < 0,05$). Именно в этой группе рост ЛДГ-1 приводил к изменению уровня лактата. Эффект повышения уровня ферментов, способствующих переходу от анаэробного к аэробному гликолизу при увеличении уровня лактата, является прямым признаком возрастающих энергетических запросов ткани на фоне невозможности перейти на этап полного аэробного гликолиза ввиду недостатка глюкозы или кислорода [16, 20]. Именно такой эффект роста лактата при повышении ЛДГ-1 наблюдался в группе больных с поздней визуализацией, особенно к третьим суткам, когда у них, наконец, выявлялся очаг ишемии.

Таким образом, отсутствие полной трансформации глюкозы в цикле глюкозо-пируватного и лактатного превращений лежит в основе от-

сутствия полноценного энергосинтеза в цикле анаэробного гликолиза [16, 20]. Это свидетельствует о большем накоплении лактата в результате ингибирования аэробного и активации анаэробного гликолиза на фоне более раннего развития критической ишемии тканей головного мозга при РВ, приводящего к раннему же появлению некрозо-апоптотического очага, визуализируемого на КТ. В то же время повышение ЛДГ-1 говорит о более ранней активации компенсаторно-приспособительных механизмов преодоления ишемии. Эффект увеличения уровня ЛДГ в случаях реализации механизмов компенсации должен сопровождаться падением лактата. Это подтверждается и более выраженным ростом ЛДГ-1 к 3-м суткам при поздней визуализации инсульта. В среднем концентрация ЛДГ-1 на 3-и сутки пребывания больных в стационаре составила 425 нмоль/с • л при РВ и 531 нмоль/с • л при ПВ, при этом рост ЛДГ-1 в среднем составил 9 ($p > 0,05$) и 135 ($p < 0,05$) нмоль/с • л соответственно (рис. 7, 8). Полученные данные свидетельствуют об истощении резко активированных в дебюте инсульта резервных возможностей организма у больных с ПВ, что приводит в конечном итоге к более резким срывам ауторегуляции с лавинообразным ростом объемов очага ишемии к моменту его визуализации по КТ.

Полученные данные, коррелирующие с более лёгким течением и лучшим исходом РВ, говорят о защитной роли нарастающей ишемии, характерной для атеротромботического инсульта. Ведь именно в группе с РВ частота атеротромботического инсульта, обусловленного стенозирующими поражениями сонных артерий, была выше, поскольку при постепенном развитии сосудистой

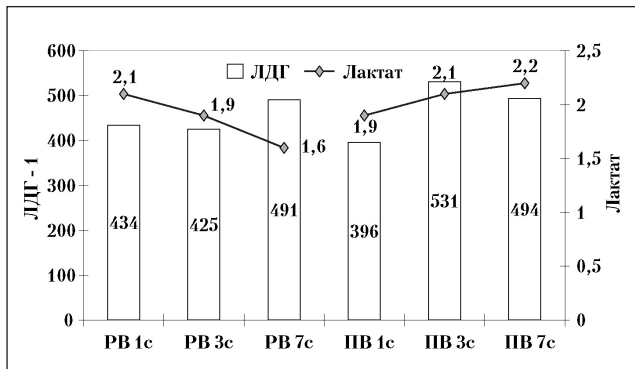


Рис. 8. Динамика ЛДГ-1 и лактата венозной крови у больных групп РВ и ПВ на 1-е, 3-е и 7-е сутки.

катастрофы организм успевает развернуть каскад приспособительных механизмов.

Жёсткие рамки стандартов и трудоёмкость процесса, которые делают практически невозможным проведение постоянного мониторингирования динамики морфологических изменений вещества мозга по КТ или МРТ при остром инсульте, требует поиска иных простых и технологичных методов определения патофизиологических паттернов поздней визуализации инфаркта мозга. Одним из таких методов до момента выяв-

ления очага может стать оценка динамики КОС, уровня лактата и ЛДГ.

Полученные в ходе исследования данные о механизмах развития поздней визуализации инфаркта мозга, требуют применения препаратов, действие которых направлено на нормализацию течения как анаэробного, так и аэробного гликолиза [20–23]. Эту роль может успешно сыграть известный отечественный препарат цитофлавин, включённый в списки ЖНВЛС и стандарты лечения острого инсульта. Являясь многокомпонентным энергокорректором, он, помимо высокой дозы (1000 мг) янтарной кислоты — ключевого метаболита цикла аэробного гликолиза, содержит такие коферменты, как никотинамид и рибофлавин, а также рибоксин, стимулирующий глюкозо-пируватные трансформации в цикле анаэробного гликолиза [21, 23]. У препарата существует доказательная база, объективизирующая его положительное действие и на клиническое течение, и на объёмы очагов ишемии [24–28]. Это делает целесообразным его применение в ранние сроки инфаркта мозга в насыщающих и поддерживающих дозах (от 20,0 до 40,0 мл/сутки в/в капельно на 5–10% глюкозе или физиологическом р-ре), в том числе, до визуализации очага ишемии на КТ.

ЛИТЕРАТУРА

- Парфенов В.А., Хасанова Д.Р. Ишемический инсульт. М.: МИА, 2012; 288.
- Румянцев С.А., Силина Е.В., Свищева С.П. Медицинские и организационные проблемы до- и постинсультной инвалидизации. Журн неврол психиатр им. С.С. Корсакова, Инсульт 2013; 2: 111: 9: 43–49.
- Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Айриян Н.Ю. Эпидемиология инсульта в Российской Федерации. Cons med 2005; 1: 10–12.
- Стаховская Л.В., Ключихина О.А., Богатырева М.Д., Коваленко В.В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009–2012). Журн невролог психиатр им. С.С. Корсакова 2013; 5: 4–10.
- Moulin T., Cattin F., Crepin-Leblond T., Tatu L., Chavot D., Piotin M., Viel J.F., Rumbach L., Bonneville J.F. Early CT signs in acute middle cerebral artery infarction: predictive value for subsequent infarct locations and outcome. Neurology 1996; 47: 2: 366–375.
- Губский Л.В. Клинико-томографические сопоставления и оценка характера внутримозговых изменений при инсульте с использованием магнитно-резонансной томографии. Автореф. дисс. докт., 2009; 46.
- von Kummer R., Allen K.L., Holle R., Bozzao L., Bastianello S., Manelfe C., Bluhmki E., Ringleb P., Meier D.H., Hacke W. Acute stroke: usefulness of early CT findings before thrombolytic therapy. Radiology 1997; 205: 2: 327–333.
- von Kummer R., Grond M., Sobesky J., SchmlUling S., Heiss W.D. Early computed-tomography abnormalities in acute stroke. Lancet 1997; 350: 9091: 1595–1596.
- von Kummer R. CT of acute cerebral ischemia. Radiology 2000; 216: 2: 611–612.
- Moulin T., Cattin F., Crepin-Leblond T., Tatu L., Chavot D., Piotin M., Viel J.F., Rumbach L., Bonneville J.F. Early CT signs in acute middle cerebral artery infarction: predictive value for subsequent infarct locations and outcome. Neurology 1996; 47: 2: 366–375.
- Tanaka C., Ueguchi T., Shimosegawa E., Sasaki N., Johkoh T., Nakamura H., Hatazawa J. Effect of CT acquisition parameters in the detection of subtle hypodensity in acute cerebral infarction: a phantom study. AJNR Am J Neuroradiol 2006; 27: 1: 40–45.
- Пирадов М.А. с соавт. Синдром полиорганной недостаточности при тяжелых формах инсульта (клинико-морфологическое исследование). Неврол журн 2006; 5: 23–29.
- Пирадов М.А., Румянцев С.А. Синдром полиорганной недостаточности при инсульте. Тезисы всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной неврологии, психиатрии и нейрохирургии». СПб-б.: 2003; 328.
- Румянцев С.А., Федин А.И. Неврологические расстройства при синдроме полиорганной недостаточности. М.: ЗАО РКИ «Северопресс», 2002; 252.
- Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М., Медицина, 2001; с. 327.
- Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. М.: Мир, БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009; 469.
- Румянцев С.А., Силина Е.В., Болевич С.Б., Меньшова Н.И. Закономерности течения свободнорадикальных процессов и прогноз ишемического и геморрагического инсульта. Журн неврол психиатр им. С.С. Корсакова 2011; 12: 2: 36–42.
- Румянцев С.А., Силина Е.В., Федин А.И., Болевич С.Б. Свободнорадикальные процессы у больных с острым нарушением мозгового кровообращения в остром периоде. Журн невролог психиатр им. С.С. Корсакова 2007; 235–236.
- Stanner S.A., Hughes J., Kelly C.N., Buttriss J. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. Public Health Nutr 2004; 407–422.
- Румянцев С.А. с соавт. Критические состояния в клинической практике. М.-СПб.: Международная издательская группа «Медицинская книга», 2011; 720.
- Агафьина А., Коваленко А., Румянцев С., Скоромец А., Ключева Е., Суслина З., Кухвичев И., Шоломов И., Белоногов М. Эффективность нейрометаболического протектора цитофлавина у больных, перенесших ишемический инсульт, в раннем восстановительном периоде (многоцентровое рандомизированное исследование). Врач 2006; 1: 60–65.

22. Камчатнов П.Р., Чугунов А.В., Михайлова Н.А. Коррекция свободнорадикального окисления — патогенетический подход к лечению острого ишемического инсульта. Журн неврол психиатр, Инсульт 2009; 10: 65—68.
23. Румянцева С.А., Афанасьев В.В., Силина Е.В. Патфизиологическая основа комплексной нейропротекции при ишемии мозга. Журн неврол психиатр им. С.С. Корсакова. 2009; 109: 3: 64—68.
24. Одинак М.М., Янишевский С.Н., Цыган Н.В. и др. Применение сукцинатов для коррекции метаболических нарушений в зоне ишемической полутени у пациентов с инсультом. Журн неврол психиатр, Инсульт 2013; 12: 55—60.
25. Одинак М.М., Скворцова В.И., Румянцева С.А., Вознюк И.А., Стаховская Л.В. и др. Оценка эффективности цитофлавина у больных в остром периоде ишемического инсульта. Журн неврол психиатр им. С.С. Корсакова. 2010; 110: 12: 29—36.
26. Румянцева С.А., Федин А.И., Болевич С.Б., Силина Е.В. Влияние ранней коррекции энергетического и свободнорадикального гомеостаза на клиническую и морфологическую картину инфаркта мозга. Журн невролог психиатр им. С.С. Корсакова 2010; 110: 8: 16—21.
27. Стаховская Л.В., Румянцева С.А., Силина Е.В., Бельская Г.Н., Чефранова Ж.Ю., Новикова Л.Б., Попов Д.В. Лечение ишемического каротидного инсульта с позиций доказательной медицины (результаты многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого клинического исследования). Фарматека 2011; 9: 60—66.
28. Суслина З.А., Румянцева С.А., Клочева Е.Г., Пирадов М.А., Романцов М.Г., Коваленко А.Л. Эффективность цитофлавина при ишемии головного мозга. Клин мед 2010; 3: 50—53.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Румянцева Софья Алексеевна — д.м.н., профессор кафедры неврологии ФУВ ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России; г. Москва, Россия.

Силина Екатерина Владимировна — д.м.н., профессор кафедры патологии человека ИПО ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, г. Москва, Россия (silinaekaterina@mail.ru); г. Москва, Россия.

Гомбоева Номин Ажиповна — аспирант ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова МЗ РФ; врач-невролог; г. Москва, Россия.

Ступин Виктор Александрович — д.м.н., профессор, зав.кафедрой госпитальной хирургии № 1 лечебного факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России; г. Москва, Россия.

Коваленко Алексей Леонидович — д.б.н., Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Васильев Юрий Денисович — к.м.н., заведующий отделением нейровизуализации ГКБ № 15 им. О. М. Филатова Департамента Здравоохранения г. Москва

Кабаева Екатерина Николаевна — врач невролог отделения нейрореанимации РСЦ ГКБ № 15 г. Москва, аспирант ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова МЗ РФ; г. Москва, Россия.

Влияние параметра «скорость введения» при выполнении теста «Аномальная токсичность» на обеспечение качества антибиотика группы цефалоспоринов — цефтриаксона

М. В. ШАРОЙКИНА, М. С. РЯБЦЕВА, Е. Л. КОВАЛЕВА, Н. П. НЕУГОДОВА

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Influence of the Parameter «The Rate of Administration» During the Test «Abnormal Toxicity» on Quality Control of Ceftriaxone an Antibiotic of the Cephalosporin Group

M. V. SHAROYKINA, M. S. RYABTSEVA, E. L. KOVALEVA, N. P. NEUGODOVA

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

Изучено влияние скорости введения при выполнении теста «Аномальная токсичность» на оценку качества антибиотика цефтриаксона в сравнительном экспериментальном исследовании на основе методических подходов ГФ XII и ЕФ. Приведены рекомендации к проведению испытания «Аномальная токсичность» для препаратов цефтриаксона.

Ключевые слова: аномальная токсичность, антибиотики, цефтриаксон, примеси.

The influence of the rate of administration was examined during the test «Abnormal toxicity» on the quality control of ceftriaxone in a comparative experimental study on the basis of the methodologies Rus. Ph. XII and Eur. Ph. Recommendations are issued for conducting study entitled «Abnormal toxicity» for the formulations of ceftriaxone.

Key words: abnormal toxicity, antibiotics, ceftriaxone, impurities.

Введение

При оценке качества антибиотиков природного происхождения или полученных полусинтетическим путём важная роль отводится результатам биологического контроля, в частности испытанию на аномальную токсичность, что особенно важно, поскольку на фармацевтический рынок РФ поступают лекарственные средства, как в условиях соблюдения международных стандартов GMP, так и лекарственные средства из стран, в которых предприятия работают по национальным стандартам. Данный тест служит для выявления продуктов разложения или других нежелательных примесей при нарушении процесса производства, транспортировки или хранения [1], и, таким образом, гарантирует безопасность применения препарата для пациента в клинической практике.

Для эффективного контроля качества по указанному показателю условия проведения испытания должны быть стандартизованы. Основными параметрами, определяющими выявление ано-

мальной токсичности антибиотика является величина тест-дозы, вводимая животному внутривенно в объёме 0,5 мл, и скорость, с которой осуществляется введение [2].

В общей фармакопейной статье (ОФС 42-0060-07) «Аномальная токсичность» — основной тест Государственной фармакопеи (ГФ XII) [3] — указано, что испытуемые растворы в объёме 0,5 мл должны вводиться внутривенно со скоростью 0,1 мл в секунду, то есть объём 0,5 мл раствора должен быть введён в течение 5 секунд. Такая же скорость введения растворов при испытании на токсичность принята и в Фармакопее США (ФСША) [4]. В Европейской Фармакопее (ЕФ) [5] время введения тест-дозы препарата в 0,5 мл раствора составляет 15–30 секунд (то есть скорость введения — от 0,1 мл за 3 секунды до 0,1 мл за 6 секунд) [1].

Различие методических подходов ГФ XII и ЕФ к проведению испытания усложняет оценку качества антибиотиков по показателю «Аномальная токсичность».

Препарат, введённый внутривенно в одной и той же дозе, но с различной скоростью — 0,1 мл/с или (0,1 мл/3 с — 0,1 мл/6 с), может вызывать эффекты различной интенсивности, что

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 127051, Москва, Петровский бульвар, 8. ФГБУ НЦЭСМП

приводит к получению неоднозначных результатов испытаний [1].

Антибиотики группы цефалоспоринов представляют самый многочисленный класс антибактериальных препаратов, получаемых полусинтетическим путём, для которых должен быть предусмотрен тест на «Аномальную токсичность».

В результате проведённого сравнительного анализа нормативной документации на зарегистрированные в России препараты этой группы антибиотиков установлено, что в настоящее время существует значительный разброс в величинах тест-доз и скорости введения для одного и того же препарата разных производителей. Например, для 30 из 31 зарегистрированного препарата цефтриаксона в лекарственной форме порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, величина тест-дозы составляет — 30 мг на мышшь, но скорость введения различается и находится в диапазоне от 0,1 мл/с до 0,1 мл/12 с.

Исходя из этого, актуальным представляется изучение влияния скорости введения на выявление аномальной токсичности при оценке качества препаратов цефтриаксона.

Цель работы заключалась в изучении влияния параметра «скорость введения» при выполнении теста «Аномальная токсичность» на оценку качества антибиотика в сравнительном экспериментальном исследовании препаратов цефтриаксона на основе методических подходов ГФ XII и ЕФ.

Материал и методы

Поскольку готовая лекарственная форма фактически представляет собой распылку субстанции (порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения), сравнительное исследование проводили на образцах субстанций цефтриаксона натрия зарубежных производителей (Китай):

- производитель № 1;
- производитель № 2;
- производитель № 3;
- производитель № 4;
- производитель № 5.

Эксперименты выполняли на белых мышках самках (ГУ НЦ «Биомедицинские Технологии» РАМН Филиала «Андреевка»). Животных содержали в виварии согласно санитарным правилам [6] на стандартном рационе, доступ к корму и воде «ad libitum» («по желанию»).

Перед опытом для стабилизации массы тела мышей лишали корма и воды. Через два часа их взвешивали, отбирали особей с массой тела 20 ± 1 г в группы по 5 штук.

Как правило, в испытании на аномальную токсичность используется тест-доза равная ЛД₁₀. Согласно данным доклинических исследований установлено, что для цефтриаксона значение максимально переносимой дозы (ЛД₁₀) составляет 30 мг на мышшь и средней летальной дозы (ЛД₅₀) — 50 мг на мышшь. В качестве тест-доз были выбраны дозы, близкие к ЛД₁₀ и ЛД₅₀.

Испытуемые растворы вводили внутривенно в латеральную вену хвоста однократно в объёме 0,5 мл на мышшь согласно требованиям ГФ XII со скоростью 0,1 мл/с и ЕФ со скоростью 0,1 мл/3 с и 0,1 мл/6 с для каждой тест-дозы. За состоянием подопытных животных наблюдали на протяжении 48 часов, учитывали картину интоксикации и время гибели животных.

Результаты и обсуждение

Внутривенное введение исследуемых серий субстанций производителей № 1 и № 2 в дозе 30 мг/мышшь со скоростью 0,1 мл в секунду не вызывало признаков интоксикации, а также гибель животных на протяжении всего периода наблюдения (табл. 1).

Однако введение образцов субстанций производителей № 3, № 4 и № 5 в той же дозе с той же скоростью сопровождалось возникновением у животных признаков интоксикации: нарушение дыхания и координации движения, клонико-тонические судороги. В течение 5 минут после введения испытуемых растворов отмечалась гибель животных (по 1 животному в каждой группе). Согласно требованиям ГФ, для данных субстанций было проведено повторное испытание. При этом образец субстанции производителя № 4 выдерживает испытание — гибели животных во второй группе не было отмечено (т.е. суммарно в двух опытах гибель составила 1 животное из 10), что соответствует требованиям ГФ XII. Образцы субстанций производителей № 3 и № 5 не выдержали испытание в соответствии с требованиями ГФ XII: суммарно в двух опытах у производителя № 3 отмечена гибель 3 животных из 10, у производителя № 5 — 2 животных из 10.

При введении образцов субстанций всех производителей в дозе 30 мг/мышшь со скоростью 0,1 мл в 3 секунды или 6 секунд наблюдалась хорошая переносимость без признаков интоксикации и гибели животных.

Таблица 1. Результаты испытания на аномальную токсичность образцов субстанций зарубежных производителей

Производитель	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Скорость введения	Гибель животных				
	Доза 30 мг/мышшь				
0,1 мл/с	0/5	0/5	3/10	1/10	2/10
0,1 мл/3 с	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
0,1 мл/6 с	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Доза 50 мг/мышшь				
0,1 мл/с	2/10	3/10	7/10	5/10	9/10
0,1 мл/3 с	0/5	0/5	2/10	0/5	5/10
0,1 мл/6 с	0/5	0/5	0/5	0/5	1/10

Таблица 2. Данные о растворителях, используемых при производстве субстанций зарубежными производителями

Производитель	Остаточные органические растворители	Класс токсичности	Норма по НД
№ 1	Тетрагидрофуран	II	контроль отсутствует
	Ацетон	III	не более 0,5%
№ 2	Ацетон	III	не более 0,2%
№ 3	Метанол	II	не более 0,3%
	Метиленхлорид	II	не более 0,06%
№ 4	Ацетон	III	не более 0,5%
	Метанол	II	не более 0,3%
	Ацетонитрил	II	не более 0,041%
	Метиленхлорид	II	не более 0,06%
№ 5	Ацетон	III	не более 0,5%
	Метанол	II	не более 0,3%
	Метиленхлорид	II	не более 0,06%
	Ацетонитрил	II	не более 0,041%
	Ацетон	III	не более 0,5%

При увеличении тест-дозы до ЛД₅₀ — 50 мг/мышь внутривенное введение растворов субстанций всех производителей со скоростью 0,1 мл в секунду сопровождалось нарастанием симптомов интоксикации и увеличением смертности животных в группах, ни одна субстанция не выдерживает тест.

Сопоставимые результаты получены при введении указанной дозы со скоростью 0,1 мл в 3 секунду: так же как и в случае с использованием ЛД₁₀ (30 мг/мышь) со скоростью 0,1 мл в секунду, — только три субстанции выдерживают испытание (табл. 1).

Таким образом, в случае, когда фирма-производитель проводит испытание по ЕФ (увеличивает время введения), тест-доза также должна быть увеличена — до 50 мг/мышь.

Различия в картине интоксикации, может быть связано с наличием неконтролируемых примесей или увеличением их числа. На уровень содержания примесей существенное влияние оказывают: технологический процесс производства, исходное сырье и вспомогательные вещества, используемые в процессе синтеза, при этом перечень технологических примесей для каждого производителя субстанции может различаться.

Анализ схем процесса производства исследуемых субстанций выявил, что все они производятся по разной технологии с использованием разных исходных компонентов, количества растворителей и их класса токсичности (табл. 2). Производители № 1 и № 2 используют меньшее количество растворителей в процессе получения субстанций, чем производители № 3, № 4 и № 5. Технология получения субстанции производителем № 3 включает стадию рекуперации растворителя II класса токсичности — метиленхлорида.

Сравнительный анализ нормативной документации (НД), сертификатов анализа на данные субстанции не выявил четкой зависимости между суммарным содержанием примесей и выявленными токсическими явлениями в полученных экспериментальных данных. Согласно НД для четырех из

пяти производителей норма любой единичной примеси составляет не более 1,0%, суммы примесей — не более 4,0%, что соответствует монографии ЕФ (8.1). Для субстанции производителя № 2 нормы примесей меньше: любой единичной примеси — не более 0,5% и суммы примесей — не более 2,0%.

Следует отметить, что требования к контролю примесей цефтриаксона в ЕФ и ФСША различаются. В ЕФ нормируются неидентифицированные примеси: любой единичной примеси — не более 1,0%, суммы примесей — не более 4,0% (монография не пересматривалась с 2008 года). В ФСША предусмотрен контроль 7 идентифицированных примесей (норма только одной из них «не более 1,0%», другие идентифицированные примеси с нормами — «не более 0,5%», «не более 0,3%» и «не более 0,2%») и единичной неидентифицированной примеси с нормой — не более 0,2%, сумма примесей не должна превышать 2,5%.

Возможно, именно различие профиля неконтролируемых примесей определяет аномальную токсичность субстанций производителей № 3 и № 5. Исследование физико-химических параметров субстанций продолжается.

Выводы

На основании проведенного исследования установлено, что:

1. для препаратов цефтриаксона натрия тест-доза — 30 мг/мышь при испытании на аномальную токсичность обоснована данными доклинических исследований острой токсичности.

2. для обеспечения гарантий безопасности препаратов цефтриаксона натрия контроль качества по показателю «Аномальная токсичность» рекомендуется проводить при соблюдении следующих параметров тестирования:

— при скорости введения 0,1 мл/с (ГФ XII) в тест-дозе близкой к ЛД₁₀ (30 мг/мышь);

— при уменьшении скорости введения до 0,1 мл/3 с (ЕФ) тест-доза должна быть увеличена до ЛД₅₀ (50 мг/мышь).

ЛИТЕРАТУРА

1. Неугодова Н. П., Долгова Г. В., Хайретдинова М. Н. и др. Процедура выполнения фармакопейного показателя «Аномальная токсичность» на примере антибиотиков. Антибиотики и химиотер 2008; 53: 7—8: 19—26.
2. Неугодова Н. П., Долгова Г. В., Померанцева Т. Я. и др. Влияние параметра «скорость введения» при выполнении теста «Испытание на токсичность». Антибиотики и химиотер 2009; 54: 1—2: 53—55.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации 12-е изд. Ч. 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения 2007.
4. United States Pharmacopeia 37th edition. [Электронный ресурс] // United States Pharmacopeia Convention (<http://www.uspnf.com/uspnf/login>).
5. European Pharmacopeia 8.1th edition. [Электронный ресурс] // EDQM (<http://online.edqm.eu/EN/entry.htm>).
6. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Шаройкина Мария Владимировна — эксперт 2-й категории управления № 3 Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств;

Рябцева Мария Сергеевна — к.б.н., эксперт 2-й категории лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств;

Ковалёва Елена Леонардовна — д.ф.н., заместитель директора Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств;

Неугодова Наталья Петровна — к.б.н., начальник лаборатории фармакологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств.

О биоплёнках стрептомицетов.

I. Распространение и формирование

К. А. ВИНОГРАДОВА, В. Г. БУЛГАКОВА, А. Н. ПОЛИН, П. А. КОЖЕВИН

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Streptomyces Biofilms. I. Occurrence and Formation

K. A. VINOGRADOVA, V. G. BULGAKOVA, A. N. POLIN, P. A. KOZHEVIN

M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Стрептомицеты способны формировать биоплёнки — в сообществе с другими микроорганизмами или моноплёнки. В обзоре приводятся данные относительно структуры стрептомицетных биоплёнок, этапов их формирования и механизмов адгезии к субстратам. Биоплёнки, включающие стрептомицеты, обнаруживаются в различных экосистемах в разных почвенно-климатических зонах — в почвах, в очистных системах, в морских и речных осадках, на стенах сооружений. Стрептомицеты участвуют в формировании биоплёнок в организме человека, а также на медицинских устройствах и имплантах. При этом в составе биоплёнок стрептомицеты, как и другие микроорганизмы, обладают более высокой устойчивостью к лекарственным препаратам, чем «планктонные» клетки.

Ключевые слова: стрептомицеты, биоплёнки, образование, распространение.

Streptomyces, soil-dwelling mycelial bacteria, can form biofilms as indigenous components of the environment. The biofilms formed by streptomyces exist in different ecological niches, in natural, medical, industrial environments. The biofilm-forming streptomyces affect water quality, human health, associate with deterioration of artworks and historical monuments. The review should be of interest for researchers of the biofilm mode of streptomyces growth.

Key words: streptomyces, biofilms, formation, occurrence.

Биоплёнки — образ жизни микроорганизмов, принципиально отличающийся от существования их в виде так называемых «планктонных», взвешенных (одиночных) особей. Объём исследований бактериальных биоплёнок в последние годы стремительно растёт, что, в частности, вызвано большим влиянием этой формы жизни бактерий на разные аспекты практической деятельности человека. Образование биоплёнок приносит большой экономический ущерб — формирующиеся на самых разных субстратах бактериальные биоплёнки ответственны, в частности, за коррозию водопроводов и иного технического оборудования, за ухудшение качества питьевой воды, за порчу пищевых продуктов и т.д.

Биоплёнки микроорганизмов обуславливают возникновение и неблагоприятное течение многих инфекционных заболеваний, особенно хронических. Особое место занимает проблема устойчивости биоплёнок к антибиотикам — антибиотикотерапия при наличии биоплёнок возбудителя заболевания не адекватна воздействию этого же препарата на «планктонные» клетки микроорганизма. Биоплёнки формируются на

различных медицинских устройствах и имплантатах. Это мешает нормальному функционированию имплантов и представляет проблему для их использования.

С другой стороны, биоплёнки обладают огромным положительным потенциалом — они эффективны при очистке промышленных и бытовых вод и отходов, при детоксикации загрязнённых мест, нередко представляющих опасность для людей и экологическую угрозу для окружающей среды. Кроме того, показано, что использование биоплёнок в биотехнологических промышленных процессах для получения желаемых продуктов оказывается намного более эффективным по сравнению с обычным культивированием «планктонных» клеток продуцентов.

Известно, что в биоплёнках микроорганизмы обладают большей устойчивостью не только к антибиотикам, различным ксенобиотикам, факторам иммунной защиты человека, но и к неблагоприятным физико-химическим факторам окружающей среды. Считается, что микроорганизмы в составе биоплёнок могут успешнее осваивать новые экологические ниши ввиду повышенной устойчивости к экстремальным факторам среды обитания. Таким образом, жизнь микроорганизмов в виде биоплёнок имеет важное приспособительное значение, обеспечивая

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ

популяции возможность выживания и активного функционирования в неблагоприятных условиях.

К настоящему времени имеется много данных об архитектуре биоплёнок, о метаболической кооперации разных видов внутри сформированной структуры, о существенном и разнонаправленном влиянии биоплёнок на практическую деятельность человека. Получили развитие фундаментальные взгляды на участие микроорганизмов в биогеохимических процессах в биосфере не в качестве единичных субъектов, а в виде целостного структурированного сообщества. Накопленный значительный объём данных обсуждается во многих обзорах [1–5]. Широко также дискутируются вопросы, касающиеся аналогии жизни микроорганизмов в виде биоплёнок с многоклеточными формами жизни [6].

Стрептомицеты — мицелиальные организмы, относящиеся классу *Actinobacteria* (порядок *Actinomycetales*, род *Streptomyces*). Являясь обитателями различных почвенно-климатических зон, эти микроорганизмы широко распространены в разных природных и антропогенных экологических нишах. Стрептомицеты относятся к давно и наиболее пристально изучаемой группе актинобактерий в силу того, что представляют собой бесспорный и надёжный источник многих и разнообразных биологически активных веществ, в первую очередь антибиотиков. Однако в литературе имеется немного данных о биоплёнках стрептомицетов, возможно в силу того, что основное внимание исследователей привлечено к уникально сложному процессу морфогенеза этих мицелиальных актинобактерий при формировании ими колоний с многоэтапной и сложной морфо-физиологической дифференциацией.

В этом обзоре рассматриваются вопросы — формирования стрептомицетами биоплёнок и особенностях их структуры, а также о распространённости биоплёнок стрептомицетов в природных и антропогенных экологических нишах.

Экологические ниши, где обнаружены биоплёнки стрептомицетов.

О видовом составе стрептомицетов, формирующих биоплёнки.

Устойчивый и активный интерес к обнаружению стрептомицетов в самых разных экологических нишах возник несколько десятилетий тому назад как следствие острой необходимости выявления продуцентов новых антибиотиков. Результатом этого явился огромный объём данных о широком распространении различных видов стрептомицетов в разнообразных наземных и водных экосистемах различных почвенно-климатических зон, особенно много данных об обнаружении стрептомицетов в почве.

О существовании стрептомицетов в природных или иных местах обитания в виде биоплёнок имеется гораздо меньше систематизированной информации. Мы будем опираться на коллективное мнение, сложившееся к настоящему времени, о том, что «В природных местах обитания 90–98% популяций микроорганизмов существует в виде структурированных сообществ: микробных матов, обрастаний, осадков и т.д., для которых применяется общий термин «биоплёнки» [7]. Это дает возможность рассматривать выявление стрептомицетов в составе вышеуказанных сообществ как участников формирования биоплёнок.

Приведём относительно немногие имеющиеся данные об участии именно стрептомицетов (род *Streptomyces*) в формировании биоплёнок в разных экологических нишах. Надо иметь в виду, что в некоторых работах указывается присутствие в биоплёнках актиномицетов как представителей либо класса *Actinobacteria*, либо порядка *Actinomycetales* в целом, без таксономической детализации.

В настоящее время проблема биоплёнок признается как одна из острейших проблем медицины. Известно, что бактерии формируют биоплёнки на абиотических и на биотических поверхностях, в том числе в организме человека. Наиболее изученным примером биоплёнок в организме человека является формирование бактериальных биоплёнок в полости рта (зубные бляшки).

Распространение бактериальных биоплёнок в организме человека и их разностороннее отрицательное влияние на разные аспекты практической медицины подробно освещены в обзорах [8–10]. Бактериальные биоплёнки формируются на разнообразных медицинских устройствах — имплантах, катетерах разного назначения, водителях сердечного ритма, различных эндопротезах, контактных линзах и др.

Биоплёнки микроорганизмов ответственны за возникновение и неблагоприятное течение многих инфекционных заболеваний человека. В числе их указываются — пародонтит, кариес, инфекционные заболевания среднего уха, остеомиелит, инфекции мочевыводящих путей, трофические язвы, пролежни, лёгочные заболевания, инфекции, возникающие в результате установки сердечных клапанов, протезов суставов, катетеров [9].

Представители рода *Streptomyces* известны как сапрофитные организмы. Главное их значение для медицины состоит в том, что основное число природных антибиотиков бактериального происхождения продуцируются именно стрептомицетами. Однако есть немного сообщений о стрептомицетах — возбудителях патологических процессов у человека. *S.somaliensis* и *S.sudanensis* являются воз-

будителями опасного заболевания — актиномицеты, характерного для районов Африки [11, 12].

Среди опасных последствий формирования бактериальных биоплёнок в организме человека указываются инфекции, возникающие в результате установки разнообразных имплантов. К настоящему времени показано, что представители рода *Streptomyces*, обнаруженные на устройствах, используемых в гинекологии, активно формируют биоплёнки в организме человека. Из 21 изолята актиномицетов, выявленных у больных, три изолята (два отнесённых к *Streptomyces* spp. и один *Nocardia* sp.) показали высокую способность к образованию биоплёнок. Биоплёнки актиномицетов на вышеуказанных устройствах ответственны за развитие различных актиномикозов [13].

Одним из типов биоплёнок (согласно приведённой классификации биоплёнок по типу раздела фаз, на которых они формируются [1]), являются биоплёнки на разделе «твёрдая фаза — воздух».

Стрептомицеты обнаружены в биоплёнках на разделе «твёрдая фаза — воздух». Такие биоплёнки, в частности, образуются на поверхности древних каменных монументов, на стенах пещер с доисторическими рисунками, на древних настенных картинах и фресках, в исторических катакомбах, на стенах зданий, представляющих исторический интерес и художественную ценность и т.п. [14–16].

При широком обследовании (изучено 230 биоплёнок на зданиях, построенных из разного рода материалов — цемент, известка, бетон, железобетон, кирпич, в шести странах Европы и семи — Латинской Америки) найдено, что стрептомицеты в некоторых случаях являются основным микроорганизмом, формирующим биоплёнку на поверхности зданий. При этом стрептомицеты преобладают на зданиях в Европе, предположительно, благодаря наличию благоприятных климатических условий для своего развития [17].

Формирование и биохимическая деятельность микробных биоплёнок является одним из важнейших факторов разрушения культурных объектов. Биоплёнки производят механическое и химическое повреждение объектов, разрушают камни, обесцвечивают или изменяют краски настенных изображений, фресок и лепнины, часто приводя к необратимой порче или даже уничтожению ценностей культуры. Разработке специальных мер по предотвращению того вреда, который причиняется биоплёнками микроорганизмов объектам мировой культуры, уделяется много внимания [14, 16, 18].

В подземных античных сооружениях, тоннелях и катакомбах, где сложилась экосистема с комплексом условий, благоприятных для роста и развития стрептомицетов (в частности, высокая относительная влажность, наличие органических веществ, постоянная температура), они преобла-

дают в микробном сообществе или даже формируют моноплёнки [19]. В составе биоплёнок на поверхности каменных монументов в исторических замках Шотландии также количественно доминируют стрептомицеты — *S. microflavus* и *Streptomyces* sp. [20]. В римских катакомбах в составе биоплёнок с синезелёными бактериями насчитывается *S. julianus* [21]. Считается, что стрептомицеты больше вредят художественным объектам, находящимся в помещениях (фрески, картины на стенах и др.), чем объектам, расположенным вовне. На настенных картинах в пяти из семи обследованных старинных церквей южной Италии в сообществе с другими гетеротрофами найдены 13 видов стрептомицетов, вызвавших биодеградацию средневековых росписей [22].

К тому типу биоплёнок, который формируется на поверхности раздела фаз «жидкость (водная среда) — твёрдая поверхность», относятся биоплёнки, формирующиеся в морских и речных осадках, в береговых районах с приливами-отливами, в обрастаниях на поверхности водных растений, мангровых болотах, в толще морской воды на агрегатах органического вещества («морской снег»).

Стрептомицеты, формирующие биоплёнки, обнаружены в осадках, взятых в эстуарии в Бенгалии. Они являются солетолерантными, один из них идентифицирован как *S. parvullus*, способный синтезировать актиномицин D [23]. В осадках у тихоокеанского побережья южной Кореи 66% изолятов принадлежали роду *Streptomyces* [24].

Известно, что поверхность морских эукариотов покрывают многочисленные и разнообразные по составу сообщества микроорганизмов, формирующих биоплёнки. Морские актиномицеты, и в их числе стрептомицеты, выявляются в микробных сообществах на поверхности морских водорослей, входя в число основных и постоянно встречающихся участников образования этих биоплёнок [25, 26]. Актиномицеты составляют около 10% от общего числа бактерий, колонизирующих «морской снег» — морские агрегаты органических веществ. Эти исследования представлены в обзоре [27]. Морские стрептомицеты являются аборигенными организмами, адаптированными к комплексу экстремальных условий обитания, и трудности их выделения обусловлены необходимостью подбора для них специфических условий культивирования [27, 28].

После отмеченного к настоящему времени «исчерпания» пула природных антибиотиков из почвенных стрептомицетов, одним из путей получения новых препаратов является освоение пула продуцентов из «экзотических», или слабо обследованных экологических ниш, к которым, в частности, относятся моря, океаны со своей богатой и недостаточно изученной микрофлорой. Различные морские микроорганизмы и среды

них, в первую очередь, стрептомицеты в настоящее время составляют основную надежду фармакологической промышленности как источник новых природных биологически активных веществ [24, 28, 29—31].

Стрептомицеты обнаружены также в биоплёнках, развивающихся в очистных сооружениях для промышленных и сточных вод. Известно, что очистка сточных и загрязнённых промышленных вод эффективно происходит с участием биоплёнок. Большое разнообразие *Streptomyces* spp. идентифицировано в биоплёнках, формирующихся в специализированной очистной системе с гравием (Gravel Bed Hydroponic System), применяемой для очистки промышленных и сельскохозяйственных загрязнённых вод [32]. Биоразнообразие актиномицетов, формирующих данные биоплёнки, оценено как весьма высокое: из этих биоплёнок выделено 40 видов актиномицетов, принадлежащих к 10 родам. Среди них доминировали представители рода *Streptomyces* (сем. *Streptomycetaceae*) — они составили 35% всех изолятов и были отнесены к 14 видам. Наиболее многочисленными были виды: *S. rochei* и *S. cyaneus*. Помимо указанных, выделены и другие актиномицеты — *Nocardioidea* spp. (подпорядок *Propionibacterineae*, сем. *Nocardioideaceae*), *Nocardopsis* spp. (сем. *Nocardopsaceae*), *Nocardia* spp. (сем. *Nocardiaceae*), *Actinomadura* spp. (сем. *Thermomonosporaceae*), *Pseudonocardia* spp. (сем. *Pseudonocardiceae*), *Micromonospora* (сем. *Micromonosporaceae*), *Planobispora* (подпорядок *Streptosporangineae*, сем. *Streptosporangiaceae*). Такое большое биоразнообразие авторами истолковано как наличие у актиномицетов высокой способности к успешной конкуренции с другими формирующими биоплёнку микроорганизмами в исследуемой системе [32].

В целом, среди видов рода *Streptomyces*, способных формировать биоплёнки, идентифицированы *S. viridosporus*, *S. badius*, *S. setonii* [33—35], *S. coelicolor* [36], *S. griseus* [37], *S. parvullus* [23]. При соответствующем скрининге способность формировать биоплёнки показана также для других стрептомицетов, неидентифицированных до вида [37]. Неидентифицированные стрептомицеты, формирующие биоплёнки, есть и среди выделенных из морских осадков солетолерантных изолятов [23].

Строение биоплёнок стрептомицетов

В качестве классических признаков бактериальных биоплёнок в литературе наиболее часто указываются — «многоклеточность» (в смысле совместного существования множества клеток), образование ими общего внеклеточного матрикса и «сидячий» (прикреплённый) образ жизни. Биоплёнки называют также широко распространён-

ной формой бактериальной многоклеточности, которая возникает тогда, когда индивидуальные клетки агрегируются и существуют как прикреплённое к субстрату сообщество, погружённое во внеклеточный матрикс [6].

Определение, опирающееся на характерные признаки биоплёнок, представлено в обширном обзоре, где биоплёнки охарактеризованы как «пространственно и метаболически структурированные сообщества микроорганизмов, заключённые во внеклеточный полимерный матрикс и расположенные на границе раздела фаз». Описаны разные морфотипы бактериальных биоплёнок согласно месту их формирования и особенностям их архитектуры [1].

О строении биоплёнок одной из самых интересных групп бактерий — стрептомицетов имеется пока относительно немного сообщений. Часто в ранних работах о биоплёнках стрептомицетов основное внимание обращено на способность этих организмов к адгезии [33].

В числе первых сообщений о способности стрептомицетов формировать биоплёнки укажем на исследование развития *S. coelicolor* на жидких средах в условиях погружённого роста, при встряхивании, в присутствии в питательной среде нерастворимых частиц — солей кальция, каолина и адгезивов [36]. Авторы показали, что в образование пеллет — компактных мицелиальных структур, формирующихся при росте *S. coelicolor* на жидких средах при внесении спор в качестве посевного материала, вовлечен внеклеточный матрикс, от которого и зависит относительно сильное «сцепление» гиф в пеллетах. Обработка пеллет ДНКазой, а также гиалуронидазой приводит к разрушению этих структур и появлению многочисленных фрагментов гиф. Внесённые в среду нерастворимая соль кальция (фосфат кальция), а также частицы каолина (главная составляющая часть глины) включаются стрептомицетом в формирующиеся пеллеты, служа их физической основой.

Таким образом, пеллеты *S. coelicolor* имеют классические признаки биоплёнок, а именно: это структуры из множества клеток, образующиеся на твёрдых субстратах и содержащие скрепляющий их внеклеточный матрикс, в составе которого обнаружены гиалуроновая кислота и ДНК [36].

Описанные биоплёнки сформированы одним видом стрептомицетов (монопленки). Авторы предположили, что стрептомицеты как почвенные организмы существуют в природных условиях в виде биоплёнок на поверхности почвенных частиц, и напомнили, что агрегация частиц глины с живущими в почве микроорганизмами способствует оструктурированию почвы [36].

Этапам и механизмам формирования бактериальных биоплёнок посвящено большое количество исследований, результаты которых обоб-

щены в обширном обзоре [1]. Процессы формирования стрептомицетных биоплёнок описаны в тех немногих работах, которые связаны с многообещающими перспективами применения этих биоплёнок в биотехнологических целях.

Изучали процесс формирования моноплёнок *S.griseus* в экспериментальном тубулярном реакторе [37]. Если при росте в лунках планшетов — стационарном или со слабым встряхиванием биоплёнки не формируются, то при культивировании *S.griseus* в токе протекающей жидкости в трубчатом ферментёре, они образуются [37]. По классификации, представленной в обзоре [1], эти биоплёнки могут быть отнесены к «биоплёнкам с лентами-выростами, формирующимися в турбулентном потоке».

Прослежена динамика формирования биоплёнки *S.griseus* [37]. После инокуляции (24-часовой «планктонной» культурой) стрептомицету предоставляли 30 минут «покоя» до начала пропускания жидкой среды — для первоначального прикрепления к стенкам ферментёра. Первоначальный слой мицелия на 50% поверхности дна трубки визуальнo отмечается через 16 часов. К 24—26 часам развития вся образовавшаяся биомасса отрывается от поверхности трубки и сворачивается в цилиндрическую структуру внутри ферментёра, оставаясь прикрепленной к нему в одной точке. К 40-му часу роста сформировавшаяся биоплёнка представляет собой длинное целостное образование. Она может быть целиком, как единая биомасса, вынесена током жидкости из ферментёра, и это, как считают авторы, указывает на то, что адгезия *S.griseus* со временем уменьшается. В целом, авторы оценивают способность биоплёнки *S.griseus* к адгезии как относительно низкую.

Хотя после вынесения биоплёнки током жидкости в ферментёре нет видимых следов стрептомицета, часть оставшихся прикрепленными клеток дают начало формированию новых биоплёнок: за время наблюдения без дополнительного внесения новых партий посевного материала произошло три цикла прикрепления и развития новых биоплёнок в ферментёре.

Указывалось, что биоплёнки формируются в проточных системах, при наличии субстратов, необходимых для роста [1]. Описанное формирование биоплёнки *S.griseus* не зависит от скорости движения потока жидкости (биоплёнка образуется и в отсутствие потока), а также от состава жидкости (в данном исследовании использовали несколько стандартных сред для выращивания стрептомицетов) [37].

Структура монобиоплёнки *S.griseus* представляет очень плотную сеть, состоящую из множества гиф. На поверхности гиф обнаружены многочисленные короткие волосовидные выросты,

авторы предполагают, что именно они служат связыванию гиф в сеть.

При совместном культивировании *S.griseus* и *Bacillus amyloliquefaciens* в проходящем токе жидкости формируется бинарная биоплёнка, более прочная, чем моновидовая биоплёнка стрептомицета [37].

Способность к образованию биоплёнок в условиях эксперимента показали и другие, неидентифицированные виды стрептомицетов.

Прикрепление биоплёнок к субстрату

Для биоплёнок грамположительных и грамотрицательных бактерий и некоторых грибов в литературе представлен определённый объём сведений о составе и механизмах образования внеклеточного матрикса, однако сообщается, что наибольшее внимание уделяется внеклеточному матриксу тех представителей бактерий, которые имеют значение для медицины [38, 39]. Сведений о составе и функциях внеклеточного матрикса стрептомицетов пока недостаточно. Внеклеточный матрикс не был обнаружен электронно-микроскопическим методом, но считается, что его наличие и белковая природа косвенно доказывается фактом разрушения биоплёнки под действием протеазы [37].

На этом фоне особенно значимым представляется исследование адгезии стрептомицетов — ключевого этапа формирования биоплёнок, а также состава внеклеточного матрикса *S.coelicolor* [38].

Важным событием является открытие роли внеклеточных сурфактантных белков Chaplins в адгезии стрептомицетов к субстрату [38]. Белки Chaplins, как известно, играют ключевую роль в морфогенезе стрептомицетов, участвуя в образовании спорообразующего воздушного мицелия наряду с другими морфогенетическими белками [40, 41].

Изучали адгезию стрептомицетов на примере *S.coelicolor* в условиях его стационарного культивирования на жидких средах. Показано, что активная адгезия на гидрофобных поверхностях происходит при участии специальных структур — прикрепляющих амилоидных фимбрий. Фимбрии состоят из лентовидных амилоидных фибрилл, которые образованы внеклеточными гидрофобными белками, относящимися к классу амилоидных белков Chaplins. Таким образом, процесс адгезии *S.coelicolor* к субстрату происходит с участием амилоидных белков Chaplins.

Экстрацеллюлярный матрикс *S.coelicolor*, по полученным данным, представлен фимбриями, шириной от 9 до 100 нм. Фимбрии образуются примерно к 15 дню культивирования стрептомицета. Они присоединены к гифам посредством шипообразных выростов. Было показано, что

степень адгезии зависит от состава среды культивирования, и экстрацеллюлярный матрикс определяется только при росте на той из использованных сред, где степень адгезии *S.coelicolor* выше.

Авторы предполагают, что процесс сборки протеинов в фимбрии может начаться или при воздействии гипотетического нуклеатора, или имеет место самосборка. В определённых условиях *in vitro* наблюдали самосборку белков Chaplins в амилоидные нити [38].

Прикрепление к субстрату и образование фимбрий не происходит у мутантов, у которых не активированы гены, ответственные за синтез белков Chaplins. Вместо нормальных фимбрий у них наличествуют тонкие фибриллы, исходящие из шипообразных выростов на поверхности гиф.

Однако участия белков Chaplins недостаточно для адгезии стрептомицетов. Показано, что важную роль в этом процессе играет также целлюлоза — она участвует в закреплении амилоидных фимбрий на поверхности гиф и, возможно, служит «строительными лесами» для построения самих фимбрий [38]. Фимбрии прикрепляются к гифам в тех местах, где на поверхности гиф есть шипообразные выросты. Шипообразные выросты — это места, где синтезируется целлюлоза, и образуются целлюлозные фибриллы. Целлюлозные фибриллы есть и у тех мутантов, которые не синтезируют белки Chaplins. При воздействии целлюлазы происходит отсоединение фимбрий от поверхности гиф, равно как и открепление *S.coelicolor* от субстрата. Авторы подчеркивают, что впервые показана важная функциональная роль целлюлозы в общем процессе активной адгезии стрептомицетов.

Амилоидные фимбрии составляют экстрацеллюлярный матрикс, образующийся при росте *S.coelicolor*, и определяющий прикрепление стрептомицета к субстрату. Прочность адгезии, как и образование «типичных» фимбрий и их морфологические и функциональные свойства, зависят от состава среды культивирования стрептомицета, а также и от генетических характеристик изучаемых мутантов *S.coelicolor*. В данном исследовании впервые показана роль внеклеточных сурфактантных белков Chaplins и целлюлозы в процессе адгезии стрептомицетов. Авторы подчеркивают, что процесс адгезии — важнейший этап формирования стрептомицетами биоплёнок, кроме того, адгезия — начало возможного проявления их патогенных свойств как возбудителей определённых заболеваний [38].

В условиях *in vitro* *S.granaticolor* формирует биоплёнку на двух инертных поверхностях — стеклянной и циркониево-силиконовой, причём формирование интенсивнее происходит на стеклянной поверхности. На ранних стадиях (6 часов) формирования биоплёнки на обеих поверхностях

в мицелии обнаружены три белка (дигидролипоямиддегидрогеназа, амидофосфорибозилтрансфераза и цистатионин β -синтаза), которые известны как участники процесса адгезии у различных микроорганизмов. В биоплёнке на стекле обнаружен также уникальный белок (глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа). Предполагается, что эти белки являются также участниками процесса адгезии как начального этапа формирования биоплёнки у стрептомицетов [42].

Заключение

Приведённые в нашем кратком обзоре данные свидетельствуют о том, что стрептомицеты, как и многие другие бактерии и грибы, способны формировать биоплёнки как на абиотических, так и на биотических поверхностях. Стрептомицеты могут образовывать биоплёнки в сообществе с другими микроорганизмами или моноплёнки. Способность формировать биоплёнки описана для разных видов рода *Streptomyces*, однако ввиду немногочисленности полученных данных трудно дать какую-либо статистическую оценку.

Структура стрептомицетных биоплёнок изучена недостаточно. Первоначальная колонизация поверхности может осуществляться как спорами, так и мицелием. Биоплёнка формируется растущими гифами стрептомицета как единая структура, погружённая во внеклеточный полимерный матрикс. Данные о составе и функционировании внеклеточного матрикса стрептомицетов также немногочисленны. Важнейшим шагом в этом направлении было открытие роли внеклеточных сурфактантных белков группы Chaplins в образовании внеклеточного матрикса *S.coelicolor* и в его адгезии к субстрату. Другим ключевым фактором адгезии стрептомицетов является целлюлоза. Получены сведения, что в адгезии (как раннем этапе формирования биоплёнки *S.granaticolor*) предположительно могут участвовать и другие белки.

Биоплёнки широко распространены в природных и антропогенных условиях, и их образование имеет огромное медицинское, экономическое и экологическое значение. Существование микроорганизмов в виде биоплёнок ставит множество вопросов, на многие из которых пока не найдено адекватных ответов. Биоплёнки являются предметом комплексного исследования — медицины, микробиологии, экологии. Изучение распространения биоплёнок стрептомицетов в разных экологических нишах, раскрытие факторов окружающей среды, способствующих их формированию, как и исследование процессов развития, архитектуры и функционирования биоплёнок представляют собой основу для дальнейшего развития, в том числе и медицинской микробиологии.

Одним из наиболее острых вопросов является — как предотвратить или успешно контролировать образование нежелательных биоплёнок, приносящих ущерб промышленным процессам, а также являющихся причиной многих заболеваний, осложняющей лечение и приводящей к переходу их в хроническую форму и т.д.

Недостаточно сведений о том, какие факторы окружающей среды направляют развитие стрептомицетов по тому или иному пути, какие молеку-

лярные механизмы контролируют это переключение (switch), какие структурно-физиологические преимущества в освоении новых экологических ниш приобретаются при этом организмом.

Повышенная по сравнению с «планктонными» клетками резистентность бактерий в биоплёнках к экстремальным факторам окружающей среды, к биоцидам, к стандартным способам применения антибиотиков требуют новой стратегии контроля этой формы жизни микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биоплёнка — «город микробов» или аналог многоклеточного организма? Микробиология 2007; 76: 2: 149—163.
2. Karatan E., Watnic P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. Microbiol Mol Biol Rev 2009; 73: 2: 310—347.
3. Lazar V. Quorum sensing in biofilms — how to destroy the bacterial citadels or cohesion power? Anaerobe 2011; 17: 6: 280—285.
4. Максимова Ю.Г. Микробные биоплёнки в биотехнологических процессах. Биотехнология 2013; 4: 9—23.
5. Vega L.M., Alvarez P.J., McLean R.J.C. Bacterial signaling ecology and potential applications during aquatic biofilm construction. Microb Ecol 2014; 68: 1: 24—34.
6. Claessen D., Rozen D.E., Kuipers O.P. et al. Bacterial solutions to multicellularity: a tale of biofilms, filaments and fruiting bodies. Nat Revs. Microbiol 2014; 12: 2: 115—124.
7. Плакунов В.К., Журина М.В., Беляев С.С. Устойчивость нефтеокисляющего микроорганизма, *Dietzia* sp., к гиперосмотическому шоку в реконструированных биоплёнках. Микробиология 2008; 77: 5: 591—589.
8. Гинцбург А.Л., Романова Ю.М. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. Журн микробиол эпидемиол иммунобиол 2011; 3: 99—109.
9. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. 2011. Что такое биоплёнка? 2011. <http://pmarchive.ru/chto-takoe-bioplenka>
10. Flores-Encarnation M., Gonzalez-Gutierrez J.Y., de la Rosa J.L.M. et al. The bacterial biofilm and importance to human health. Basic Res J Med Clin Sci 2014; 3: 4: 28—32.
11. Quintana E.T., Wierzbicka K., Mackiewicz P. et al. *Streptomyces sudanensis* sp. nov., a new pathogen isolated from patients with actinomycetoma. Antonie van Leeuwenhoek 2008; 93: 3: 305—313.
12. Kirby R., Sangal V., Tucker N.P. et al. Draft genome sequence of the human pathogen *Streptomyces somaliensis*, a significant cause of actinomycetoma. J Bacteriol 2012; 194: 13: 3544—3545.
13. Shanmughapriya S., Francis A.L., Kavitha S., Natarajaseenivasan K. In vitro actinomycete biofilm development and inhibition by polyene antibiotic, nystatin, on IUD copper surfaces. Biofouling 2012; 28: 9: 929—935.
14. Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. Microbial deterioration of stone monuments — an updated overview. Adv Appl Microbiol 2009; 66: 97—139.
15. Dakal T.C., Cameotra S.S. Microbially induced deterioration of architectural heritages: routes and mechanisms involved. Environ Sci Eur 2012; 24: 36: 1—13.
16. Lupan I., Popescu O. Metagenomics and future perspectives for biodegradation and biodegradation studies. Annals of RSCB 2012; 17: 2: 37—42.
17. Gaylarde Ch.C., Gaylarde P.M. A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America. Int Biodeterioration and Biodegradation. 2005; 55: 2: 131—139.
18. Ciferri O. Microbial degradation of paintings. Appl Envir Microbiol 1999; 65: 9: 879—885.
19. Groth I., Saiz-Jimenez C. Actinomycetes in hypogean environments. Geomicrobiol J 1999; 16: 1: 1—8.
20. Suihko M.L., Alacom H.L., Gorbushina A. et al. Characterization of aerobic bacterial and fungal microbiota on surfaces of historic Scottish monuments. Syst Appl Microbiol 2007; 30: 6: 494—508.
21. Albertano P., Urzi C. Structural interaction among epilithic cyanobacteria and heterotrophic microorganisms in Roman hypogea. Microb Ecol 1999; 38: 3: 244—252.
22. Pepe O., Sannino L., Palomba S. et al. Heterotrophic microorganisms in deteriorated medieval wall paintings in southern Italian churches. Microbiol Res 2010; 165: 1: 21—32.
23. Sarkar S., Saha M., Roy D. et al. Enhanced production of antimicrobial compounds by three salt-tolerant actinobacterial strains isolated from the Sundarbans in a niche-mimic bioreactor. Mar Biotechnol (NY) 2008; 10: 5: 518—526.
24. Parthasarathi S., Sathya S., Bupesh G. et al. Isolation and characterization of antimicrobial compound from marine *Streptomyces hygroscopicus* BDUS 49. World J Fish Marine Sci 2012; 4: 3: 268—277.
25. Hollants J., Leliaert F., De Clerck O., Willems A. What we can learn from sushi: a review on seaweed-bacterial associations. FEMS Microbiol Ecol 2013; 83: 1: 1—16.
26. Sarkar S. Enhanced antimicrobials and esterase production associated to biofilm formation by two estuarine isolates in a novel polymethylmethacrylate conical cylindrical flask. Int J Adv Biotechnol Res 2014; 5: 2: 242—261.
27. Manivasagan P., Venkatesan J., Kim Se-K. Introduction to Marine Actinobacteria. In Marine Microbiology: Bioactive Compounds and Biotechnological Applications. 2013 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
28. Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms. Mar Drugs 2010; 8: 3: 438—459.
29. Bull A.T., Stach J.E.M. Marine actinobacteria: new opportunities for natural product search and discovery. Trends Microbiol 2007; 15: 11: 491—499.
30. Newman D.J., Cragg M.G. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. J. Nat Prod 2007; 70: 3: 461—477.
31. Olano C., Méndez C., Salas J.A. Antitumor compounds from marine actinomycetes. Mar Drugs 2009; 7: 2: 210—248.
32. El-Shatoury S., Mitchell J., Bahgat M., Dewedar A. Biodiversity of actinomycetes in constructed wetland for industrial effluent treatment. Actinomycetologica 2004; 18: 1: 1—7.
33. Pometto III A.L., Demirci A., Johnson K.E. Immobilization of microorganisms on a support made of synthetic polymer and plant material. Патент US 5595893 A 1997.
34. Demirci A., Pometto III A.L., Johnson K.E. Lactic acid production in a mixed-culture biofilm reactor. Appl Environ Microbiol 1993; 59: 1: 203—207.
35. Khyami M.A., Pometto III A.L., Brown R.C. Detoxification of corn stover and corn starch pyrolysis liquors by *Pseudomonas putida* and *Streptomyces setonii* suspended cells and plastic compost support biofilms. J Agric Food Chem 2005; 53: 8: 2978—2987.
36. Kim Y.M., Kim J.H. Formation and dispersion of mycelial pellets of *Streptomyces coelicolor* A3(2). J Microbiol 2004; 42: 1: 64—67.
37. Winn M., Casey E., Habimana O., Murphy C.D. Characteristic of *Streptomyces griseus* biofilms in continuous flow tubular reactors. FEMS Microbiol Lett. 2014; 352: 2: 157—164.

38. *de Jong W., Wosten Han A. B., Dijkhuizen L., Claessen D.* Attachment of *Streptomyces coelicolor* is mediated by amyloid-like fibrils that are anchored to the cell surface via cellulose. *Mol Microbiol* 2009; 73: 6: 1128—1140.
39. *Стрелкова Е.А., Позднякова Н.В., Журина М.В. и др.* Роль внеклеточного полимерного матрикса в устойчивости бактериальных биоплёнок к экстремальным факторам среды. *Микробиология* 2013; 82: 2: 131—138.
40. *Claessen D., Rink R., de Jong W. et al.* A novel class of secreted hydrophobic proteins is involved in aerial hyphae formation in *Streptomyces coelicolor* by forming amyloid-like fibrils. *Genes Dev* 2003; 17: 14: 1714—1726.
41. *Flårdth K., Buttner M.J.* Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nat Revs Microbiol* 2009; 7: 1: 36—49.
42. *Petráčeková D., Buriánková K., Tesařová E. et al.* Surface hydrophobicity and roughness influences the morphology and biochemistry of streptomycetes during attached growth and differentiation. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 342: 2: 147—156.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Виноградова Ксения Александровна — к.б.н., старший научный сотрудник, Кафедра микробиологии биологического факультета МГУ

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

Полин Анатолий Николаевич — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Кафедры микробиологии биологического факультета МГУ

Кожевин Петр Александрович — д.б.н., ведущий научный сотрудник, Кафедра микробиологии биологического факультета МГУ

Инфекция протезированного сустава: современные подходы к диагностике и лечению

Б. С. БЕЛОВ, С. А. МАКАРОВ, Е. И. БЯЛИК

НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва

Joint Prosthetic Infection: UpDate Approaches to Diagnosis and Treatment

B. S. BELOV, S. A. MAKAROV, E. I. BYALIK

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow

В современных условиях эндопротезирование суставов относят к прогрессивным и постоянно развивающимся методам хирургического лечения больных с поражением опорно-двигательного аппарата любого генеза. Однако увеличение количества эндопротезирований сопровождается ростом числа больных с перипротезной инфекцией. Полиморфизм клинической картины и неспецифичность диагностических тестов обуславливают нередкую задержку в диагностике инфекции протезированного сустава (ИПС) и, следовательно, позднее лечение. В статье представлены современные данные об этиологии, эпидемиологии, клинике и диагностике ИПС. Подчеркнуто значение комбинированного подхода к лечению ИПС — сочетания хирургического вмешательства и этиотропной антибактериальной терапии. Выбор конкретного метода лечения определяется состоянием больного, коморбидной патологией, выраженностью и длительностью инфекционного процесса.

Ключевые слова: инфекция протезированного сустава, антибиотикотерапия.

At present endoprosthetics of the joints is considered as a progressive and everdeveloping method in the surgical treatment of patients with affection of the locomotor system of any genesis. Hence, increasing of the number of endoprosthetic results in increasing of the number of patients with periprosthetic infection. Polymorphism of the clinical picture and inspecificity of the diagnostic tests often cause a delay in the diagnosis of the joint prosthetic infection (JPI) and consequently the late treatment. The contemporary data on the etiology, epidemiology, clinical picture and diagnosis of JPI are presented. The importance of cooperated treatment of JPI, i.e. combination of the surgical management and etiotropic antibacterial therapy is indicated. The choice of the concrete treatment method is defined by the patient state, comorbid pathology, the infection severity and duration.

Key words: joint prosthetic infection, antibiotic therapy.

В современной клинической практике эндопротезирование суставов является одним из наиболее прогрессивных и постоянно развивающихся методов хирургического лечения больных с поражением опорно-двигательного аппарата любой этиологии. Наиболее часто выполняется протезирование тазобедренного (ТБС) и коленного (КС) суставов. В Испании указанные операции выполняются ежегодно у 30 тыс. больных, в Англии и Уэльсе — более чем у 130 тыс., в США к 2030 г. планируется ежегодно выполнять около 4 млн операций протезирования ТБС и КС [1–3]. В России, по предварительным расчётам, потребность в эндопротезировании ТБС составляет до 300 тыс. в год [4].

В то же время тенденция к увеличению количества эндопротезирований неизбежно будет сопровождаться нарастанием числа больных с перипротезной инфекцией. По данным зарубежных

авторов, частота инфекционных осложнений при протезировании ТБС и КС достигает 3–4% [1], а в России — 5–6% [5]. Значимость рассматриваемого вопроса также обусловлена рядом диагностических трудностей из-за полиморфной клинической картины и неспецифичности диагностических тестов. Поздняя диагностика может повлечь за собой генерализацию инфекции с захватом всё большего числа окружающих тканей, с возможным развитием сепсиса и летального исхода. Немаловажным является обстоятельство, что врачи большинства амбулаторных и стационарных учреждений не имеют достаточно опыта работы с рассматриваемыми нозологическими формами.

Об актуальности данной проблемы также свидетельствует пристальное внимание к ней со стороны национальных и международных научных медицинских ассоциаций. В частности, в 2013 г. увидели свет рекомендации, подготовленные группой экспертов Американского общества инфекционных болезней (Infection Disease Society of America — IDSA) [6]. В течение 2014 г. было опубликовано

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 115522 Москва, Каширское шоссе, д. 34А.
НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой

Таблица 1. Основные возбудители ИПС (сводные данные)

Возбудители	Частота, %
Грамположительные	
<i>Staphylococcus aureus</i> , метициллиночувствительные	20—62
<i>S. aureus</i> , метициллинорезистентные	2—49
Коагулазонегативные стафилококки	13—37
<i>Streptococcus</i> spp.	4—27
<i>Enterococcus</i> spp.	6—13
Дифтероиды (<i>Propionibacterium</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp.)	6—20
Грамотрицательные	
<i>Enterobacter</i> spp.	2—16
<i>Pseudomonas</i> spp.	1—4
Прочие	
Анаэробы	1—8
Микобактерии	1—6
Грибы	<1
Полимикробные инфекции	4—56
Возбудитель не выделен	12—26

ликовано несколько крупных обзоров, посвящённых различным аспектам инфекции протезированного сустава (ИПС) [7—10].

Цель настоящей публикации — ознакомить врачей-специалистов (в первую очередь — интернистов) с основными принципами диагностики и лечения ИПС.

Классификация ИПС

В соответствии со сроками развития от момента установки эндопротеза выделяют раннюю (до 3 мес), отсроченную (3—12, иногда 24 мес) и позднюю (>12—24 мес) формы. Среди возбудителей преобладают стафилококки, стрептококки, грамотрицательные аэробы и анаэробы (табл. 1).

Ранние и отсроченные формы ИПС вызываются преимущественно стафилококками (эпидермальными и золотистыми) и развиваются по причине послеоперационной контаминации или вследствие контактного распространения из инфицированной кожи, подкожных тканей, мышц или послеоперационной гематомы. Поздние формы возникают при инфицировании другими микробами, представленными в табл. 1, при гематогенном пути диссеминации.

К основным факторам риска ИПС относятся:

- 1) системные: пожилой возраст, ожирение, сахарный диабет, ревматоидный артрит, табакокурение, онкопатологические заболевания, иммунодефицитные состояния вследствие коморбидной патологии и/или проводимого лечения;
- 2) интраоперационные: двусторонняя артропластика, длительность операции > 160 мин., аутогемотрансфузия;
- 3) послеоперационные: нарушение заживления ран (некроз или расхождение краев раны, поверхностная инфекция, гематома), фибрилляция предсердий, инфекции мочевыводящих путей, *S. aureus*-бактериемия, удлинение сроков госпитализации.

Клиника и диагностика ИПС

Начало заболевания может быть острым или подострым в зависимости от вирулентности возбудителя. Системные и локальные проявления ранней ИПС выражены более ярко. Они включают лихорадку, боль, гиперемию кожи и припухлость в области протеза, сопровождающиеся образованием свищей и оттоком гнойного отделяемого. Поздняя инфекция в течение длительного времени может проявляться лишь периодическим болевым синдромом при отсутствии признаков системной воспалительной реакции. При отсутствии или неадекватности лечения в обоих вышеуказанных вариантах возможно развитие бактериемии и сепсиса.

В процессе сбора анамнеза у больного с предполагаемой ИПС уточняют информацию о типе протеза, дате имплантации, предшествующих хирургических вмешательствах на суставах, наличии коморбидных состояний, а также предшествующей и текущей антибактериальной терапии.

По данным испанских авторов [11], наиболее частыми симптомами инфекций протезированного ТБС являются гнойное отделяемое (79%), боль в суставе (67%), локальные воспалительные симптомы (63%), лихорадка (46%), длительно сохраняющийся свищ (33%), поверхностные инфекции кожи (23%). При поражении протеза КС чаще встречаются боли в суставе (88%), локальные воспалительные симптомы (78%), гноетечение (59%), лихорадка (41%), длительно сохраняющийся свищ (22%).

При анализе периферической крови у больных ИПС, как правило, выявляют лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево и значительное повышение СОЭ. Примечательно, что при развитии ИПС у больного ревматоидным артритом (РА), получающего системную терапию глюкокортикоидами, число лейкоцитов может быть нормальным. В то же время СОЭ сохраняется повышенным в раннем послеоперационном

периоде без каких-либо признаков инфекции, а в рамках отсроченной или поздней ИПС может быть нормальным. По данным разных авторов, чувствительность и специфичность СОЭ как маркера ИПС колеблются в пределах 62–83% и 55–85% соответственно.

При отсутствии фоновых воспалительных заболеваний большое диагностическое значение придается уровню С-реактивного белка (СРБ). Так, при поражении инфекционным процессом тазобедренного сустава чувствительность и специфичность СРБ (>5 мг/л) составили 95 и 62% соответственно [12].

Следует иметь в виду, что при ИПС, развивающихся у больных с системными воспалительными заболеваниями суставов (РА, псориатический артрит, анкилозирующий спондилит) уровни СОЭ и СРБ существенно варьируют в зависимости от активности фоновой патологии и не являются параметрами, адекватно отражающими наличие или отсутствие инфекции [13].

Важным диагностическим подспорьем ИПС является анализ синовиальной жидкости (СЖ) с обязательным микробиологическим исследованием. Однако пороговые значения общего числа лейкоцитов и нейтрофилов значительно ниже тех, которые применяются в диагностике септического поражения нативного (собственного) сустава. Так, у больных с ИПС коленного сустава, развившегося в течение более чем 6-месячного периода от момента операции, показатели числа лейкоцитов > 1700 клеток/мл имели диагностическую чувствительность и специфичность, равные 94 и 88% соответственно. Для относительно содержания нейтрофилов >65% указанные параметры составили 97 и 98% соответственно [14]. У аналогичной категории пациентов средние показатели СРБ в СЖ значимо превышали таковые у больных без инфекции (40 и 2 мг/л соответственно, $p < 0,001$). Чувствительность порогового содержания СРБ, равного 9,5 мг/л, для ИПС составила 85%, специфичность — 95% [15].

Рентгенография при ранней ИПС, как правило, малоинформативна, но она может быть полезной в дифференциальной диагностике с другими заболеваниями суставов. Ультразвуковое исследование используется при выполнении прицельной биопсии тканей для дальнейшего патоморфологического и микробиологического исследований. Радиоизотопное сканирование с техникой обладает высокой чувствительностью и специфичностью, но данная методика требует дорогостоящего оборудования, специальной подготовки персонала и осуществима только в специализированных условиях.

Наиболее значимые результаты в диагностике ИПС могут быть получены при пункции и/или биопсии поражённых тканей (чувствительность

>80%, специфичность — 90%). Однако вероятность роста возбудителей в биоматериале значительно снижается при проведении антибактериальной терапии в течение трёх предшествующих месяцев. В связи с этим рекомендуется выполнять биопсию до назначения антибиотиков. В случае генерализации инфекционного процесса антимикробную терапию назначают сразу после выполнения биопсии. Если же больной уже получает указанную терапию, её рекомендуется отменить (если позволяет состояние пациента), как минимум, за 48 часов до взятия материала (оптимально за 10–14 суток).

При ревизионной операции рекомендуется взятие биоптатов (от 3 до 6) из разных, наиболее проблемных (по мнению хирурга-ортопеда) участков тканей с использованием отдельных инструментов для снижения вероятности контаминации и получения искажённых результатов.

Оптимальная длительность инкубации образцов перипротезной ткани неизвестна. По данным Р. Schafer и соавт., в течение первой недели возможно выделение 76,3% возбудителей, остальные дают рост только на второй неделе инкубации [16]. К последним, в частности, относят *Propionibacterium* spp. и *Corynebacterium* spp.

Частота выделения возбудителей может быть значительно повышена путём предварительной сонификации (обработки ультразвуком) удалённого протезного материала вследствие разрушения микробных биоплёнок. По данным А. Grampruz и соавт., применение данного метода достоверно повышало чувствительность микробиологического исследования в диагностике ИПС ТБС и КС по сравнению с тканевой культурой (78,5 и 60,8% соответственно, $p < 0,001$) [17]. В то же время данный метод непригоден для выделения грибов и микобактерий.

Применение ПЦР-диагностики для идентификации возбудителей ИПС возможно, но не имеет явных преимуществ перед культуральными методами.

Критерии диагноза ИПС

В настоящее время единых диагностических критериев ИПС не существует.

В соответствии с рекомендациями экспертов Общества инфекций костно-суставной системы (Musculoskeletal Infection Society) [18], диагноз ИПС считается определённым при наличии следующих критериев:

- 1) свищевой ход, соединяющийся с протезом или
- 2) возбудитель, выделенный из двух отдельно взятых образцов тканей или синовиальной жидкости из области поражённого протезированного сустава или

Таблица 2. Схемы этиотропной антимикробной терапии ИПС [6]

Возбудитель	Схемы выбора	Альтернативные схемы	Примечания
Стафилококки метициллино-чувствительные	Оксациллин 1,5—2 г в/в 4—6 р/сут или цефазолин 1—2 г в/в 3 р/сут или цефтриаксон 1—2 г/сут в/в	Ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут или даптомицин 6 мг/кг/сут в/в или линезолид 600 мг внутрь, в/в 2 р/сут	Рифампицин и др. препараты — см. текст
Стафилококки метициллино-резистентные	Ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут	Даптомицин 6 мг/кг/сут в/в или линезолид 600 мг внутрь/в/в 2 р/сут	Рифампицин и др. препараты — см. текст
<i>Enterococcus</i> spp. пенициллино-чувствительные	Пенициллин G 20—24 млн ЕД/сут в/в в 6 введениях или ампициллин 12 г/сут в/в в 6 введениях	Ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут или даптомицин 6 мг/кг/сут в/в или линезолид 600 мг внутрь в/в 2 р/сут	Курс 4—6 нед. Возможно добавление аминогликозидов. Ванкомицин применять только при аллергии на пенициллин.
<i>Enterococcus</i> spp. пенициллино-резистентные	Ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут	Линезолид 600 мг внутрь в/в 2 р/сут или даптомицин 6 мг/кг/сут в/в	Курс 4—6 нед. Возможно добавление аминогликозидов
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Цефепим 2 г в/в 2 р/сут или меропенем 1 г в/в 3 р/сут	Ципрофлоксацин 750 мг внутрь 2 р/сут или 400 мг в/в 2 р/сут или цефтазидим 2 г в/в/ 3 р/сут	Курс 4—6 нед. Возможно добавление аминогликозидов
<i>Enterobacter</i> spp.	Цефепим 2 г в/в 2 р/сут или эртапенем 1 г/сут в/в	Ципрофлоксацин 750 мг внутрь 2 р/сут или 400 мг в/в 2 р/сут	Курс 4—6 нед.
Enterobacteriaceae	В/венно бета-лактамы (на основании чувствительности <i>in vitro</i>) или ципрофлоксацин 750 мг внутрь 2 р/сут		Курс 4—6 нед.
Бета-гемолитические стрептококки	Пенициллин G 20—24 млн ЕД/сут в/в в 6 введениях или цефтриаксон 2 г/сут в/в	Ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут	Курс 4—6 нед. Ванкомицин применять только при аллергии на пенициллин.
<i>Propionibacterium acnes</i>	Пенициллин G 20 млн ЕД/сут в/в в 6 введениях или цефтриаксон 2 г/сут в/в	Клиндамицин 600—900 мг в/в 3 р/сут или 300—450 мг внутрь 4 р/сут или ванкомицин 15 мг/кг в/в 2 р/сут	Курс 4—6 нед. Ванкомицин применять только при аллергии на пенициллин.

3) имеется 4 из 6 следующих критериев:

- повышение уровня СОЭ > 30 мм/ч или содержания СРБ в сыворотке > 10 мг/л;
- лейкоцитоз в СЖ;
- повышенное содержание нейтрофилов в суставной жидкости (СЖ);
- наличие гноя в поражённом суставе;
- выделение возбудителя из одного образца перипротезной ткани или СЖ;
- при гистологическом исследовании перипротезной ткани — не менее 5 нейтрофилов в каждом из 5 полей зрения при большом увеличении микроскопа (×400).

Не является репрезентативным для ИПС однократное выделение маловирулентного микроорганизма (например, коагулазонегативных стафилококков или *Propionibacterium acnes*) при отсутствии других критериев.

По мнению экспертов IDSA [6], в качестве критериев определённого диагноза ИПС рассматриваются следующие:

- свищевой ход, соединяющийся с протезом или

2. наличие гноя в поражённом суставе при отсутствии других причин

или

3. выделение одного и того же возбудителя из 2 и более образцов перипротезной ткани и СЖ

Диагнозу ИПС соответствуют патоморфологические признаки острого воспаления в перипротезной ткани, полученной при санации раны или удалении протеза, а также рост высоковирулентной микрофлоры (например *S. aureus*), полученной в одном образце биоптата ткани или СЖ. Аналогично вышеуказанному, однократный рост микробов, являющихся распространёнными контаминантами, не рассматривается как признак определённого диагноза ИПС.

Эксперты IDSA подчеркивают, что наличие ИПС возможно и в случаях, не соответствующих указанным критериям. В подобных ситуациях решение о диагнозе принимает лечащий врач, руководствуясь собственным опытом, а также тщательной оценкой всей имеющейся клинической симптоматики и данных дополнительных исследований.

Таблица 3. Антимикробные препараты для длительного перорального приёма при ИПС [6]

Возбудитель	Схемы выбора	Альтернативные схемы
Стафилококки метициллиночувствительные	Цефалексин 500 мг внутрь 3—4 р/сут или цефадроксил 500 мг внутрь 2 р/сут	Клиндамицин 300 мг внутрь 4 р/сут или амоксициллин-клавуланат 625 мг внутрь 3 р/сут
Стафилококки метициллинорезистентные	Ко-тримоксазол 480 мг внутрь 2 р/сут или доксициклин 100 мг внутрь 2 р/сут	
Бета-гемолитические стрептококки	Пенициллин V* 500 мг внутрь 2—4 р/сут или амоксициллин 500 мг внутрь 3 р/сут	Цефалексин 500 мг внутрь 3—4 р/сут
<i>Enterococcus</i> spp. пенициллиночувствительные	Пенициллин V 500 мг внутрь 2—4 р/сут или амоксициллин 500 мг внутрь 3 р/сут	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ципрофлоксацин 250—500 мг внутрь 2 р/сут	Пероральная терапия бета-лактамами на основании результатов чувствительности <i>in vitro</i>
Enterobacteriaceae	Ко-тримоксазол 480 мг внутрь 2 р/сут	
<i>Propionibacterium</i> spp.	Пенициллин V* 500 мг внутрь 2—4 р/сут или амоксициллин 500 мг внутрь 3 р/сут	Цефалексин 500 мг внутрь 3—4 р/сут Доксициклин 100 мг внутрь 2 р/сут

Примечание. * — феноксиметилпенициллин.

Таблица 4. Схемы антимикробной профилактики инфекции протезированного сустава при манипуляциях на мочевыводящих путях [19]

Исходные условия	Антибиотик и схема приема*
Стандартная схема	Ципрофлоксацин 500 мг или левофлоксацин 500 мг или офлоксацин 400 мг внутрь за 1—2 ч до процедуры
Альтернативные схемы	Ампициллин 2 г в/в плюс гентамицин 1,5 мг/кг в/в, введение завершить за 30—60 мин до процедуры. Ванкомицин 1 г в/в в течение 1—2 часов плюс гентамицин 1,5 мг/кг в/в или в/м — введение завершить за 30—60 мин до процедуры

Примечание. * — повторные введения антибиотиков не требуются.

Лечение ИПС

Общепринятым подходом к лечению ИПС считается сочетание хирургического вмешательства и этиотропной антибактериальной терапии. Выбор конкретного метода лечения определяется состоянием больного, коморбидной патологией, выраженностью и длительностью инфекционного процесса.

Основа хирургической тактики — решение вопроса о возможности сохранения или повторной установке эндопротеза. С этой позиции выделяют следующие категории оперативных вмешательств:

- ревизия/хирургическая обработка раны с сохранением эндопротеза (как правило, при ранней ИПС);
- одно- или двухэтапное реэндопротезирование;
- прочие вмешательства (ревизия с удалением эндопротеза и резекционной артропластикой и др.);
- артродез;
- ампутация.

В процессе двухэтапного эндопротезирования активно применяют местную антибактериальную терапию путём добавления антибиотиков в костный цемент при установке спейсера или фиксации компонентов эндопротеза.

Вторым важнейшим компонентом лечения ИПС является этиотропная системная антибактериальная терапия, основные схемы которой представлены в табл. 2.

В частности, при наличии ИПС стафилококковой этиологии применяют 2—6-недельные курсы парентеральной антибиотикотерапии в сочетании с пероральным приёмом рифампицина (300—450 мг дважды в день). В дальнейшем лечение продолжают одним из антибиотиков, применяемых перорально (табл. 3).

Общая длительность курса антибактериальной терапии должна составлять не менее 3 или 6 месяцев при локализации процесса в ТС или КС соответственно. Эти же сроки лечения антибиотиками необходимо соблюдать при назначении больным, которым противопоказано повторное оперативное вмешательство на суставах по тем или иным причинам (тяжесть общего состояния, высокий риск угрожаемых жизни осложнений, выраженная органная недостаточность и т. д.).

Профилактика ИПС

В соответствии с рекомендациями экспертов Американской Ортопедо-хирургической Академии и Американской Урологической Ассоциации [19], профилактике ИПС подлежат все реципиен-

ты суставных протезов в течение первых двух лет после операции, больные с иммуносупрессией, обусловленной фоновым заболеванием (РА, системная красная волчанка) или лекарственной/лучевой терапией, а также пациенты с отягощающей сопутствующей патологией (перенесённая инфекция суставного протеза, гемофилия, ВИЧ-инфекция, инсулинзависимый диабет I типа, злокачественные новообразования) при выполнении у них разнообразных манипуляций, связанных с возможным нарушением целостности слизистой мочевого тракта (литотрипсия, эндоско-

пия, трансректальная биопсия простаты и т.д.), или каких-либо урологических вмешательств у лиц с высоким риском бактериальной колонизации (длительно стоящие мочевые катетеры, стенты, задержка мочи, наличие в анамнезе инфекций мочевыводящих путей или простатита, отведение мочи и т.д.). Основные схемы профилактики представлены в табл. 4.

Следует отметить, что ранее широко практиковавшаяся антибиотикопрофилактика ИПС перед стоматологическими манипуляциями, в настоящее время признана нецелесообразной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ariza J., Euba G., Murillo O. [Orthopedic device-related infections]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26: 6: 380—390.
2. Ethgen O., Bruyère O., Richy F., Dardennes C., Reginster J.Y. Health-related quality of life in total hip and total knee arthroplasty. A qualitative and systematic review of the literature. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86: A (5): 963—974.
3. Kurtz S., Ong K., Lau E., Mowat F., Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89: 4: 780—785.
4. Москалев В.П. Медицинские и социальные проблемы эндопротезирования суставов нижних конечностей. СПб, Морсар АВ, 2001: 157 с.
5. Пичхадзе И.М., Жадин А.В., Кузьменков В.А., Цискарашвили А.Е., Дanelia Л.М., Реквава Г.Р. и соавт. Лечение больных с гнойно-воспалительными осложнениями после эндопротезирования тазобедренного сустава. *Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2009; 3: 45—50.
6. Osmon D.R., Berbari E.F., Berendt A.R., Lew D., Zimmerli W., Steckelberg J.M. et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1: e1—e25.
7. Minassian A.M., Osmon D.R., Berendt A.R. Clinical guidelines in the management of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69: Suppl 1: i29—35.
8. Zmistowski B., Della Valle C., Bauer T.W., Malizos K.N., Alavi A., Bedair H. et al. Diagnosis of periprosthetic joint infection. *J Orthop Res* 2014; 32: Suppl 1: S98—107.
9. Tande A.J., Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 2: 302—345.
10. Chen A.F., Heller S., Parvizi J. Prosthetic joint infections. *Surg Clin North Am*. 2014; 94 (6): 1265—1281.
11. Rodríguez-Baño J., del Toro M.D., Lupión C., Suárez A.I., Silva L., Nieto I. et al. [Arthroplasty-related infection: incidence, risk factors, clinical features, and outcome]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26: 10: 614—620.
12. Müller M., Morawietz L., Hasart O., Strube P., Perka C., Tohtz S. Diagnosis of periprosthetic infection following total hip arthroplasty — evaluation of the diagnostic values of pre- and intraoperative parameters and the associated strategy to preoperatively select patients with a high probability of joint infection. *J Orthop Surg Res* 2008; 3: 31.
13. Morrison T.A., Figgie M., Miller A.O., Goodman S.M. Periprosthetic joint infection in patients with inflammatory joint disease: a review of risk factors and current approaches to diagnosis and management. *HSS J* 2013; 9 (2): 183—194.
14. Trampuz A., Hanssen A.D., Osmon D.R., Mandrekar J., Steckelberg J.M., Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med*. 2004; 117 (8): 556—562.
15. Parvizi J., McKenzie J.C., Cashman J.P. Diagnosis of periprosthetic joint infection using synovial C-reactive protein. *J Arthroplasty* 2012; 27: 8: Suppl: 12—16.
16. Schäfer P., Fink B., Sandow D., Margull A., Berger I., Frommelt L. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clin Infect Dis*. 2008 47: 11: 1403—1409.
17. Trampuz A., Piper K.E., Jacobson M.J., Hanssen A.D., Unni K.K., Osmon D.R. et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007; 357: 7: 654—663.
18. Workgroup Convened by the Musculoskeletal Infection Society. New definition for periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty*. 2011; 26: 8: 1136—1138.
19. Urologic surgery antimicrobial prophylaxis. Pocket Guide, May 15, 2013 version. URL: [http:// www.auanet.org/common/pdf/education/clinical-guidance/Antimicrobial-Prophylaxis-PocketTable.pdf](http://www.auanet.org/common/pdf/education/clinical-guidance/Antimicrobial-Prophylaxis-PocketTable.pdf) (Дата обращения 10.12.2014).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва
 Белов Б. С. — д.м.н., зав. лабораторией изучения роли инфекций при ревматических заболеваниях
 Макаров С. А. — к.м.н., зав. лабораторией ревмоортопедии и реабилитации

Бялик Е. И. — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории ревмоортопедии и реабилитации

**РЕЗОЛЮЦИЯ АССАМБЛЕИ ВСЕМИРНОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ (ВОЗ)
ПО АНТИМИКРОБНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ.**

**THE WORLD HEALTH ASSEMBLY RESOLUTION ON
ANTIMICROBIAL RESISTANCE / L. J. SHALLCROSS*,
S. C. DAVIES // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
CHEMOTHERAPY 2014; 69: 1: 2883–2885.**

Глобальная проблема устойчивости к антимикробным препаратам может быть успешно решена только при укреплении международного партнёрства. Совместная кампания политических, научных и информационных кругов высказала поддержку недавней резолюции Всемирной ассамблеи здравоохранения по антимикробной устойчивости, уполномочивающей ВОЗ разработать глобальный план действий в этой области. В основе резолюции лежит принцип «Единое Здоровье» с акцентом на сотрудничество в областях медицины, здоровья человека и животных на международном, национальном и местном уровнях в сочетании с сильным руководством и политической волей к действию. Ключевыми вопросами являются коммуникации, предупреждение инфекции, компетентность руководства, поддержание и оптимизированное применение антимикробной терапии и диагностических средств. Исполнение глобального плана действий потребует от государств-участников разработки национальных планов действия и увеличения усилий, основанных на сотрудничестве между ВОЗ, Всемирной организацией охраны здоровья животных, Всемирным банком, Пищевым Кодексом (Codex Alimentarius) и Трансатлантической оперативной группой по антимикробной устойчивости (Transatlantic Task Force on Antimicrobial Resistance).

* Research Department of Infection & Population Health, University College London, Farr Institute of Health Informatics Research, 222 Euston Road, London NW1 2DA, UK

* Office of the Chief Medical Officer for England, Department of Health, 79 Whitehall, London SW1A 2NS, UK.

**«ТРАНСЛЯЦИОННАЯ» СТРАТЕГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ:
ВАЖНЫЙ ПОДХОД В БОРЬБЕ С РАСПРОСТРАНЕНИЕМ
УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ.**

**TRANSLATIONAL RESEARCH STRATEGY: AN ESSENTIAL
APPROACH TO FIGHT THE SPREAD OF ANTIMICROBIAL
RESISTANCE / EVELINA TACCONELLI*, A. PESCHEL,
I. B. AUTENRIETH // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
CHEMOTHERAPY 2014; 69: 11: 2889–2891.**

«Трансляционная» стратегия исследования инфекционных болезней, соединяющая результаты фун-

даментальных исследований с практическими исследованиями, ставит целью заполнить разрыв между лабораторными открытиями и клинической практикой в области инфекционных болезней, чтобы усовершенствовать лечение заболеваний. В эру всё возрастающей устойчивости к антимикробным препаратам клиническими и научными объектами, безотлагательно нуждающимися в «трансляционных» исследованиях, являются 1) ранняя диагностика антибиотикоустойчивых инфекций и адекватная эмпирическая терапия; 2) идентификация источника антибиотикоустойчивых патогенов; 3) разработка новых антибиотиков с меньшей наклонностью способствовать развитию устойчивости; 4) разработка новых не антибиотических соединений для предотвращения распространения устойчивых бактериальных штаммов. Поэтому в Европе важно неукоснительное сотрудничество между основными заинтересованными сторонами (stakeholders). Следует развивать соответствующие формы образования для воспитания нового поколения учёных с многоплановым подходом к исследованию антимикробной устойчивости. Основопологающим является поддержание и развитие европейского сотрудничества (network), сфокусированного на «трансляционные» исследования и соответствующие образовательные мероприятия, делающие привлекательными для инвесторов потенциальные лекарственные средства и помогающие академическим исследователям определять клиническую перспективность новых соединений.

* Division of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine 1, Tübingen University Hospital, Otfried-Müller-Straße 12, D-72076 Tübingen, Germany.

**МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ИОНИЗАЦИОННОЙ
ВРЕМЯ-ПРОЛЁТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТРИЦЫ ДЛЯ БЫСТРОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ.**

**QUANTITATIVE MATRIX-ASSISTED LASER
DESORPTION IONIZATION-TIME OF FLIGHT MASS
SPECTROMETRY FOR RAPID RESISTANCE DETECTION /
C. LANGE, S. SCHUBERT*, J. JUNG, M. KOSTRZEWA,
K. SPARBIER // JOURNAL CLINICAL MICROBIOLOGY
DECEMBER 2014; 52: 12: 4155–4162.**

Устойчивость к антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов представляет собой всё возрастающую проблему здравоохранения. Быстрое выявление такой устойчивости является критическим фактором для начала ранней адекватной терапии и принятия надлежащих гигиенических мер. При постоянном стремлении к снижению затрат на лабораторные испытания только эконо-

мичные, низко затратные подходы имеют шанс на внедрение. В последнее время был разработан в качестве стандартного лабораторного метода быстрой и экономичной идентификации микроорганизмов метод ионизационной время-пролётной масс-спектрометрии с использованием матрицы (MALDI-TOF MS). Расширение использования MALDI-TOF MS в клинической микробиологии для тестирования устойчивости представляется многообещающим. Количественный вариант MALDI-TOF MS, использующий внутренние стандарты, упрощает измерение количества пептидов и низкомолекулярных белков в спектре. Их количества коррелируют с числом микроорганизмов и, следовательно, их ростом. Сравнительный рост в присутствии и отсутствии антибиотика позволяет анализировать чувствительность штамма. В сообщении описан новый метод и его применение на примере анализа 108 штаммов *Klebsiella* sp. В экспериментах при 1-час. инкубации с 8 мкг/мл меропенема чувствительность метода была равна 97,3%, а специфичность — 93,5% при сравнении с результатами Етеста.

* Max von Pettenkofer-Institut, Munich, Germany.

НОВЫЙ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЙ МЕТОД, БАЗИРУЮЩИЙСЯ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ КЛЕТОК, ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИНГИБИТОРОВ МЕТАБОЛИЗМА ДНК У БАКТЕРИЙ.

A NOVEL HIGH-THROUGHPUT CELL-BASED ASSAY AIMED AT IDENTIFYING INHIBITORS OF DNA METABOLISM IN BACTERIA / J. FAN, B. L. M. DE JONGE, K. MACCORMACK, S. SRIRAM, R. E. MCLAUGHLIN, H. PLANT, M. PRESTON, P. R. FLEMING, R. ALBERT, M. FOULK, S. D. MILLS* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY DECEMBER 2014; 58: 12: 7264—7272.

Биосенсорные штаммы бактерий могут быть полезным инструментом для обнаружения и характеристики антибактериальных соединений. Для создания биосенсорного штамма, избирательно чувствительного к ингибиторам метаболизма ДНК через посредство SOS-отклика, в штамм *Escherichia coli* $\Delta tolC$ был введён плазмидный репортёрный вектор, содержащий транскрипционный гибрид *recA* промотора и гена зелёного флуоресцирующего белка. Штамм был использован для разработки высокопродуктивного метода идентификации новых ингибиторов метаболизма ДНК. В процессе скрининга соединений из библиотеки AstraZeneca с использованием данного штамма были выявлены как известные ингибиторы метаболизма ДНК, так и новые химические соединения других классов. Как было установлено генетической характеристикой

лабораторного устойчивого штамма по результатам измерений концентрации, подавляющей на 50% ДНК гиразную активность, клеточными мишенями одной из новых серий соединений была ДНК гираза. Настоящее исследование подтвердило возможность использования биосенсорного к антибиотикам штамма для идентификации новых селективных ингибиторов метаболизма ДНК с помощью высокопроизводительного скрининга.

* Infection Bioscience, AstraZeneca R&D Boston, Waltham, Massachusetts, USA.

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ *SALMONELLA ENTERICA* СЕРОВАР *TYPHIMURIUM* К АМИНОГЛИКОЗИДАМ *IN VITRO* И *IN VIVO* С ПОМОЩЬЮ АНТИМИКРОБНОГО СОЕДИНЕНИЯ, НАПРАВЛЕННО ВОЗДЕЙСТВУЮЩЕГО НА КЛЕТКИ ХОЗЯИНА.

SENSITIZATION OF INTRACELLULAR *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR *TYPHIMURIUM* TO AMINOGLYCOSIDES *IN VITRO* AND *IN VIVO* BY A HOST-TARGETED ANTIMICROBIAL AGENT / J.-H. LO, S. K. KULP, C.-S. CHEN, H.-C. CHIU* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY DECEMBER 2014; 58: 12: 7375—7382

Аминогликозиды (АмГ) относительно малоактивны в отношении внутриклеточной *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* из-за низкой проницаемости через мембраны эукариотов. Ранее была установлена уникальная способность низкомолекулярного целеоксид-производного, AR-12, уничтожать *Salmonella Typhimurium* внутри макрофагов, способствуя образованию аутофагосом и подавляя сигнальную функцию Akt киназы. В свете этого уникального механизма антибактериального действия в опытах на макрофагах и на модели животных исследовали способность AR-12 сенсibilизировать внутриклеточную *Salmonella* к АмГ. Антибактериальную активность AR-12 в комбинации с АмГ: стрептомицином, канамицином, гентамицином и амикацином — в отношении внутриклеточной *S. Typhimurium* оценивали на мышинных RAW264 макрофагах. Клетки инфицировали *S. Typhimurium*, после чего в течение 24 ч обрабатывали AR-12, отдельными АмГ, или их комбинацией с AR-12. *In vivo* эффективность AR-12, одного или в комбинации с гентамицином или амикацином определяли, оценивая инфицированных *S. Typhimurium* BALB/c мышей ежедневно в течение 14 последовательных дней. Экспозиция инфицированных *S. Typhimurium* RAW264.7 клеток с комбинацией AR-12 + АмГ приводила к большему снижению жизнеспособных клеток ($p < 0,05$), локализованных вне и внутри макрофа-

гов, чем при экспозиции с одними АмГ. Сенсibiliзирующий эффект, однако, не ассоциировался с повышенной проницаемостью АмГ внутрь бактериальной клетки или макрофагов. Более того, ежедневная внутрибрюшинная инъекция AR-12 в дозе 0,1 мг/кг веса повышала *in vivo* эффективность гентамицина и амикацина, выраженную в продлении выживаемости инфицированных *S. Typhimurium* мышей. Эти данные означают, что уникальная способность AR-12 усиливать *in vivo* эффективность АмГ может лечь в основу разработок новых стратегий лечения сальмонеллёза.

* Department of Clinical Laboratory Sciences and Medical Biotechnology, College of Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

PH-ОПОСРЕДОВАННОЕ УСИЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИНОГЛИКОЗИДОВ УБИВАЕТ ПЕРСИСТИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ И УНИЧТОЖАЕТ *IN VIVO* БИОПЛЁНКИ.

PH-MEDIATED POTENTIATION OF AMINOGLYCOSIDES KILLS BACTERIAL PERSISTERS AND ERADICATES *IN VIVO* BIOFILMS / D. LEBEAUX, A. CHAUHAN, S. LÉTOFFÉ, F. FISCHER, H. DE REUSE, C. BELOIN, J.-M. GHIGO* // THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES 2014; 210: 9: 1357–1366.

Ограниченная эффективность терапии бактериальных инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок, часто обусловлена наличием субпопуляции персистирующих бактерий, толерантных к высоким концентрациям антибиотиков. Повышенная эффективность аминогликозидов в щелочной среде послужила основанием для изучения действия комбинации гентамицина и клинически толерантной основной аминокислоты L-аргинина в отношении планктонных и заключённых в биоплёнке клеток *in vitro* и *in vivo*. Действие комбинации гентамицина и L-аргинина исследовали по кривым гибели биолюминесцентно меченных планктонных клеток *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*, находящихся в поздней стационарной фазе роста. Толерантность биоплёнки к гентамицину *in vitro* оценивали на 96-луночном планшете. *In vivo* эффективность гентамицина как антибиотика локальной терапии (АЛТ) определяли на модели имплантируемого венозного порта (TIVAP), хирургически пересаженного крысам. Было показано, что комбинация гентамицина и L-аргинина повышала чувствительность планктонных клеток и клеток биоплёнки к гентамицину, что выражалось в 96% гибели клеток таких клинически важных персистирующих патогенов, как *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Если гентамицин в качестве АЛТ на *in vivo* модели катетер-ассоциированной инфекции был

малоэффективен, использование его в этом качестве в комбинации с L-аргином приводило к полной и долговременной эрадикации биоплёнок *S. aureus* и *E. coli*. Внутривенное введение L-аргинина хорошо переносилось пациентами, поэтому совместное применение аминогликозида и нетоксичного адьювантного L-аргинина в виде катетерного лок-раствора может рассматриваться как новый препарат выбора для эрадикации биоплёнок патогенных бактерий.

* Institut Pasteur, Genetics of Biofilms Unit, Department of Microbiology, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15, France.

ДЕЗАЦИЛИРОВАННЫЙ ТРИДЕКАПТИН А1 ДЕЙСТВУЕТ КАК СЕНСИБИЛИЗАТОР ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ К ДРУГИМ АНТИБИОТИКАМ.

UNACYLATED TRIDECAPTIN A1 ACTS AS AN EFFECTIVE SENSITISER OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA TO OTHER ANTIBIOTICS / S.A. COCHRANE, J. C. VEDERAS* // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS DECEMBER 2014; 44: 6: 493–499.

Производное линейного катионного липопептида тридекаптина А₁, лишённое N-терминальной липофильной ацильной группы и обозначенное как Н-ТгiА₁, не обладает антимикробной активностью, но является очень эффективным сенсibiliзатором грамотрицательных бактерий к отдельным антибиотикам. Н-ТгiА₁ характеризуется низкой цитотоксичностью по сравнению с природным пептидом и в малых концентрациях может значительно снижать МПК некоторых антибиотиков в отношении штаммов *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* и *Klebsiella pneumoniae*. В частности, МПК рифампицина для штаммов *K. pneumoniae* в присутствии Н-ТгiА₁ снижалась в 256–512 раз. На модели мембраны синергидный эффект Н-ТгiА₁ выражался не в частичном лизисе мембраны, а в связывании по принципу соединения алкена с природным пептидом. Объяснением наблюдаемой синергидной активности может быть образование подобной стабильной вторичной структуры на наружной мембране.

* Department of Chemistry, University of Alberta, 30 University Campus NW, Edmonton, AB, Canada T6G 2G2.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК ПРЕПЯТСТВУЕТ ТРАНСПОРТУ ВАНКОМИЦИНА В БИОПЛЁНКИ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ОБРАБОТАННЫЕ СУБИНГИБИТОРНЫМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ ВАНКОМИЦИНА.

EXTRACELLULAR DNA IMPEDES THE TRANSPORT OF VANCOMYCIN IN *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* BIOFILMS PREEXPOSED TO SUBINHIBITORY CONCENTRATIONS OF VANCOMYCIN / N. DOROSHENKO*, B. S. TSENG, R. P. HOWLIN, J. DEACON, J. A. WHARTON, P. J. THURNER, B. F. GILMORE, M. R. PARSEK, P. STOODLEY // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY DECEMBER 2014; 58: 12: 7273—7282.

Образование биоплёнок *Staphylococcus epidermidis* является причиной персистирующих инфекций при ортопедических имплантациях. Предварительными исследованиями было показано, что экспозиция биоплёнок *S. epidermidis* с субингибиторными концентрациями антибиотиков индуцирует повышенный уровень персистенции биоплёнки. Использование BODEPY FL-ванкомицина (флуоресцирующий конъюгат ванкомицина) и конфокальной микроскопии показало, что проникновение ванкомицина внутрь предварительно обработанных суб-МПК ванкомицина биоплёнок *S. epidermidis*, затруднено по сравнению с необработанными контрольными биоплёнками. Дальнейшие эксперименты выявили увеличение концентрации внеклеточной ДНК (внеДНК) в биоплёнках, предварительно обработанных суб-МПК ванкомицина, что явилось основанием предположить возможную роль внеДНК в проявлении активности ванкомицина. Экзогенно добавленная ДНК *S. epidermidis* повышала величину МПК у планктонных клеток и защищала клетки биоплёнки от летальных концентраций ванкомицина. Изотермальным калориметрическим титрованием было установлено, что константа связывания ДНК и ванкомицина была в 100 раз выше, чем ранее сообщённая константа связывания ванкомицина и его клеточной мишени, d-Ala-d-Ala пептида. Данное исследование объясняет механизм толерантности биоплёнок *S. epidermidis*, обработанных суб-МПК ванкомицина, к антибиотику взаимодействием его с внеДНК, что может быть важным фактором в персистенции инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок.

* Faculty of Engineering and the Environment, University of Southampton, Southampton, United Kingdom.

ТЕНДЕНЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ АНТИМИКРОБНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И ХАРАКТЕРА ВИРУЛЕНТНОСТИ В КЛОНАЛЬНОЙ ГРУППЕ *ESCHERICHIA COLI* СИКВЕНС ТИПА 131 И В СУБКЛОНАХ H30 И H30-RX ЗА ПЕРИОД С 1968 Г. ПО 2012 Г.

TEMPORAL TRENDS IN ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND VIRULENCE-ASSOCIATED TRAITS WITHIN

THE *ESCHERICHIA COLI* SEQUENCE TYPE 131 CLONAL GROUP AND ITS H30 AND H30-RX SUBCLONES, 1968 TO 2012 / B. OLESEN*, J. FRIMODT-MØLLER, R. FLERON LEIHOF, C. STRUVE, B. JOHNSTON, D. S. HANSEN, F. SCHEUTZ, K. A. KROGFELT, M. A. KUSKOWSKI, C. CLABOTS, J. R. JOHNSON // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY NOVEMBER 2014; 58: 11: 6886—6895.

В поисках возможного объяснения глобального распространения в последнее время *Escherichia coli* сиквенс типа 131 (ST131) были проанализированы изменения во времени антимикробной устойчивости, генов вирулентности, способности к образованию биоплёнки внутри ST131 и в субклонах H30 и H30-Rx. Для этого была обследована коллекция штаммов *E. coli* ST131 Центра по *E. coli* и *Klebsiella* в ВОЗ за 1957—2011 гг. Штаммы были подробно охарактеризованы, и оценены тенденции изменений за указанный период времени. В целом, преобладание и распространённость антимикробной устойчивости временами увеличивались, главным образом, за счёт появления в последние годы субклонов ST131 H30 (1997 г.) и H30-Rx (2005 г.). В противоположность этому ни общее содержание генов вирулентности, ни распространённость образования биоплёнки не увеличились, хотя увеличилось число внекишечных патогенов *E. coli* (ExPEC), не относящихся к штаммам H30. Виротип D наблюдался до 1968 г., а виротипы А и С были отмечены соответственно после 2000 г. и 2002 г., поэтому они ассоциировались с субклонами H30 и H30-Rx, которые характеризовались множественной устойчивостью (включая образование бета-лактамаз расширенного спектра, БЛРС у H30-Rx) и неспособностью образовывать биоплёнки. Капсулярный антиген K100 наблюдался исключительно у штаммов H30-Rx (55% распространённость). Пульсотипы соответствовали субклонам и виротипам. Таким образом, ST131 следует рассматривать не как унитарное сообщество, а как группу различающихся между собой субклонов с повышенной антимикробной устойчивостью и сильно выраженной клональной принадлежностью, т.е. появление субклонов H30 и H30-Rx ST131 представляется, в большей степени, за счёт приобретения устойчивости разными штаммами ST131. Отличительные черты субклона H30-Rx, включая специфические гены вирулентности (*iutA*, *afa* и *dra*, *kpsII*), образование K100 капсулы, множественную устойчивость, образование БЛРС, возможно, обеспечивают его эпидемиологический «успех», а некоторые из них (например, K100) могут служить мишенями для вакцины.

* Department of Clinical Microbiology, Herlev Hospital, Herlev, Denmark.

АЛКАЛОИДЫ: ОБЗОР АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ, УСИЛИВАЮЩЕЙ ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ И АНТИВИРУЛЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ. ОБЗОР.

ALKALOIDS: AN OVERVIEW OF THEIR ANTIBACTERIAL, ANTIBIOTIC-ENHANCING AND ANTIVIRULENCE ACTIVITIES / T. P. TIM CUSHNIE*, B. CUSHNIE, A. J. LAMB // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS NOVEMBER 2014; 44: 5: 377—386.

Сообщения о пан-резистентности бактерий, ведущей к неэффективности лечения инфекций, вызывают как никогда высокую потребность в новых антибактериальных средствах. Алкалоиды представляют большую структурно разнообразную группу соединений, служащих основой для получения таких важных антибактериальных лекарств, как метронидазол и хинолоны. В обзоре освещены другие потенциально перспективные алкалоиды. Рассмотрены природные, полусинтетические и синтетические алкалоиды всех классов, в первую очередь обладающие антибактериальной активностью или потенцирующие активность антибиотиков, например, за счёт подавления помпового выброса. К таким соединениям относятся CJ-13136, новый актиномицетный хинолоновый алкалоид с МПК у *Helicobacter pylori*, равной 0,1 нг / мл, и скваламин, полиаминный алкалоид из катрановой акулы, который в 16-32 раз повышает чувствительность грамотрицательных бактерий к ципрофлоксацину. Представлена информация о токсичности, структурно-активных отношениях, механизме действия и *in vivo* активности. Также описано влияние алкалоидов на гены регуляторных систем вирулентности, как-то, кворум сенсинг и такие вирулентные факторы, как сортазы, адгезины и секреторные системы. Синтетический изохинолиновый алкалоид вирстатин, например, подавляет транскрипционный регулятор ToxT у *Vibrio cholerae*, предотвращая экспрессию холерного токсина и ресничек, обеспечивая защиту *in vivo* от колонизации кишечника. Обзор содержит сведения о применении и ограничениях приведённых исследований и направлениях для будущих исследований.

* Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Khamriang, Kantarawichai, Maha Sarakham 44150, Thailand.

IN VITRO АКТИВНОСТЬ НОВОГО ФТОРХИНОЛОНА WQ-3810 В ОТНОШЕНИИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ С МНОЖЕСТВЕННОЙ И ФТОРХИНОЛОНОВОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ.

IN VITRO ACTIVITY OF WQ-3810, A NOVEL FLUOROQUINOLONE, AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT

AND FLUOROQUINOLONE-RESISTANT PATHOGENS / D. KAZAMORI*, H. AOI, K. SUGIMOTO, T. UESHIMA, H. AMANO, K. ITOH, Y. KURAMOTO, A. YAZAKI // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS NOVEMBER 2014; 44: 5: 443—449.

Задачей исследования было определить сравнительную антибактериальную активность нового фторхинолона WQ-3810 и ципрофлоксацина, левофлоксацина, моксифлоксацина и гемифлоксацина в отношении таких клинически важных патогенов, как *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* и *Streptococcus pneumoniae*, включая штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и устойчивостью к фторхинолонам (ФХ). В отношении испытанных антибиотикоустойчивых штаммов WQ-3810 проявил самую высокую активность. Так, МПК₉₀ (минимальная подавляющая концентрация 90% бактерий) WQ-3810, равная 1 мг/л для штаммов *A.baumannii*, включая штаммы с множественной лекарственной устойчивостью, была более чем в 8 раз ниже этого показателя ципрофлоксацина (64 мг/л) и левофлоксацина (8 мг/л). В отношении *E.coli* и *S.pneumoniae*, в т. ч. ФХ-устойчивых штаммов, WQ-3810 (МПК₉₀ 4 мг/л и 0,06 мг/л соответственно) был также активнее ципрофлоксацина (64 мг/л и 2 мг/л) и левофлоксацина (32 мг/л и 2 мг/л). Более того, WQ-3810 был самым активным среди ФХ в отношении метициллиноустойчивого *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *Neisseria gonorrhoeae*, включая ФХ-устойчивые штаммы. WQ-3810 был в высшей степени активен в отношении ФХ-устойчивых штаммов *A.baumannii*, *E.coli* и *S.pneumoniae*, содержащих аминокислотные мутации в детерминирующем устойчивости регионе ДНК гиразы и/или топоизомеразы IV, ферментов, являющихся основными мишенями ФХ. На основании экспериментов по подавлению ДНК гиразы ФХ-устойчивого штамма *E.coli* можно полагать, что высокая антибактериальная активность WQ-3810 в отношении лекарственно-устойчивых штаммов является результатом сильного подавления ферментов-мишеней. Итак, можно заключить, что WQ-3810 продемонстрировал чрезвычайно высокую антибактериальную активность, превосходящую активность известных ФХ, особенно в отношении МЛУ и ФХ-устойчивых патогенов.

* Drug Discovery Laboratory, Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., 1624 Shimokotachi, Kodacho, Akitakata-shi, Hiroshima 739-1195, Japan.

ОЦЕНКА IN VITRO АКТИВНОСТИ ЛЕВОРНИДАЗОЛА, ЕГО МЕТАБОЛИТОВ И АНТИБИОТИКОВ СРАВНЕНИЯ В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ.

EVALUATION OF THE *IN VITRO* ACTIVITY OF LEVORNIDAZOLE, ITS METABOLITES AND COMPARATORS AGAINST CLINICAL ANAEROBIC BACTERIA / J. HU, J. ZHANG*, S. WU, D. ZHU, H. HUANG, Y. CHEN, Y. YANG, Y. ZHANG, // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS DECEMBER 2014; 44: 6: 514–519.

Оценивали *in vitro* антианаэробную активность и спектр действия леворнидазола, его метаболитов и антибиотиков сравнения в отношении 375 клинических штаммов анаэробных бактерий 34 вида, включая грамотрицательные палочки (181 штамм), грамотрицательные кокки (11 штаммов), грамположительные палочки (139 штаммов) и грамположительные кокки (44 штамма). Минимальные подавляющие концентрации (МПК) леворнидазола, его 5 метаболитов и антибиотиков сравнения для этих штаммов определяли методом разведений в агаре. Минимальные бактерицидные концентрации (МБК) леворнидазола и метронидазола определяли в отношении 22 штаммов *Bacteroides fragilis*. Леворнидазол продемонстрировал хорошую активность в отношении *B.fragilis*, других *Bacteroides* spp., *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* и *Peptostreptococcus magnus*, что подтверждается значениями МПК₉₀, равными 0,5, 1, 0,25, 2 и 1 мг/л соответственно. Слабой была активность леворнидазола и антибиотиков сравнения в отношении *Veillonella* spp. В целом, активность леворнидазола в отношении анаэробных грамотрицательных палочек, грамположительных палочек и грамположительных кокков, особенно *B.fragilis*, была сходна или несколько выше активности метронидазола, орнидазола и декстрорнидазола. Благоприятной антианаэробной активностью обладали метаболиты леворнидазола М1 и М4, но не М2, М3 или М5. Значения МБК₅₀ и МБК₉₀ леворнидазола у 22 клинических штаммов *B.fragilis* составили 2 мг/л и 4 мг/л соответственно. Отношения МБК₅₀/МПК₅₀ и МБК₉₀/МПК₉₀ леворнидазола равнялись 4, подобно соответствующим значениям метронидазола. Таким образом, леворнидазол представляет важный анаэробный антибиотик выбора в условиях клиники, учитывая его высокую и широкого спектра *in vitro* активность, бактерицидные свойства и антианаэробную активность его метаболитов М1 и М4.

* Institute of Antibiotics, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China.

НОВОЕ ОКСАЗОЛИДИНОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ FYL-67 ЭФФЕКТИВНО ПРЕДОТВРАЩАЕТ ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЁНКИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

EFFICACY OF THE NOVEL OXAZOLIDINONE COMPOUND FYL-67 FOR PREVENTING BIOFILM FORMATION BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* / S. WU, T. YANG, Y. LUO, X. LI, X. ZHANG, J. TANG, X. MA, Z. WANG* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 11: 3011–3019.

Вызванные биоплёнками *Staphylococcus aureus* инфекции у госпитализированных больных представляют серьёзную проблему. На моделях биоплёнки *in vitro* и *in vivo* была оценена эффективность нового оксазолидинона FYL-67 в подавлении образования *S.aureus* биоплёнки; в качестве контроля служил линезолид, клинически апробированный оксазолидиноновый антибиотик. Ингибирующую образование биоплёнки активность определяли на чувствительном и устойчивом к метициллину штаммах *S.aureus*. Механизм действия и фармакодинамику антибиоплёночной активности изучали по следующим показателям: 1) влияние пре- и пост-экспозиции линезолида и FYL-67 на образование биоплёнки; 2) влияние FYL-67 на структуру биоплёнки; 3) влияние FYL-67 на состав биоплёнки; 4) влияние на морфологию клеток; 5) эффективность FYL-67 и линезолида на модельной *in vivo* катетеро-ассоциированной инфекции у мышей. Результаты исследований *in vitro* и *in vivo* показали, что FYL-67 эффективно подавлял образование биоплёнки, на основании чего авторы делают вывод о возможности использования оксазолидиноновых соединений в качестве антибиоплёночных средств.

* State Key Laboratory of Biotherapy and Cancer Center, West China Hospital, West China Medical School, Sichuan University, Chengdu 610041, China.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФИДАКСОМИЦИНА, ВАНКОМИЦИНА И МЕТРОНИДАЗОЛА ПРИ ЛЕЧЕНИИ *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* ИНФЕКЦИЙ: МЕТА-АНАЛИЗ И НЕПРЯМОЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ СРАВНЕНИЕ.

CLINICAL EFFICACY OF FIDAXOMICIN COMPARED WITH VANCOMYCIN AND METRONIDAZOLE IN *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTIONS: A META-ANALYSIS AND INDIRECT TREATMENT COMPARISON / O. A. CORNELLY*, D. NATHWANI, C. IVANESCU, O. ODUFOWORA-SITA, P. RETSA, I. A. O. ODEYEMI // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 11: 2892–2900.

Оценивали эффективность лечения инфекций, вызванных *Clostridium difficile* (CDIs), фидаксомицином, ограниченно влияющим на нормальную микрофлору кишечника, в сравнении с ванкомицином и метронидазолом. Был выполнен систематический

литературный обзор данных за июль-август 2011 г., известных на июль 2013 г. Эффективность фидаксомицина и ванкомицина оценивали мета-анализом данных прямого сравнения результатов двух испытаний III фазы ($n=1164$). Ввиду отсутствия прямых сравнительных данных по фидаксомицину и метронидазолу было выполнено не прямое сравнение по методологии Bucher et al. (J Clin Epidemiol 1997; 50: 683–91), с использованием результатов прямых сравнительных исследований ванкомицина и метронидазола ($n=345$). Это позволило определить значение OR при не прямом сравнении фидаксомицина и метронидазола, используя прямые сравнительные данные фидаксомицин-ванкомицин и ванкомицин-метронидазол. Уровень клинического излечения фидаксомицином и ванкомицином был сходным; OR(95% ДИ) был равен 1,17(0,82; 1,66), но число рецидивов [0,47 (0,34, 0,65)] было значительно ниже, а показатели поддерживающей терапии [1,75 (1,35, 2,27)] значительно выше для фидаксомицина по сравнению с ванкомицином. Сходные результаты были получены в подгруппах больных с тяжёлыми и нетяжёлыми формами CDI. По результатам непрямого сравнения фидаксомицина и метронидазола показатели вероятности рецидивов [0,42 (0,18, 0,96)] и поддерживающей терапии [2,55 (1,44, 4,51)] были значительно лучше с фидаксомицином, чем метронидазолом. Сходные результаты были получены в случае тяжёлых и нетяжёлых форм CDI. Итак, фидаксомицин улучшал показатели поддерживающей терапии больных CDI по сравнению с ванкомицином. Этот вывод справедлив и для непрямого сравнения фидаксомицина и метронидазола. С позиций полученных данных фидаксомицин можно рассматривать как препарат первой линии (выбора) при лечении CDI.

* Department of Internal Medicine, Clinical Trials Centre Cologne, ZKS Köln, BMBF 01KN1106, Cologne Excellence Cluster on Cellular Stress Responses in Aging-Associated Diseases (CECAD), University of Cologne, 50924 Cologne, Germany.

АКТИВНОСТЬ MD3, ИНГИБИТОРА СИГНАЛЬНОЙ ПЕПТИДАЗЫ I ТИПА, КАК ОДНОГО, ТАК И В КОМБИНАЦИИ С КОЛИСТИНОМ В ОТНОШЕНИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ.

ACTIVITY OF THE TYPE I SIGNAL PEPTIDASE INHIBITOR MD3 AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT GRAM-NEGATIVE BACTERIA ALONE AND IN COMBINATION WITH COLISTIN / Y. PERSONNE, M. A. CURTIS, D. W. WAREHAM, R. D. WAITE* // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2014; 69: 12: 3236–3243.

Эффективное лечение инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, становится всё более проблематичным из-за распространения штаммов с множественной устойчивостью и недостатком новых антимикробных препаратов. Бактериальные сигнальные пептидазы I типа (СП) представляют собой высококонсервативные и важные мишени для новых соединений. СП необходимы для перемещения через мембраны белков, вовлечённых в основные метаболические функции, проявления вирулентности и устойчивости. Оценивали биохимическую и функциональную активность нового синтетического ингибитора СП MD3 в отношении широкого круга грамотрицательных патогенных бактерий. Активность и специфичность MD3 изучали на примере рекомбинантной СП (LepV) *Pseudomonas aeruginosa* и генетически сконструированного LepV-регулируемого штамма. Антимикробную активность соединения в отдельности и в комбинации с веществами, повышающими проницаемость мембраны, гексаметофосфатом натрия и колистином, определяли, используя коллекцию штаммов *P.aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* и *Stenotrophomonas maltophilia*. Было установлено, что MD3 инактивирует LepV белок (IC_{50} 10 μ M), в результате чего антимикробный эффект в присутствии колистина усиливается. MD3 также продемонстрировал высокую активность в отношении диких штаммов и штаммов с мультилекарственной устойчивостью *A.baumannii* и *S.maltophilia*, значения МПК у которых в присутствии субингибиторных концентраций колистина были в пределах 0,5–14 мг/л. Таким образом, MD3 является новым ингибитором бактериальной СП ряда неферментирующих грамотрицательных бактерий. Антимикробная активность его усиливается при комбинации с колистином, и можно полагать, что подавление СП является основанием для будущего применения MD3 в моно- или комбинированной терапии.

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

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ С РАЗНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ НА СОВОКУПНОСТЬ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

IMPACT OF ANTIBIOTICS WITH VARIOUS TARGET SITES ON THE METABOLOME OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS / K. DÖRRIES, R. SCHLUETER, M. LALK* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY DECEMBER 2014; 58: 12: 7151–7163.

Для исследования влияния антибиотиков с различным механизмом действия на совокупность продуктов метаболизма (метаболом) *Staphylococcus aureus* HG001 были проанализированы общие вне- и внутриклеточные метаболические профили. Были в значительной степени охвачены основные пути метаболизма, а в цитозоле *S. aureus* были определены необычные метаболиты, как-то 1,7-бифосфат седогептулозы и УДФ-мурамил-N-ацетилглюкозамин-пентапептид с аланинсериловым остатком. При сравнении изменений во времени характера метаболизма клеток стафилококка, находящихся в состоянии стресса и при его отсутствии, в метаболизме были установлены выходящие из обычного ряда эффекты. В случае каждого антибиотика были обнаружены как аккумуляция, так и снижение уровня метаболитов, часто сравнимые с биосинтетическими путями в целом, такими как основной углеводный или аминокислотный обмен пептидогликана, синтез пуринов и пиримидинов. Ципрофлоксацин вызывал изменения пула (дезоксид)нуклеотидов и предшественников пептидогликана и связанное с этим нарушение баланса синтеза ДНК

и клеточной стенки. Эритромицин увеличивал количество промежуточных продуктов обмена пентозофосфата и лизина. Фосфомицин подавлял первую ферментативную ступень синтеза пептидогликана вслед за снижением уровня предшественников пептидогликана и повышением уровня таких соединений, как УДФ-N-ацетилглюкозамин и аланил-аланин. Напротив, ванкомицин и ампициллин подавляли последнюю стадию образования пептидогликана на внешней стороне клетки. В результате количество УДФ-мурамил-N-ацетилглюкозамин-пептидов резко возрастало, приводя к морфологическим нарушениям в области перегородки и, в целом, к снижению уровней основных метаболитов. Кроме того, каждый антибиотик влиял на уровни промежуточных продуктов трикарбонового цикла.

* Institute of Biochemistry, Ernst-Moritz-Arndt University of Greifswald, Greifswald, Germany.

Материал подготовлен Н. С. Бондаревой



Новые возможности лечения ОРВИ и гриппа



реклама
Рег. № 007362/10
информация для специалистов

Эргоферон

- Оказывает противовирусное, противовоспалительное и антигистаминное действие
- Сочетает преимущества этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии
- Имеет широкий спектр противовирусной активности



ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг»
Тел./факс (495) 684-43 33
Россия, 127473, г. Москва
3-й Самотечный пер., дом 9
www.materiamedica.ru
Лицензия № 99-04-000422 от 10.12.07

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ
ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ