

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 61



11-12'2016

Научно-практический журнал

Сделайте шаг к защите от пневмококковой инфекции



Превенар 13

Вакцина пневмококковая полисахаридная конъюгированная адсорбированная, тринадцативалентная

Первая и единственная пневмококковая
конъюгированная вакцина для детей*
и взрослых

* от 2 месяцев

Краткая инструкция по применению лекарственного препарата ПРЕВЕНАР® 13
(вакцина пневмококковая полисахаридная конъюгированная адсорбированная, тринадцативалентная)

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА:

Вакцина Превенар® 13 представляет собой капсулярные полисахариды 13-ти серотипов пневмококка: 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F; индивидуально конъюгированные с дифтерийным белком CRM₁₉₇ и адсорбированные на алюминии фосфате.

ОПИСАНИЕ:

Гомогенная суспензия белого цвета.
НАЗНАЧЕНИЕ: Профилактика пневмококковых заболеваний, включая инвазивные инфекции (в том числе менингит, бактериемию, сепсис), пневмонии и средние отиты, вызываемых *Streptococcus pneumoniae* серотипов 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F и 23F с 2-х месяцев жизни.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

- Повышенная чувствительность на предшествующее введение Превенар® 13 или Превенар® (в том числе, анафилактический шок, тяжелые генерализованные аллергические реакции);
- Повышенная чувствительность к дифтерийному анатоксину и/или вспомогательным веществам;
- Острые инфекционные или неинфекционные заболевания, обострения хронических заболеваний. Вакцинацию проводят после выздоровления или в период ремиссии.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ

Способ введения

Вакцину вводят в разовой дозе 0,5 мл внутримышечно. Детям первых лет жизни прививки проводят в верхне-наружную поверхность средней трети бедра, лицам старше 2-х лет – в дельтовидную мышцу плеча.

Перед применением шприц с вакциной Превенар® 13 необходимо хорошо встряхнуть до получения гомогенной суспензии. Не использовать, если при осмотре содержимого шприца выявляются инородные частицы, или содержимое выглядит иначе, чем в разделе «Описание» настоящей инструкции.

Не вводить Превенар® 13 внутрисосудисто и внутримышечно в ягодичную область!

Если начата вакцинация Превенар® 13, рекомендуется завершить ее также вакциной Превенар® 13. При вынужденном увеличении интервала между инъекциями любого из приведенных выше курсов вакцинации, введение дополнительных доз Превенар® 13 не требуется.

Схема вакцинации

Возраст начала вакцинации	Схема вакцинации	Интервалы и дозировка
2 мес-6 мес	3+1 или 2+1	Индивидуальная иммунизация: 3 дозы с интервалом не менее 4 нед между введениями. Первую дозу можно вводить с 2-х мес. Ревакцинация однократно в 11-15 мес. Массовая иммунизация детей: 2 дозы с интервалом не менее 8 нед между введениями. Ревакцинация однократно в 11-15 мес.
7-11 мес	2+1	2 дозы с интервалом не менее 4 нед между введениями. Ревакцинация однократно на втором году жизни
12-23 мес	1+1	2 дозы с интервалом не менее 8 нед между введениями
2 года и старше	1	Однократно

Дети, ранее вакцинированные Превенар®

Вакцинация против пневмококковой инфекции, начатая 7-валентной вакциной Превенар®, может быть продолжена Превенар® 13 на любом этапе схемы иммунизации.

Лица в возрасте 18 лет и старше

Необходимость ревакцинации Превенар® 13 не установлена. Решение об интервале между введением вакцин Превенар® 13 и ППВ23 следует принимать в соответствии с официальными методическими рекомендациями.

Особые группы пациентов

У пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток рекомендуется серия иммунизации, состоящая из 4 доз препарата Превенар® 13 по 0,5 мл. Первая серия иммунизации состоит из введения трех доз препарата: первая доза вводится с третьего по шестой месяц после трансплантации. Интервал между введениями должен составлять 1 месяц. Ревакцинирующую дозу рекомендуется вводить через 6 месяцев после введения третьей дозы.

Недоношенным детям рекомендуется четырехкратная вакцинация. Первая серия иммунизации состоит из 3-х доз. Первую дозу следует вводить в возрасте 2 месяца независимо от массы тела ребенка с интервалом 1 месяц между дозами. Введение четвертой (бустерной) дозы рекомендуется в возрасте 12-15 месяцев.

Пожилые пациенты

Иммуногенность и безопасность вакцины Превенар® 13 были подтверждены для пожилых пациентов.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

При температуре от 2 до 8° С. Не замораживать. Хранить в недоступном для детей месте.

СРОК ГОДНОСТИ

3 года. Не использовать после истечения срока годности, указанного на упаковке.

Петензии потребителей направлять по адресу:

- Представительство корпорации Пфайзер Эйч. Си. Пи. Корпорэйшн, 123317 Москва, Пресненская наб., д. 10, БЦ «Башня на Набережной» (Блок С)
Тел.: (495) 287-5000, факс: (495) 287-5300
- ООО «НПО Петровакс Фарм», Российская Федерация, 142143, Московская область, Подольский район, с. Покров, ул. Сосновая, д. 1
Тел./факс: (495) 926-2107, e-mail: info@petrovax.ru
- Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор): 109074, Москва, Славянская пл., д. 4, стр. 1
Тел.: (495) 698-4538; (499) 578-0230

На правах рекламы
WRUPRAMO15025

ООО «Пфайзер Инновации», Россия, 123317, Москва, Пресненская наб., д. 10, БЦ «Башня на Набережной» (Блок С)
Тел.: +7 (495) 287 50 00. Факс: +7 (495) 287 53 00.



Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

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

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

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

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

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: gncajournal@yandex.ru
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 2016

Типография:

ООО «Литера»

Дата выхода: 01.2017

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 61

11—12'2016

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

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

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Научные редакторы

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	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);
Scopus**

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

Оригинальные статьи

Принцевская С.С., Королев А.М., Исакова Е.Б.,
Мирчин Е.П., Тевяшова А.Н.
Гибридные антибиотики на основе азитромицина
и гликопептидов — синтез и антибактериальная активность
Карпенко И.Л., Сорокоумова Г.М., Сумарукова И.Г.,
Гайдукевич С.К., Зарецкая М.А.,
Ефременкова О.В., Александрова Л.А.
Получение липосомальных форм модифицированных
пиримидиновых нуклеозидов и изучение
их антибактериальных свойств
Краснопольская Л.М., Шуктуева М.И., Автономова А.В.,
Ярина М.С., Джавакхян Б.Р., Исакова Е.Б., Бухман В.М.
Противоопухолевые и антиоксидантные свойства
водорастворимых полисахаридов из мицелия
базидиального гриба *Flammulina velutipes*

В помощь практикующему врачу

Цветкова И.А., Волкова М.О., Калиногорская О.С.,
Беланов С.С., Гостев В.В., Сидоренко С.В.
SNP-полиморфизм в геномах изолятов
Streptococcus pneumoniae CC320,
устойчивых к бета-лактамам антибиотикам
Лазарева И.В., Агеев В.А., Ершова Т.А.,
Зуева Л.П., Гончаров А.Е., Дарина М.Г.,
Светличная Ю.С., Усков А. Н., Сидоренко С.В.
Распространение и антибактериальная резистентность
грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз,
в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах
Российской Федерации
Фазылов В.Х., Ситников И.Г., Малышев Н.А., Силина Е.В.,
Шевченко С.Б., Егянян Г.А., Корсантия Б.М., Гроппа Л.Г.
Влияние противовирусной терапии на частоту развития
бактериальных осложнений и назначения
антибактериальных препаратов для системного
использования у пациентов с гриппом и ОРВИ
(результаты когортного международного
наблюдательного исследования FLU-EE)
Родоман Г.В., Сумеди И.Р., Зырянов С.К., Ивжиц М.А.,
Ромашов О.М., Александров М.И., Маркина О.Ю.,
Лукин М.А., Заиграев И.А., Смирнова М.Р.
Успешное применение тигециклина в комбинированной
терапии вентилятор-ассоциированной госпитальной
пневмонии: клинический случай
Корнетски Р., Гринберг Д., Фалуп-Пекурариу О.
Несоответствие по эффективности пневмококковой
вакцины в развитых и развивающихся странах: может ли
вакцинация сократить разрыв?

По страницам журналов

**Указатель авторов и статей,
опубликованных в 2016 г.**

Original Papers

- 3 Printsevskaya S.S., Korolev A.M., Isakova E.B.,
Mirchink E.P., Tevyashova A.N.
Hybrid Antibiotics Based on Azithromycin
and Glycopeptides: Synthesis and Antibacterial Activity
- 9 Karpenko I.L., Sorokoumova G.M., Sumarukova I.G.,
Gaydukevich S.K., Zaretskaya M.A.,
Efremenkova O.V., Alexandrova L.A.
Development of Liposomal Forms
of Modified Pyrimidine Nucleosides
and Investigation of Their Antibacterial Properties
- 16 Krasnopolskaya L.M., Shuktueva M.I., Avtonomova A.V.,
Yarina M.S., Dzhavakhyan B.R., Isakova E.B., Bukhman V.M.
Antitumor and Antioxidant Properties of Water-Soluble
Polysaccharides from Submerged Mycelium
of *Flammulina velutipes*

Guidelines for Practitioners

- 21 Tzyetkova I.A., Volkova M.O., Kalinogorskaya O.S.,
Belanov S.S., Gostev V.V., Sidorenko S.V.
SNP Polymorphism in Genomes of CC320
Isolates of *Streptococcus pneumoniae* Resistant
to Beta-Lactams
- 28 Lazareva I.V., Ageevets V.A., Ershova T.A.,
Zueva L.P., Goncharov A.E., Darina M.G.,
Svetlichnaya Yu.S., Uskov A. N., Sidorenko S.V.
Prevalence and Antibiotic Resistance
of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria
in Saint Petersburg and Some Other Regions
of the Russian Federation
- 39 Fazylov V.Ch., Sitnikov I.G., Malyshev N.A., Silina E.V.,
Shevshenko S.B., Eganyan G.A., Korsantiya B.M., Groppa L.G.
The Effect of Antiviral Therapy on the Incidence
of Bacterial Aggravations and Administration
of Systemic Antibiotics in Patients
with Acute Respiratory Viral Infections and Influenza
(Results of International Cohort
Observational Studies)
- 48 Rodoman G.V., Sumedi I.R., Zyryanov S.K., Ivzhits M.A.,
Romashov O.M., Aleksandrov M.I., Markina O.Yu.,
Lukin M.A., Zaigraev I.A., Smirnova M.P.
Successful Tigecycline Use in Combined Therapy
of Ventilator-Associated Hospital-Acquired Pneumonia:
a Clinical Case
- 56 Kornetsky R., Greenberg D., Falup-Pecurariu O.
Disparities in Effectiveness of Pneumococcal Vaccine
in Industrialized and Developing Countries:
Is Vaccination Closing the Gap?

Abstracts

**Index of Authors and Papers
Published in 2016**

* 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.

Гибридные антибиотики на основе азитромицина и гликопептидов — синтез и антибактериальная активность

С. С. ПРИНЦЕВСКАЯ¹, А. М. КОРОЛЕВ¹, Е. Б. ИСАКОВА¹, Е. П. МИРЧИНК¹, А. Н. ТЕВЯШОВА^{1,2*}

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

² Российский университет дружбы народов, Москва

Hybrid Antibiotics Based on Azithromycin and Glycopeptides: Synthesis and Antibacterial Activity

S. S. PRINTSEVSKAYA¹, A. M. KOROLEV¹, E. B. ISAKOVA¹, E. P. MIRCHINK¹, A. N. TEVYASHOVA^{1,2}

¹ Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

² RUDN University, Moscow

Разработан метод получения и осуществлен синтез серии гибридных антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидов, в которых молекула гликопептидного антибиотика присоединена через аминокилкарбамоильный спейсер по 11-положению макролида. Показано, что все синтезированные соединения не уступают или превосходят по антибактериальной активности азитромицин и ванкомицин в отношении изученных штаммов грамположительных бактерий. Новые гибридные антибиотики продемонстрировали более высокую активность, чем азитромицин и ванкомицин в отношении *S. pneumoniae* ATCC 49619. Некоторые производные из синтезированной серии оказались активны в отношении штаммов *E. faecium* и *E. faecalis*, устойчивых к ванкомицину.

Ключевые слова: ванкомицин; эремомицин; агликон тейкопланина, азитромицин; гибридные антибиотики; антибактериальная активность.

A series of hybrid antibiotics on the basis of azithromycin and glycopeptides with the glycopeptide molecule attached via the aminoalkylcarbamoyl spacer to 11-position of the macrolide was synthesized. All the synthesized compounds demonstrated equal or superior to azithromycin and vancomycin antibacterial activity against 7 tested strains of grampositive bacteria. The new hybrid antibiotics were more active than azithromycin or vancomycin against *S. pneumoniae* ATCC 49619. Some of the compounds were active against *E. faecium* and *E. faecalis* strains resistant to vancomycin.

Key words: vancomycin, eremomycin, teicoplanin aglycon, azithromycin, hybrid antibiotics, antibacterial activity.

Введение

Широкое распространение резистентности к антибиотикам среди возбудителей заболеваний привело к утрате клинической значимости ряда лекарственных препаратов и послужило стимулом для поиска новых эффективных антимикробных агентов. Механизмы формирования устойчивости заложены в природе самих микроорганизмов. Однако ряд факторов (нарастающее неадекватное и/или неконтролируемое применение антибиотиков в здравоохранении, распространение необоснованного самолечения, широкое применение антибиотиков в животноводстве и птицеводстве) ускоряют естественные процессы и поднимают угрозу роста резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам на новый уровень. Распространение ус-

тойчивости к антибиотикам приводит к снижению эффективности лечения и, следовательно, более тяжёлому и длительному течению заболеваний, увеличению частоты госпитализаций пациентов, росту количества смертельных исходов и увеличению экономического ущерба для общества. Последствием распространения болезнетворных бактерий, резистентных к антибиотикам, стал неуклонный рост числа заболеваний бактериальной природы, которые ещё недавно успешно лечились.

Наличие побочных эффектов применения антибиотиков и, в особенности, появление и распространение антибиотикорезистентности среди возбудителей заболеваний привело (и будет приводить) к утрате клинической значимости некоторых антибиотиков и стимулировало поиск путей преодоления возникших трудностей. Решение проблемы лечения инфекций, вызванных полирезистентными бактериями, связано как с разработкой и внедрением решительных и адекватных мер по сдерживанию распростране-

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11. НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе. * Email: chulis@mail.ru

ния антибиотикорезистентности, так и с поиском новых антимикробных препаратов, активных в отношении резистентных микроорганизмов.

Одной из перспективных стратегий, направленной на создание препаратов, активных в отношении резистентных микроорганизмов, является создание антибиотиков двойного действия — гибридных («химерных») антибиотиков, состоящих из молекул разных антибиотиков, связанных между собой различными способами [1]. Гибридные антибиотики обладают расширенным спектром действия по сравнению с исходными антибиотиками, активны в отношении устойчивых бактерий и замедляют развитие антибиотикорезистентности.

Так, по меньшей мере, два гибридных антибиотика, кадазол (cadazolid, конъюгат фторхинолона и оксазолидинона, Actelion Pharmaceuticals, Швейцария) и цефилаванцин (cefilavancin, TD-1792 (гибридный антибиотик на основе ванкомицина и цефалоспорины, Therevance, США) в настоящее время находятся на продвинутых фазах клинических испытаний [2]. Кадазол в настоящее время успешно прошел вторую фазу клинических испытаний, а осенью 2013 года объявлено о начале третьей фазы клинических испытаний кадазола для лечения пациентов, страдающих от диареи, вызываемой *Clostridium difficile*. TD-1792 в настоящее время находится на третьей фазе клинических испытаний для лечения осложнённых инфекций кожи.

В настоящей статье описан синтез гибридных антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидов (ванкомицина, эремомицина и агликона тейкопланина), в которых остаток гликопептида присоединен к 11-гидроксильной группе азитромицина через аминокилкарбамоильный спейсер. Для новых гибридных антибиотиков изучена антибактериальная активность на панели штаммов грамположительных бактерий, включая резистентные штаммы.

Материал и методы

Эремомицин сульфат получен на опытной установке НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, ванкомицин гидрохлорид был коммерческим продуктом фирмы Aldrich (США). Агликон тейкопланина был получен от фирмы Lepetit Research Center (Gerenzano (Varese), Италия). Бензотриазол-1-ил-окси-триспиролидинофосфоний гексафторфосфат (PyBOP) был коммерческим продуктом фирмы Astros. Все растворы высушивали над сульфатом натрия и упаривали при температуре не выше 40°C.

Тонкослойную хроматографию осуществляли на пластинках с силикагелем G60 (Merck) в смеси растворителей: система (А) AcOEt-*n*-PrOH-NH₄OH, 1:1:2, система В:CHCl₃-MeOH, 6:1. Для препаративной очистки использовали колоночную хроматографию на силианизированном силикагеле Merck с размером частиц 0,040–0,063 мкм.

Аналитическую ВЭЖХ осуществляли на хроматографе LC-10 (Shimadzu, Япония) с использованием УФ детектора и колонки Kromasil 100-C18 4 250 мм, размер частиц 6 мкм (АО

БиоХимМак СТ, РФ). Подвижной фазой служили системы, состоящие из двух компонентов А и Б: Система (В): А (0,2% HCOONH₄, pH 4,5) и Б (MeCN), изократический режим 8% ацетонитрила от 0 до 5 мин, затем линейный градиент концентрации ацетонитрила 8→70% от 5 до 40 мин, скорость потока 1,0 мл/мин.

Масс-спектры при ионизации электрораспылением (ESI) получали на приборе Finnigan MAT 900S (Германия).

2'-О-Ацетил-11,12-циклический карбонат азитромицина (5). К раствору азитромицина (5 г, 3,27 ммоль) в 24 мл этилацетата добавляли K₂CO₃ (0,64 г, 4,63 ммоль), нагревали смесь до кипения и затем медленно в течение 20 мин при кипячении добавляли 1,6 г (18,2 ммоль) этиленкарбоната. Далее смесь кипятили 24 ч, затем этилацетат упаривали. Остаток растворяли в дихлорметане (30 мл) при комнатной температуре, затем добавляли уксусный ангидрид (0,61 мл, 4,37 ммоль) и триэтиламин (1,8 мл, 13 ммоль), реакционную массу перемешивали 24 ч при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляли 5% водный раствор NaHCO₃ (30 мл), и водный раствор экстрагировали дихлорметаном (3×10 мл). Объединённые слои дихлорметана высушивали безводным Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в хлороформе и наносили на хроматографическую колонку (45×1,5 см) с силикагелем Merck, уравновешенную хлороформом, элюировали хлороформом (40 мл), затем смесью хлороформ–метанол (10:1). Фракции, содержащие целевое вещество, упаривали и высушивали в вакууме. R_f (В) = 0,6; MS (ESI) m/z calcd. for C₄₁H₇₂N₂O₁₄ 816,4984; found (M + H⁺) 817,5067.

2'-О-Ацетил-11-О-(ω-аминоалкилкарбамоил)азитромицин (6). 2'-О-Ацетил-11,12-циклический карбонат азитромицина (5) растворяли в минимальном объёме Na,Nω-диаминоалкана и перемешивали при комнатной температуре 48 ч. В реакционную смесь добавляли CHCl₃ (20 мл) и H₂O (20 мл), смесь встряхивали. Органический слой отделяли и промывали H₂O (6×20 мл). Органические слои объединяли и далее добавляли 0,5 н HCl (20 мл), встряхивая слои так, чтобы pH водного слоя составил 8. Органический слой отделяли, добавляли Na₂SO₄, выдерживали 1 ч, осадок Na₂SO₄ отфильтровывали, промывая хлороформом. Органический слой упаривали и высушивали в вакууме. Целевое соединение 6 использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Общая методика проведения реакции ацилирования 2'-О-ацетил-11-О-(ω-аминоалкилкарбамоил)азитромицина (6) гликопептидными антибиотиками (ванкомицином или эремомицином или агликоном тейкопланина) К раствору гликопептидного антибиотика (2 или 3 или 4) (0,47 ммоль) в ДМСО (7 мл) добавляли 2'-О-ацетил-11-О-(ω-аминоалкилкарбамоил)азитромицин (6) (0,5 экв., 0,235 ммоль), значение pH реакционной смеси доводили до ~7,5 добавлением Et₃N. Порциями в течение 1 ч добавляли PyBOP (1,1 экв., 0,26 ммоль), поддерживая pH реакционной смеси ~7,5 добавлением Et₃N. Реакционную смесь перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре, затем добавляли пятикратный объём диэтилового эфира. Полученную смесь интенсивно перемешивали, затем эфирный слой удаляли. Процедуру повторяли дважды, до получения вязкого масла, затем добавляли метанол (0,5 мл), ацетон (2 мл) и избыток диэтилового эфира, выпавший осадок отфильтровывали, промывали диэтиловым эфиром и высушивали. Продукт далее очищали методом колоночной хроматографии на силианизированном силикагеле. Вещество растворяли в 30% водном растворе MeOH, добавляли 1 см³ силианизированного силикагеля и высушивали эту смесь в вакууме, далее наносили её на колонку с силианизированным силикагелем, уравновешенную водой. Элюцию осуществляли водой (100 мл), затем 0,05 М раствором CH₃COOH, затем системой MeOH-0,05 М CH₃COOH (30:70) (100 мл) для соединений 7–9 или системой MeOH-0,05 М CH₃COOH (30:70) (100 мл) для соединений 10–11. Фракции, содержащее целевое вещество объединяли, упаривали в роторном испарителе с

Таблица 1. Физико-химические характеристики гибридных антибиотиков на основе азитромицина и ванкомицина, эремомицина или агликона тейкопланина (7–11)

Соед.	TCX, R _f (система А)	ВЭЖХ, R _t , мин	Молекулярная формула	MW	
				Вычислено	Найдено [M+H] ⁺
7	0,32	20,258	C ₁₀₈ H ₁₅₃ Cl ₂ N ₁₃ O ₃₆	2277,99	2279,376
8	0,37	21,106	C ₁₀₉ H ₁₅₁ Cl ₂ N ₁₃ O ₃₇	2306,02	2307,0366
9	0,31	20,147	C ₁₁₇ H ₁₇₁ ClN ₁₄ O ₃₈	2415,16	2416,1586
10	0,53	23,335	C ₁₀₀ H ₁₂₃ Cl ₂ N ₁₁ O ₃₀	2027,78	2028,7945
11	0,57	24,137	C ₁₀₂ H ₁₂₇ Cl ₂ N ₁₁ O ₃₀	2055,81	2056,8373

Таблица 2. Антибактериальная активность гибридных антибиотиков 7–11 в сравнении с азитромицином (1) и ванкомицином (2)

Штаммы	Соединения, МПК, мг/мл						
	1	2	7	8	9	10	11
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,0	1,0	4,0	2,0	2,0	2,0	0,13
<i>Staphylococcus aureus</i> 3797	>32,0	4,0	4,0	8,0	2,0	4,0	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 3798	>32,0	8,0	8,0	8,0	4,0	4,0	0,5
<i>Enterococcus faecium</i> 569	8,0	>32,0	>32,0	16,0	>32,0	4,0	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> 560	>32,0	>32,0	32,0	16,0	4,0	4,0	0,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	8,0	2,0	1,0	1,0	0,5	2,0	0,25
<i>Streptococcus galenarum</i> ATCC 35038	4,0	4,0	4,0	1,0	2,0	64,0	16,0
<i>Streptococcus agalactis</i> 52-2	>32,0	8,0	0,25	0,5	0,5	64,0	64,0

добавлением n-BuOH, к остатку добавляли ацетон и диэтиловый эфир. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали в вакууме. Физико-химические данные для производных 7–11 представлены в табл. 1.

Определение антибактериальной активности. В работе использовались одноразовые стерильные 96-луночные плоскодонные планшеты, чашки Петри, пипетки, наконечники и пробирки (Пан-Эко, Москва).

Питательные среды: бульон и агар Мюллера–Хинтон для работы готовили из сухих сред (Mueller Hinton broth and Mueller Hinton agar, Acumedia, Baltimore) и стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин.

Для культивирования *Staphylococcus* использовали готовую сухую среду — Триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). Для культивирования *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* использовали готовую сухую среду — Колумбийский агар (Columbia Agar Base, BBL).

Сравнительная оценка спектра антибактериального действия на эталонных штаммах грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов проводилась с использованием микрометода определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) методом серийных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон с использованием 96-луночных стерильных планшетов.

Исходные растворы испытуемых соединений готовили в концентрации 1000 мкг/мл.

МПК определяли методом серийных разведений в бульоне с шагом 2, поэтому различия соседних разведений не считаются существенными. В каждом опыте присутствовал контроль бульона и роста бактериальной культуры.

Приготовление инокулюма. Для приготовления инокулюма использовали чистую, суточную культуру грамположительных микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде, соответствующей для каждого типа микроорганизмов. В стерильном изотоническом растворе хлорида натрия готовили взвесь микроорганизмов, доводя плотность инокулюма до 0,5 по стандарту МакФарланда (1,5×10⁸ КОЕ/мл). Затем полученный инокулят разводили до концентрации 5×10⁵ КОЕ/мл бульоном Мюллера–Хинтон. Инокулюм использовали в течение 15 мин после приготовления; чистота бактериальных штаммов контролировалась перед каждым экспериментом.

Постановка эксперимента. В лунки каждого планшета вносили по 100 мкл бульона Мюллера–Хинтон; в первую лунку

вносили испытуемое вещество в концентрации 128 мкг/мл в объеме 100 мкл и последовательным двукратным разведением довели его концентрацию до 0,25 мкг/мл. Затем в каждую лунку вносили приготовленный инокулюм, разводя тем самым вдвое концентрацию изучаемых соединений. Каждый препарат в эксперименте титровали дважды. В качестве контроля включали лунки, не содержащие тестируемых веществ (контроль роста культуры). Кроме того, ставился контроль чистоты питательных сред и растворителей. Планшеты инкубировали в термостате при 36°C в течение 24 ч.

Оценку роста культур проводили визуально, сравнивая рост микроорганизмов в присутствии изучаемых тест-соединений с ростом культуры без них.

За МПК принимали минимальную концентрацию исследуемых соединений, обеспечивающую полное подавление видимого роста исследуемых штаммов микроорганизмов.

Полученные данные представлены в табл. 2.

Результаты и обсуждение

Азитромицин (1) (рис. 1), полусинтетический антибиотик широкого спектра действия, является первым представителем подкласса азалидов, несколько отличающихся по структуре от классических макролидов, основу химической структуры которых составляет макроциклическое лактонное кольцо. Механизм действия азитромицина основан на связывании с 50S-субъединицей рибосомы, угнетением пептидтранслоказы на стадии трансляции и подавлением синтеза белка [3]. Азитромицин обладает уникальной по сравнению с другими макролидами способностью накапливаться в органах и тканях — антибиотик активно поглощается разными клетками, включая лейкоциты, фибробласты, макрофаги и фагоциты, и вместе с ними транспортируется к месту инфекции (воспаления) [4, 5]. Объединение в одной молекуле структур азитромицина с другим антибактериальным агентом потенциально может расширить спектр действия такого химерного антибиотика, а также при-

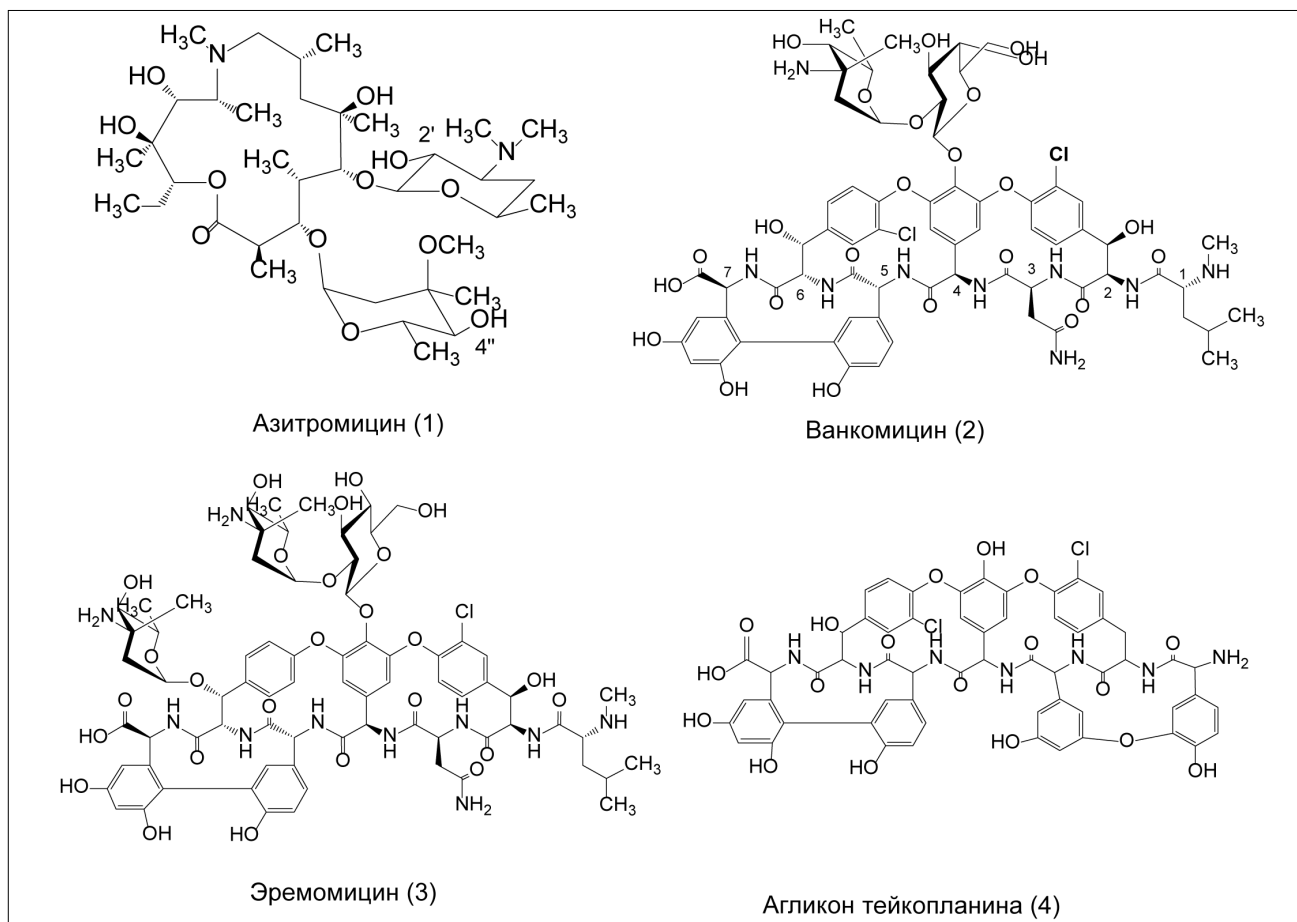


Рис. 1. Структура макролидного антибиотика азитромицина (1) и гликопептидных антибиотиков ванкомицина (2), эремомицина (3) и агликона тейкопланина (4).

дать ему улучшенные фармакологические свойства за счёт остатка азитромицина.

Известно, что в ряде случаев, особенно при лечении тяжёлых инфекций, в том числе вызванных MRSA, комбинированная терапия с использованием макролидов (таких как азитромицин) и антибиотиков, механизм действия которых связан с воздействием на клеточную стенку бактерий (таких как пенициллин или ванкомицин), оказывается более эффективной, чем монотерапия макролидами или β -лактамами, или гликопептидами [6, 7]. Таким образом, представлялось перспективным получение химерных антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидных антибиотиков и изучение их биологических свойств.

В качестве второго антибактериального агента для присоединения к молекуле азитромицина использованы гликопептидные антибиотики ванкомицин, эремомицин и агликон тейкопланина. Ванкомицин (2) (см. рис. 1) представляет собой трициклический гептапептид, к которому присоединен дисахарид, состоящий из аминокислоты (ванкозамина) и D-глюкозы [8]. Эремомицин (3) (рис. 1) — оригинальный отечественный антибиотик, агликон которого отличается от агликона ванкомицина отсутствием атома хлора в боковом

ароматическом радикале аминокислоты 6, структурой дисахаридной цепи (2-O-(α -L-эремозаминил)- β -D-глюкопиранозил) и наличием третьего углеводного остатка (L-эремозаминил) в боковом радикале аминокислоты 6 [9]. Агликон тейкопланина (4) (см. рис. 1) представляет собой гептапептид, в котором в отличие от агликонов ванкомицина и эремомицина, боковые радикалы аминокислот 1 и 3 являются ароматическим и соединены между собой эфирной связью. Гликопептиды активны в отношении грамположительных аэробных и анаэробных микроорганизмов, включая метициллиноустойчивых *Staphylococcus aureus* (MRSA), метициллиноустойчивых *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), стрептококков, пневмококков, энтерококков, включая резистентных к ампицилину и аминогликозидам, пептострептококков, листерий, коринебактерий, клостридий (включая *C.difficile*). Механизм действия гликопептидных антибиотиков связан с нарушением синтеза клеточной стенки бактерий [10].

Ранее показано, что 11-O-замещённые производные макролидных антибиотиков, в частности, кларитромицина обладают высокой активностью в отношении устойчивых к макролидам штаммов *S.aureus*, *S.pneumoniae* и *S.pyogenes* [11, 12]. По этой причине сайтом присоединения молекулы

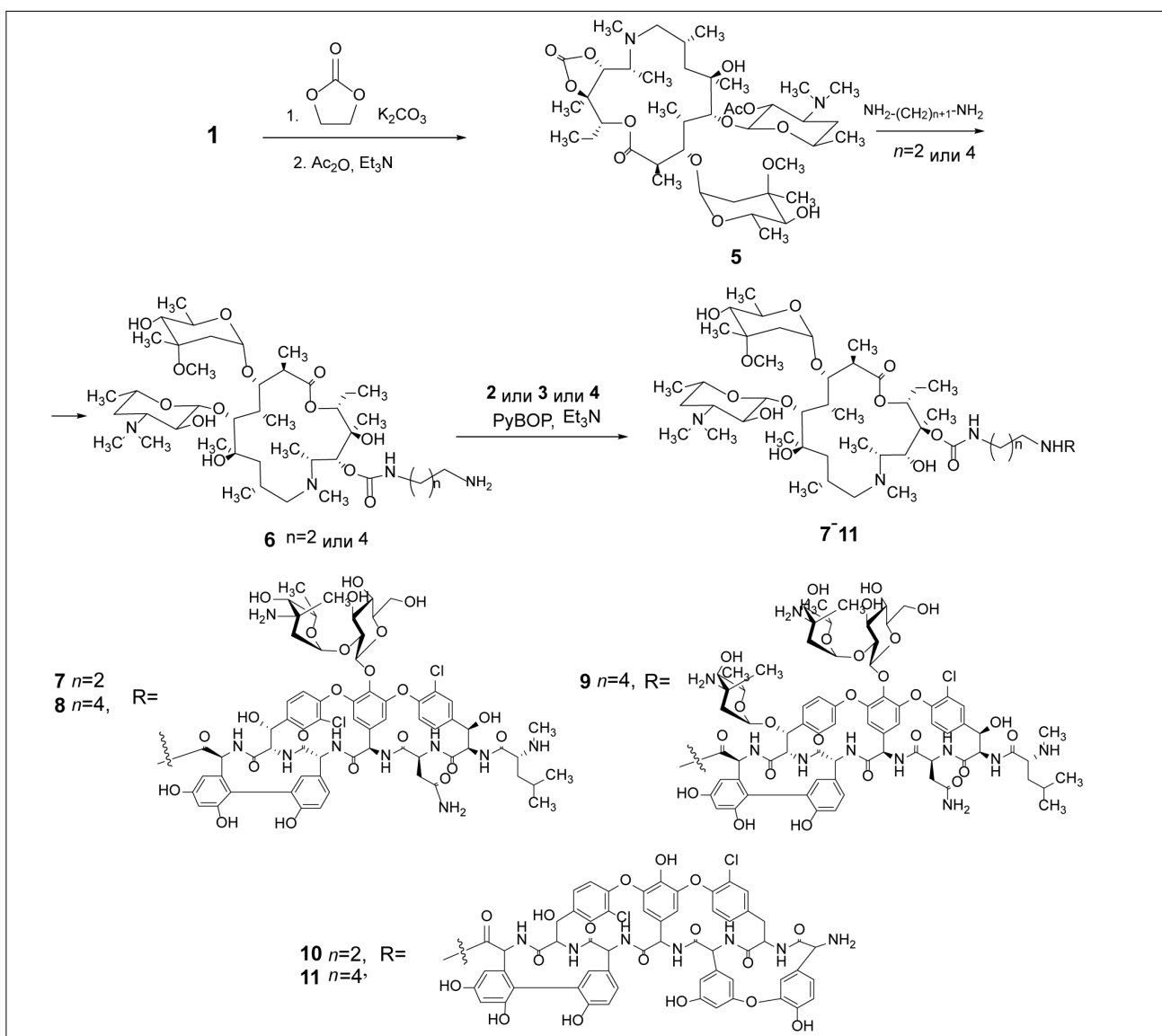


Рис. 2. Схема синтеза гибридных антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидов.

гликопептида к азитромицину выбрано 11-положение макролидного кольца.

Исходным соединением для синтеза целых гибридных антибиотиков послужил 2'-О-ацетил-11,12-циклический карбонат азитромицина (5), полученный в две стадии из азитромицина (рис. 2). Реакцией азитромицина с этилен карбонатом получен 11,12-циклический карбонат азитромицина, 2'-гидроксильную группу которого защищали ацетильной группой реакцией с уксусным ангидридом в присутствии триэтиламина. Целевой интермедиат для ацилирования гликопептидными антибиотиками, 11-О-(ω -аминоалкилкарбамоил)азитромицин (6), получен из 2'-О-ацетил-11,12-циклического карбоната азитромицина (5) методом, аналогичным описанному в литературе [13]. Соединение 5 перемешивали в 1,3-пропандамине или 1,5-пентандиамина, при этом происходила раскрытие карбонатного цикла с одновременным отщепле-

нием защитной ацетильной группы с образованием соответствующих производных 6. Реакцию ацилирования 11-О-(ω -аминоалкилкарбамоил)азитромицина (6) гликопептидным антибиотиком ванкомицином (2) или эремомицином (3) или агликоном тейкопланина (4) проводили в присутствии конденсирующего агента бензотриазол-1-ил-окси-триспирролидинофосфоний гексафторфосфата (РyВOP). Целевые гибридные антибиотики очищали методом колоночной хроматографии на силанизированном силикагеле. Чистота полученных соединений 7—11 подтверждена методами ТСХ и ВЭЖХ. Структура полученных гибридных антибиотиков 7—11 подтверждена методом масс-спектрометрии высокого разрешения. Физико-химические характеристики полученных производных представлены в табл. 1.

Антибактериальная активность производных 7—11 в сравнении с азитромицином (1) и ванко-

мицином (2) изучена на панели штаммов грамположительных бактерий (табл. 2). В целом, все новые гибридные антибиотики 7–11 обладали высокой антибактериальной активностью в отношении тестовых штаммов грамположительных бактерий. Особенно высокую активность продемонстрировало производное 11 (на основе азитромицина и агликона тейкопланина), которое было более активно, чем азитромицин и ванкомицин в отношении 5 из 7 тестовых штаммов (кроме *S. galenarum* ATCC 35038 и *S. agalactis* 52-2). Все синтезированные производные 7–11 обладали более высокой активностью (МПК 0,5–8 мг/мг) в отношении штаммов *S. aureus* 3797 и *S. aureus* 3798, устойчивых к азитромицину (МПК >32 мг/мг). Ценной также является высокая активность производных 7–11 (МПК 0,25–2 мг/мг), выше, чем для азитромицина и ванкомицина, в отношении пневмококков (*S. pneumoniae* ATCC 49619), являющихся причиной большинства случаев менингитов, внебольничных пневмоний и ряда гнойно-септических инфекций. Производное на основе эремомиицина и азитромицина 9 и производные на основе азитромицина и агликона тейкопланина 10 и 11 оказались активны в отношении штаммов *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, устойчивых к ванкомицину.

Таким образом, предложенный способ получения антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидных антибиотиков позволяет получать новые соединения, обладающие высокой антибактериальной активностью, в том числе, в

отношении ряда устойчивых к макролидам или гликопептидам штаммов грамположительных бактерий.

Заключение

Разработан метод получения и осуществлен синтез серии гибридных антибиотиков на основе азитромицина и гликопептидов, в которых молекула гликопептидного антибиотика присоединена по 11-положению макролида. Показано, что все синтезированных соединения не уступают или превосходят по антибактериальной активности азитромицин и ванкомицин в отношении изученных штаммов грамположительных бактерий. Новые гибридные антибиотики продемонстрировали более высокую активность, чем азитромицин и ванкомицин в отношении *S. pneumoniae* ATCC 49619. Некоторые производные из синтезированной серии оказались активны в отношении штаммов *E. faecium* и *E. faecalis*, устойчивых к ванкомицину. Таким образом, получение гибридных антибиотиков на основе гликопептидов и азитромицина является перспективным направлением исследований в области поиска новых антимикробных агентов, обладающих расширенным спектром действия и активных в отношении резистентных штаммов бактерий.

Благодарности.

Работы выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-34-60110.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тевяшова А.Н., Олсуфьева Е.Н., Преображенская М.Н. Создание антибиотиков двойного действия как путь поиска новых перспективных лекарственных препаратов. Успехи химии 2015; 84: 61–97. / *Tevyashova A.N., Olsufeva E.N., Preobrazhenskaya M.N.* Sozdanie antibiotikov dvojnogo dejstviya kak put' poiska novyh perspektivnykh lekarstvennykh preparatov. Uspexi himii 2015; 84: 61–97. [in Russian]
2. Butler M.S., Blaskovich M.A.T., Cooper M.A. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015. J Antibiot 2016; doi:10.1038/ja.2016.72.
3. Parnham M.J., Erakovic Haber V., Giamarellos-Bourboulis E.J., Perletti G., Verleden G.M., Vos R. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. Pharmacol Ther 2014; 143: 2: 225–245.
4. Lalak N.J., Morris D.L. Azithromycin clinical pharmacokinetics. Clin Infect Dis 1993; 25: 370–374.
5. Gladue R.P., Bright G.M., Isaacson R.E., Newborg M.F. In vitro and in vivo uptake of azithromycin (CP-62,993) by phagocytic cells: possible mechanism of delivery and release at sites of infection. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34: 1056–1060.
6. Deresinski S. Vancomycin in combination with other antibiotics for the treatment of serious methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. Clin Infect Dis 2009; 49: 1072–1079.
7. Martínez J.A., Horcajada J.P., Almela M., Marco F., Soriano A., García A., Marco M.A. et al. Addition of a macrolide to a β -lactam-based empirical antibiotic regimen is associated with lower in-hospital mortality for patients with bacteremic *Pneumococcal pneumonia*. Clin Infect Dis 2003; 36: 389–395.
8. Sztaricskai F., Pelyvás-Ferencsik I. Chemistry of carbohydrate components. In: Glycopeptide Antibiotics, 1st edn (Ed. Nagarajan R.), 1994, Marcel Dekker, New York, NY, USA.
9. Gause G.F., Brazhnikova M.G., Lomakina N.N., Berdnikova T.F., Fedorova G.B., Tokareva N.L. et al. Eremomycin — new glycopeptide antibiotics. Chemical properties and structure. J Antibiot 1989; 42: 1790–1799.
10. Reynolds P.E. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989; 8: 11: 943–950.
11. Niu D. 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, Sept 27–30, 2002, Abst F 1666.
12. Ma S., Jiao B., Liu Z., Wang H., Xian R., Zheng M., Lou H. Synthesis and antibacterial activity of 4",11-di-O-arylalkylcarbamoyl-azithromycin derivatives. Bioorg Med Chem Lett 2009; 19: 1698–1701.
13. Li X., Ma S., Yan M., Wang Y., Ma S. Synthesis and antibacterial evaluation of novel 11,4"-disubstituted azithromycin analogs with greatly improved activity against erythromycin-resistant bacteria. Europ J Med Chem 2013; 59: 209–217.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Светлана Сергеевна Принцевская — к.х.н., лаборатория химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА», Москва

Александр Михайлович Королев — д.х.н., г.н.с. лаборатория химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА», Москва

Елена Борисовна Исакова — н.с. лаборатории химиотерапии и фармакологии ФГБНУ «НИИНА», Москва

Елена Павловна Мирчинк — д.м.н., в.н.с. лаборатории химиотерапии и фармакологии ФГБНУ «НИИНА», Москва

Тевяшова Анна Николаевна — д.х.н., в.н.с. лаборатория химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА», Москва

Получение липосомальных форм модифицированных пиримидиновых нуклеозидов и изучение их антибактериальных свойств

И. Л. КАРПЕНКО¹, Г. М. СОРОКОУМОВА², И. Г. СУМАРУКОВА³,
С. К. ГАЙДУКЕВИЧ², М. А. ЗАРЕЦКАЯ², О. В. ЕФРЕМЕНКОВА^{3*}, Л. А. АЛЕКСАНДРОВА¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

² Московский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва

³ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва

Development of Liposomal Forms of Modified Pyrimidine Nucleosides and Investigation of Their Antibacterial Properties

I. L. KARPENKO¹, G. M. SOROKOUMOVA², I. G. SUMARUKOVA³, S. K. GAYDUKEVICH²,
M. A. ZARETSKAYA², O. V. EFREMENKOVA³, L. A. ALEXANDROVA¹

¹ V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow

² Moscow Technological University, Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow

³ Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

Созданы комплексы различного состава фосфохолин-кардиолипин-производные 2'-дезоксифлуоридина, что позволило получить водорастворимую форму аналогов нуклеозидов с установленной ранее противотуберкулёзной активностью. Установлено, что полученные липосомы эффективно проникают в клетки, а возрастание цитотоксичности, свидетельствует об увеличении накопления нуклеозида в клетках. Этот результат подтверждает возможность применения липосомальных форм для доставки малорастворимых соединений в клетки для дальнейшего изучения их эффективности. Показано, что введение модифицированных нуклеозидов в липосомальной форме в бактериальные клетки не влияет на рост последних.

Ключевые слова: липосомы, модифицированные пиримидиновые нуклеозиды, фосфолипиды, цитотоксичность, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium smegmatis*.

Different phosphocholine-cardiolipin-2'-deoxyuridine inclusion complexes were developed, that allowed to compose a water-soluble form of nucleoside analogues with previously defined antituberculosis activity. It was found that the resulting liposomes effectively penetrated to the cells. The increase of cytotoxicity was undoubtedly indicative of accumulation of the nucleoside in the cell culture. The result proved the ability of the liposomes for delivery of the low-soluble compounds to the cells for further investigation of their efficacy. It was shown that treatment of the bacterial cells with the liposomes of the modified nucleosides did not affect the bacterial growth.

Key words: liposomes, modified pyrimidine nucleosides, phospholipids, cytotoxicity, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. smegmatis*.

Введение

Согласно статистическим данным, в Российской Федерации наблюдается высокий уровень заболевания туберкулёзом [1]. Интенсивное применение в терапии туберкулёза препаратов первого и второго рядов привело к возникновению большого количества штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих либо множественной (МЛУ) либо широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивостью к препаратам и, вследствие этого, к значительным осложнениям при лечении [2]. В

связи с этим чрезвычайно актуальными являются как поиск новых лекарственных препаратов, активных в отношении резистентных штаммов патогена, так и разработка эффективных способов их доставки.

Липосомы представляют собой замкнутые сферические структуры, содержимое которых отделено от окружающей среды фосфолипидным бислоем. Важным достоинством липосомальных форм лекарственных соединений является возможность осуществления внутриклеточной доставки малорастворимых лекарственных субстанций. Липосомы (как мультиламеллярные, так и одноламеллярные везикулы) активно используются в лекарственных формах уже существующих противотуберкулёзных препаратов, в частности, в

© Коллектив авторов, 2016

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

аэрозолях [3–6]. Поскольку природные фосфолипиды активируют антимикобактериальный врождённый иммунный ответ [3], липосомальные формы препаратов часто более эффективны, чем водные растворы или таблетированные формы последних [6]. Включение препаратов в липосомы приводит к увеличению растворимости и улучшению фармакокинетических характеристик, позволяющему понизить применяемую дозу препарата. Для противотуберкулёзных лекарственных препаратов показано также, что включение их в липосомы снижает токсичность, позволяет пролонгировать их действие и обеспечивает доставку препарата в инфицированные макрофаги организма хозяина, которые способны к слиянию с липосомами [7–10]. В отечественной и зарубежной литературе приводятся варианты эффективных липосомальных лекарственных форм для рифампицина и изониазида [10–13], а также и для рифабутина [14].

Аналоги нуклеозидов успешно применяются для терапии вирусных инфекций (ВИЧ, герпеса, гепатитов и др.) [15]. В начале этого столетия была впервые продемонстрирована их способность ингибировать рост микобактерий (в том числе *M. tuberculosis*) *in vitro* [16], а затем показано подавление роста *M. tuberculosis* отрицательно-заряженными фосфолипидами (ОЗФ) [17, 18]. Весьма перспективным в этой связи представляется объединение этих двух подходов.

Целью данной работы являлось изучение влияния ОЗФ в составе липосом на антибактериальную активность и цитотоксичность последних, а также получение липосомальных форм модифицированных пиримидиновых нуклеозидов, обладающих противотуберкулёзной активностью, и определение вносимых ими изменений в эти показатели.

Материал и методы

Объект исследования. Объектами исследования были 5-алкилоксиметильные и (4-алкил-1,2,3-триазол-1-ил)-метильные производные 2'-дезоксигуанидина (рис.1), синтезированные по описанным методикам [19, 20]; большие одноламеллярные везикулы (БОЛВ) на основе фосфолипидов (ФЛ) и комплексы, образуемые за счёт включения аналогов нуклеозидов в состав БОЛВ. Для создания БОЛВ применяли фосфатидилхолин (ФХ) из сои — LipoidS 100 (LipoidGmbH, Германия) 97% чистоты; отрицательно заряженные фосфолипиды (ОЗФ) — фосфатидную кислоту (ФК) и фосфатидил глицин (ФГ), полученные методом перефосфатилирования ФХ [21], динатриевую соль кардиолипина (КЛ) из сердца крупного рогатого скота, (AvantiPolarLipids, США). Использовали БОЛВ, образованные различно заряженными липидами в соотношениях 4:1; 2:1; 1:1; 1:2 и 1:4 и БОЛВ на основе ФХ и флуоресцентномеченного ФХ (1-олеил-2-[12-[(7-нитро-2-1,3-бензоксидиазол-4-ил)амино]додеканоил]-sn-глицеро-3-фосфохолина (NBD PC Ex/Em 460/534 нм) в соотношении 19:1

Оборудование Липосомы получали при помощи экстрадера LipoFast-Basic (Avestin, Inc., США) с двумя микрошприцами (Hamilton, Швейцария) на 1 мл каждый, с использованием поликарбонатных фильтров Nuclepore (Whatman, США) с диаметром пор 100 нм.

Гель-фильтрацию проводили на колонке illustra NAP 5 Sephadex G-25 DNAGrade (GEHealthcare, Великобритания).

Спектры в видимой и ультрафиолетовой областях регистрировали на спектрофотометре UV 1700 PharmaSpec (Shimadzu, Япония).

Результаты МТТ-теста определяли на планшетном ридере Chameleon (Hidex, Финляндия)

Штаммы микроорганизмов. В качестве тест-штаммов для определения антимикробной активности использовали 3 коллекционных штамма бактерии *Mycobacterium smegmatis* ВКПМ Ac 1339; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Культуры клеток. Для определения цитотоксичности производных 2'-дезоксигуанидина и фосфолипидов и изучения проникновения БОЛВ в клетки использовали перевиваемые культуры клеток: аденокарциномы лёгких A549 из коллекции ИМБ РАН и макрофаги мыши J774 из коллекции ИБХ РАН. Клетки выращивали в среде DMEM (Gibco, Life Technologies, США) с 10% эмбриональной сывороткой телёнка (HyClone, Великобритания).

Получение БОЛВ. Навеску липида (ФХ, ФК, ФГ и КЛ) массой 20 мг растворяли в спирте и упаривали при 34 °С. Полученную липидную пленку диспергировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера (рН 7,4) и перемешивали на Vortex до полного перехода липида со стенок колбы в водный раствор. В случае приготовления БОЛВ из ФК применяли технику четырёхкратного замораживания мультимамеллярных везикул МЛВ с помощью жидкого азота с последующим их оттаиванием. Далее методом экструзии дисперсии МЛВ через поликарбонатный фильтр с размером пор 100 нм получали липидные БОЛВ.

Липосомы с добавлением флуоресцентномеченного фосфолипиды NBD-PC получали по вышеприведённой методике.

Стоковая концентрация всех исследованных липидов составляла 20 мг/мл.

Получение БОЛВ, содержащих С-5-модифицированные 2'-дезоксигуанидины (НЗ). БОЛВ:НЗ получали экструзией дисперсии мультимамеллярных везикул, состоящих из различных липидов и модифицированных нуклеозидов, через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 100 нм. Навеску 20 мг ФХ растворяли в этаноле и добавляли 200 мкл стокового раствора НЗ в этаноле (5 мг/мл). Смесь упаривали при температуре 34 °С. Далее получали БОЛВ из ФХ:НЗ (20 мг/мл ФХ:1 мг/мл НЗ) по вышеприведённой методике. Для определения концентрации и степени включения НЗ в липосомы проводили гель-фильтрацию липосомальных форм НЗ через колонку illustra NAP 5, заполненную сорбентом Sephadex G-25. На слой сорбента наносили 500 мкл образца БОЛВ с НЗ (0,5 мг НЗ). Фракции элюировали фосфатно-солевым буфером (рН 7,4), при этом НЗ в составе липосом выходил в первой фракции объёмом 1,5 мл (выход БОЛВ с колонки контролировали спектрофотометрически при длине волны 750 нм), а НЗ, не включившийся в липосомы — во второй фракции объёмом 1,5 мл (отсутствие липосом во фракции контролировали при длине волны 450 нм). Для определения степени включения НЗ в липосомы разрушали липосомальную фракцию этанолом, добавляя к 10 мкл фракции 990 мкл этанола. Полноту разрушения липосом контролировали спектрофотометрически при длине волны 450 нм. Далее измеряли оптическую плотность разрушенной липосомальной фракции при длине волны 265–266 нм. Чтобы определить количество не включившегося в липосомы НЗ, измеряли оптическую плотность неразбавленной фракции при длине волны 276–279 нм. Затем рассчитывали степень включения и загрузку НЗ в липосомы.

Определение цитотоксического эффекта. Определение цитотоксичности проводили методом МТТ-теста [22] в трёх повторях. При определении цитотоксичности производных 2'-дезоксигуанидина использовали их растворы в ДМСО в стоковой концентрации 20 мг/мл.

Определение локализации БОЛВ в культурах клеток. Для определения локализации БОЛВ в клетках использовали флуо-

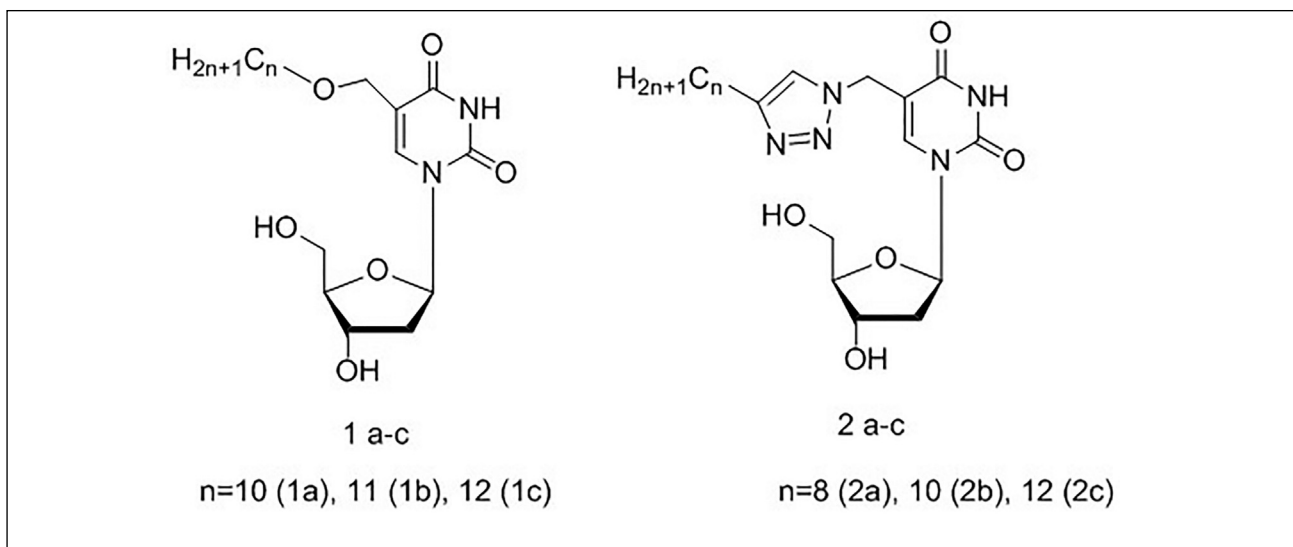


Рис. 1. Структура 5-алкилоксиметильных (1) и 5-алкилтриазолилметильных (2) производных 2'-дезоксиридина.

ресцетномеченый фосфолипид NBD-PC. Липосомы, содержащие NBD-PC в концентрации 0,5 мг/мл добавляли к культурам клеток A549 и J774 и инкубировали в течение 20 ч. Далее культуру клеток промывали фосфатно-солевым буфером (pH 7,4), добавляли к клеткам среду DMEM без содержания фенолового красного и краситель NucBlue (30 мкл/мл среды), связывающийся с ядерной ДНК. Затем определяли локализацию липосом методом флуоресцентной микроскопии.

Определение антимикробной активности. Для стерилизации растворов использовали мембраны с диаметром пор 0,22 мкм MILLEX® GP фирмы MILLIPORE IRELAND. В жидкую питательную среду вносили 10%/об исходных растворов соединений. При выборе тест-штаммов для определения антибиотических свойств исследуемых веществ учитывали их способность расти в присутствии 10% указанной смеси (контроль роста). Эксперименты проводили в соответствии с ранее разработанными для каждого микроорганизма методиками [23].

Результаты и обсуждение

Как сообщалось нами ранее [16, 24, 25], 5-алкилоксиметильные и (4-алкил-1,2,3-триазол-1-ил)-метильные производные 2'-дезоксиридина (рис. 1) и 5-(1-алкинилметильные) производные карбоциклических нуклеозидов [26] проявили высокую противотуберкулёзную эффективность на двух штаммах *M. tuberculosis* — лабораторном H37Rv и клиническом изоляте с МЛУ MS-115 (устойчивом к действию 5 противотуберкулёзных

препаратов 1-й линии). Максимальная активность была показана для соединений 1c и 2b и составляла на обоих штаммах 10–20 мкг/мл. Было продемонстрировано также ингибирование роста ряда грамположительных бактерий и грибов [27].

Ранее нами было также показано [18], что отрицательно-заряженные фосфолипиды в высоких концентрациях (выше 335 мкМ) ингибируют рост и вызывают гибель клеток грамотрицательных (*E. coli* BL21(DE3)) и грамположительных (*M. tuberculosis* H37Rv) бактерий. Мы полагали, что включение аналогов нуклеозидов в состав липосом позволит повысить их растворимость и, возможно, увеличить их биодоступность.

В настоящей работе были получены липосомы, сформированные на основе как положительно-заряженного фосфолипида (ФХ), так и ряда отрицательно-заряженных (ФК, ФГ, КЛ) фосфолипидов, проварьировали соотношение ФХ:ОЗФ. Полученные образцы были охарактеризованы методом динамического и электрофоретического рассеяния света, при этом определяли гидродинамический диаметр наночастиц (d), полидисперсность системы (PDI) и дзета-потенциал (поверхностный заряд) липосом (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика «пустых» БОЛВ различного липидного состава

Липидный состав БОЛВ	Гидродинамический диаметр БОЛВ, нм	Полидисперсность системы	Дзета-потенциал БОЛВ
ФХ	151,2±42,3	0,142	-1,52±0,8
ФК	135,5±33	0,127	-36,4±2,5
ФГ	96±18,9	0,130	-27,7±1,5
КЛ	124±24,2	0,102	-43,3±3,1
ФХ/ФК (1:1)	145,5±33	0,130	-20,5±2,6
ФХ/ФГ (1:1)	126,4±30	0,133	-18,3±2,4
ФХ/КЛ (1:1)	130,6±35	0,125	-22,8±2,5

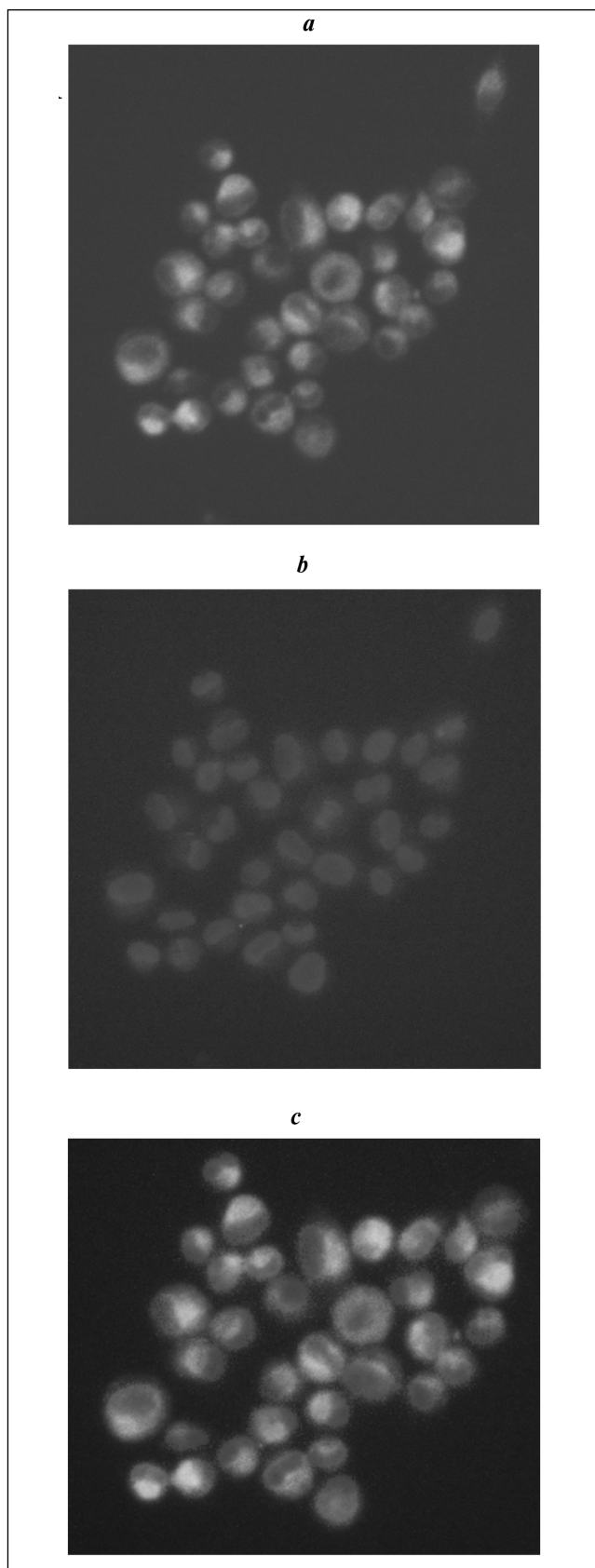


Рис. 1. Проникновение БОЛВ состава ФХ:NBD-РС в культуру клеток A549.

a — клетки, содержащие БОЛВ-ФХ:NBD-РС; *b* — клетки, окрашенные NucBlue; *c* — наложение изображений с разным окрашиванием.

Анализ табл. 1, показывает, что все исследуемые БОЛВ представляют собой системы гомогенных наночастиц размером менее 200 нм, имеющие отрицательный заряд, не превышающий величины 46 мВ.

Проникновение липосом в культуры клеток A549 и J774 (для последних результаты аналогичны и не представлены) и их локализацию определяли методом флуоресцентной микроскопии. Для этого были использованы БОЛВ, состоящие из ФХ и его флуоресцентномеченого аналога: 1-олеоил-2-[12-[(7-нитро-2-1,3-бензоксидиазол-4-ил)амино] додеcanoил]-sn-глицеро-3-фосфохолина (NBD-PC). При этом, наиболее контрастные изображения получались при соотношении ФХ:NBD-PC — 19:1 (рис. 2, *a*). Из рис. 2, *a* следует, что БОЛВ эффективно проникает в клетки, а применение красителя NucBlue, связывающегося с ядерной ДНК (рис. 2, *b*), позволило выявить локализацию БОЛВ в цитоплазме (рис. 2, *c*).

Существенной характеристикой соединений, применяемых в терапии, является их цитотоксичность. Комплекс БОЛВ с НЗ мог существенно влиять на увеличение цитотоксичности как аналога нуклеозида, за счёт увеличения биодоступности, так и липосом, за счёт изменения ряда характеристик последних. Цитотоксичность синтезированных соединений определяли на культурах клеток A549 и J774. Поскольку растворимость исследованных нами производных 2'-дезоксинуридина в воде составляет не более 1 мкг/мл, при проведении МТТ-теста и определении их активности на ряде патогенов были использованы растворы соединений в ДМСО. Значение $ЦД_{50}$ составило ≥ 100 мкг/мл, что соответствует $ЦД_{50}$, описанным в литературе соединениям, проявляющих антибактериальную активность [28].

Цитотоксичность БОЛВ из ФХ и БОЛВ смешанного состава также оценивали на культурах клеток A549 и J774. БОЛВ из ФХ:ФЛ получали в четырёх различных соотношениях 2:1, 1:1, 1:2, 1:4 (табл. 2).

БОЛВ-ФХ в концентрациях 50–70 мкг/мл проявляли пролиферативный эффект, что подтверждает литературные данные и результаты, полученные нами на предварительном этапе работы. При соотношении ФХ:ОЗФ — 4:1, 2:1 и 1:1 также наблюдался пролиферативный эффект в диапазоне 70–300 мкг/мл концентраций, что видимо обусловлено высокой концентрацией ФХ (данные не приводятся).

Увеличение количества включённого отрицательно-заряженного фосфолипида хотя и приводило к возрастанию цитотоксичности, однако позволяло купировать пролиферацию клеток. Наиболее явно эта зависимость проявилась для

Таблица 2. Значения CD_{50} для трёх серий БОЛВ, включающих фосфатидилхолин (ФХ) и отрицательно-заряженные фосфолипиды (ОЗФ)

Культура клеток	ФХ:ФГ,		ФХ:ФК,		ФХ:КЛ,			ФХ	
	CD_{50} *, мкг/мл		CD_{50} *, мкг/мл		CD_{50} *, мкг/мл			CD_{50} *, мкг/мл	П/эф**
	1:1	1:2	1:1	1:2	1:1	1:2	1:4		
A549	800	800	450	300	600	300	250	>400	30—60
J774	1000	1000	1000	450	1000	70	Н.о	>600	50—320

Примечание. * — CD_{50} — доза препарата, подавляющая рост неинфицированной культуры клеток на 50%; ** — пролиферативный эффект (концентрации БОЛВ из ФХ, при которых наблюдается пролиферация клеток).

Таблица 3. Определение антибактериальной активности в отношении БОЛВ из ФХ:КЛ** на основе отрицательно-заряженных фосфолипидов на *M.smegmatis*, *E.coli* и *P.aeruginosa*

Тест-микроорганизмы	Контроль *	БОЛВ из ФХ:КЛ**, мкг/мл		
		250	500	750
<i>M.smegmatis</i> ВКПМ Ас 1339	+	++	+++	+++
<i>E.coli</i> ATCC 25922	+	+++	+++	+++
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	+++	+++	+++	+++

Примечание. * — по 0,9 мл зараженной среды; ** — исходная концентрация БОЛВ в физиологическом растворе — 10 мг/мл.

Таблица 4. Характеристика полученных липосомальных форм НЗ

Состав ЛС (липид:нуклеозид)	Масса ФХ, мг	Масса НЗ, мг	Масса НЗ в ЛС, мг	Степень включения, %	Загрузка НЗ, %
ФХ:1 (n=12)	20	1	0,94±0,03	94±3	4,7±0,2
	20	4		препарат не формируется*	
	40	4		препарат не формируется**	
	80	4	3,68	92	4,6
ФХ:2 (n=10; n=12)	20	1	0,78	78	3,9
	30	1	0,88	88	2,9
	80	4	3,6	90	4,5

Примечание. * — НЗ не растворяется; ** — НЗ выпадает в осадок.

БОЛВ из ФХ:КЛ. Поскольку, как указывалось выше, ранее была показана анти-микобактериальная активность липосом на основе ОЗФ, в частности, кардиолипина [18], мы применили его для создания комплекса БОЛВ с НЗ.

Для изучения эффекта включения кардиолипина в состав БОЛВ мы определили активность БОЛВ из ФХ:КЛ состава 4:1 на двух различных бактериях — *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* и на непатогенном представителе микобактерий — штамме *Mycobacterium smegmatis*, часто используемым в качестве модели при поиске антитуберкулёзных препаратов (табл. 3).

Показано, что БОЛВ (ФХ:КЛ) такого состава не подавляли рост испытанных микроорганизмов. Кроме того, рост *M.smegmatis* ВКПМ Ас 1339 и *E.coli* ATCC 25922 на средах со всеми тремя липосомами был эффективнее, по сравнению с контролем, что согласуется с пролиферативным эффектом, показанным на культурах клеток. Более того, на *M.smegmatis* наблюдалась зависимость доза — активность роста.

Вследствие полученных данных по токсичности и активности как липосом, так и производных 2'-дезоксисуридина при изучении эффективности БОЛВ, содержащих аналоги

нуклеозидов, мы использовали ФХ и КЛ в соотношениях 1:1, 1:2 и 1:4, в концентрациях выше 30 мкг/мл.

Исходя из данных по активности и цитотоксичности нуклеозидов 1 и 2, их содержание в исходном комплексе должно было составлять не менее 1 мг/мл. Нашей задачей было определить концентрацию липида, позволяющего добиться оптимального включения вещества в БОЛВ (табл. 4).

Размер липосом, определённый методом динамического светорассеивания, составлял 200—235 нм. Из табл. 3 видно, что рассмотренные 5-модифицированные производные 2'-дезоксисуридина хорошо включаются в БОЛВ из ФХ (степень включения находится в интервале от 78 до 97 %), причём оптимальное массовое соотношение липиды:НЗ составляет 20:1. При соотношениях липиды:НЗ (5:1 или 10:1 по массе) препарат НЗ на стадии получения водной дисперсии мультиламеллярных везикул не формировался. Часть НЗ не сольбилизировалась и оставалась в осадке.

При получении липосом на основе ФХ и КЛ в соотношении 2:1; 1:1; 1:2 и 1:4 по массе концентрация нуклеозида составляла 1 мг/мл, а количест-

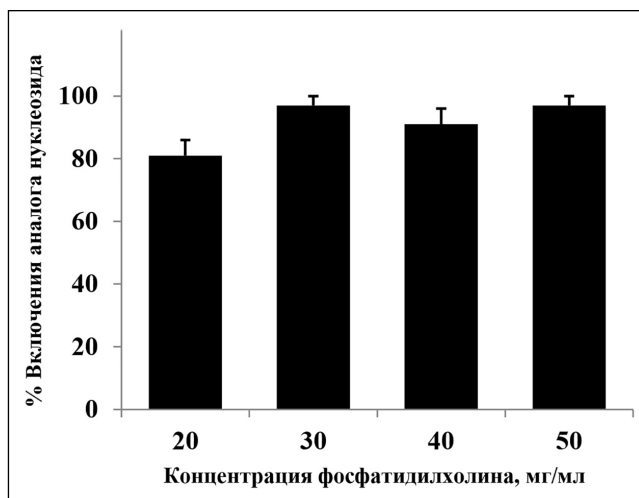


Рис. 3. Эффективности включения производных 2'-дезоксинуридина в БОЛВ при соотношении ФХ:КЛ 2:1.

во липида варьировали для того, чтобы добиться максимального включения вещества в липосомы (полученные данные представлены на рис. 3).

Результаты эксперимента показали, что во всех исследованных вариантах, оптимальным по эффективности включения модифицированного нуклеозида в липосомы было соотношение ФЛ:НЗ 20:1. При этом увеличение доли отрицательно заряженных фосфолипидов не приводило к существенному увеличению включения модифицированных нуклеозидов в липосомы.

Цитотоксичность синтезированных комплексов оценивали методом МТТ-теста на культурах клеток А549. Включение слабо растворимых аналогов нуклеозидов в состав липосомальных комплексов увеличивало степень их проникновения и накопления в культурах клеток, что приводило к уменьшению цитотоксической дозы как фосфолипида, так и аналога нуклеозида. Для комплекса, содержащего ФХ:КЛ в соотношении 1:1 с включённым аналогом нуклеозида, значение CD_{50} достигалось при концентрации ФХ:КЛ 500

мкг/мл и содержании НЗ 25 мкг/мл. Увеличение уровня кардиолипина в БОЛВ до 1:2 и 1:4 приводило к увеличению цитотоксичности до концентраций 250 мкг/мл ФХ:КЛ: 12,5 мкг/мл НЗ и 200 мкг/мл ФХ:КЛ: 10 мкг/мл НЗ, соответственно.

Изучение антибактериальной активности полученных липосомальных комплексов, содержащих производные 2'-дезоксинуридина, проведённое на различных тест-штаммах бактерий (*E.coli*, *P.aeruginosa* и *M.smegmatis*) практически соответствовало данным, приведённым в табл. 3, что показывает отсутствие ингибирующего действия липосомальных комплексов на данные бактерии.

Заключение

Таким образом, созданы комплексы различного состава фосфохолин—кардиолипид—производные 2'-дезоксинуридина, что позволило получить водорастворимую форму аналога нуклеозида. Показано, что образованные липосомы эффективно проникают в клетки, а возрастание цитотоксичности свидетельствует об увеличении накопления нуклеозида в клетках. Этот результат подтверждает возможность применения липосомальных форм для доставки малорастворимых соединений в культуры клеток для дальнейшего изучения их эффективности. Однако введение в бактериальные клетки модифицированных нуклеозидов с установленной противотуберкулёзной активностью в липосомальной форме никак не влияло на рост последних. Возможным объяснением этого явления может быть наличие двух противоположных эффектов — ингибирования роста нуклеозидами и стимуляция роста фосфолипидами. Наложение этих факторов может приводить к кажущемуся отсутствию влияния нуклеозидов на рост клеток.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №15-04-05116 и №14-04 00755.

ЛИТЕРАТУРА

- Couvin D., Rastogi N. Tuberculosis — A global emergency: tools and methods to monitor, understand, and control the epidemic with specific example of the *Beijing lineage*. Tuberculosis (Edinb). 2015; 95: Suppl 1: S177—189.
- TBDRUGS (Database of Drugs for Tuberculosis, version 1.0). Available from URL: http://bic.icmr.org.in/tbdrugs/tb_browse_name.php
- Greco E., Santucci M.B., Sali M., De Angelis F.R., Papi M., De Spirito M., Delogu G., Colizzi V., Fraziano M. Natural lysophospholipids reduce *Mycobacterium tuberculosis*-induced cytotoxicity and induce antimycobacterial activity by a phagolysosome maturation-dependent mechanism in A549 type II alveolar epithelial cells. Immunology 2010; 129: 125—132.
- Greco E., Quintiliani G., Santucci M.B., Serafino A., Ciccaglione A.R., Marcantonio C., Papi M., Maulucci G., Delogu G., Martino A., Goletti D., Sarmati L., Andreoni M., Altieri A., Alma M., Caccamo N., Di Liberto D., De Spirito M., Savage N.D., Nisini R., Dieli F., Ottenhoff T.H., Fraziano M. Janus-faced liposomes enhance antimicrobial innate immune response in *Mycobacterium tuberculosis* infection PNAS 2012; 109: 21: E1360—1368.
- Delogu G., Sali M., Rocca S., Quintiliani G., Santucci M.B., Greco E., Cabibbo A., Mariani F., Colizzi V., Fadda G., Fraziano M. Lysophosphatidic acid enhances antimycobacterial response during *in vivo* primary *Mycobacterium tuberculosis* infection. Cell Immunol 2011; 271: 1—4.
- Misra A., Hickey A.J., Rossi C., Borchard G., Terada H., Makino K., Fourie P.B., Colombo P. Inhaled drug therapy for treatment of tuberculosis. Tuberculosis (Edinb). 2011; 91: 1: 71—81.
- Pandey R., Khuller G.K. Antitubercular inhaled therapy: opportunities, progress and challenges. J Antimicrob Chemother. 2005; 55: 4: 430—435.
- Khuller G.K., Kapur M., Sharma S. Liposome technology for drug delivery against mycobacterial infections. Curr Pharm Des 2004; 10: 26: 3263—3274.
- Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Oral solid lipid nanoparticle-based antitubercular chemotherapy. Tuberculosis (Edinb) 2005; 85: 5—6: 415—420.
- Vyas S.P., Kannan M.E., Jain S., Mishra V., Singh P. Design of liposomal aerosols for improved delivery of rifampicin to alveolar macrophages. Int J Pharm 2004; 269: 1: 37—49.
- Курунов Ю.Н., Каледин В.И., Попова Н.А., Пантелеева А.Г. Эффективность липосомальной формы рифампицина при лечении экспериментального туберкулёза мышей. Проблемы туберкулёза. 1992; 1—2: 13—15. / Kurunov Ju.N., Kaledin V.I., Popova N.A., Panteleeva A.G. Jefferktivnost' liposomal'noj formy rifampicina pri lechenii jeksperimentalnogo tuberkulёza myšej.

- tal'nogo tuberkuljoza myshej. Problemy tuberkuljoza. 1992; 1—2: 13—15. [in Russian]
12. Гуревич Г.Л., Березовская Л.Н., Мануйлов К.К. Особенности фармакокинетики рифампицина, включенного в липосомы, у крыс при интритрахеальном введении Антибиотики и химиотер 1992; 37; 7: 25—28. / Gurevich G.L., Berezovskaja L.N., Manujlov K.K. Osobennosti farmakokinetiki rifampicina, vkluchennogo v liposomy, u krys pri vnuritraheal'nom vvedenii Antibiotiki i khimioter 1992; 37; 7: 25—28.
 13. Labana S., Pandey R., Sharma S., Khuller G.K. Chemotherapeutic activity against murine tuberculosis of once weekly administered drugs (isoniazid and rifampicin) encapsulated in liposomes. Int J Antimicrob Agents 2002; 20: 4: 301—304.
 14. Gaspar M. M., Neves S., Portaels F., Pedrosa J., Silva M. T., Cruz M. E. Therapeutic efficacy of liposomal rifabutin in a *Mycobacterium avium* model of infection. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 9: 2424—2430.
 15. De Clercq E. Human viral diseases: what is next for antiviral drug discovery? Curr Opin Virol 2012; 2: 572—579.
 16. Шмаленюк Э. Р., Кочетков С. Н., Александрова Л. А. Новые ингибиторы роста *M. tuberculosis* на основе модифицированных пиримидиновых нуклеозидов и их аналогов. Успехи химии 2013; 82: 896—915. / Shmalenyuk Je. R., Kochetkov S. N., Aleksandrova L. A. Novye inhibitory rosta *M. tuberculosis* na osnove modifitsirovannyh pirimidinovyh nukleozidov i ih analogov. Uspehi himii 2013; 82: 896—915. [in Russian]
 17. Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Жогина Ю.А., Смирнова И., Муклович Ю.Л., Сорокоумова Г.М., Черноусова Л.Н., Селищева А.А., Швеи В.И. Влияние экзогенного кардиопипина на рост и жизнеспособность *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro. Доклады Академии наук 2010; 434: 5: 705—708. / Andreevskaja S.N., Smirnova T.G., Zhogina Ju.A., Smirnova T.G., Mikulovich Ju.L., Sorokoumova G.M., Chernousova L.N., Selishheva A.A., Shvec V.I. Vlijanie jekzogenogo kardiopipina na rost i zhiznesposobnost' *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro. Doklady Akademii nauk 2010; 434: 5: 705—708. [in Russian]
 18. Sosunov V., Mischenko V., Eruslanov B., Svetoch E., Shakina Y., Stern N., Majorov K., Sorokoumova G., Selisheva A., Apt A. Activity of bacteriocins and their complexes with liposomes. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 5: 919—925.
 19. Иванов М.А., Карпенко И.Л., Черноусова Л. Н., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Александрова Л.А. Синтез и биологические свойства 5'-арилфосфонатов α -тимидина. Биоорган. химия 2013; 39: 6: 718—727. / Ivanov M.A., Karpenko I.L., Chernousova L. N., Andreevskaja S.N., Smirnova T.G., Aleksandrova L.A. Sintez i biologicheskie svojstva 5'-arilfosfonatov α -timidina. Bioorgan. Himija 2013; 39: 6: 718—727. [in Russian]
 20. Шмаленюк Э.Р., Карпенко И.Л., Черноусова Л.Н., Чижов А.О., Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Александрова Л.А. Новые 5-модифицированные производные 2'-дезоксигуанидина: синтез и противотуберкулезная активность. Известия Академии наук. Серия химическая. 2014; 5: 1197—1200. / Shmalenyuk Je.R., Karpenko I.L., Chernousova L.N., Chizhov A.O., Smirnova T.G., Andreevskaja S.N., Aleksandrova L.A. Novye 5-modifitsirovannye proizvodnye 2'-dezoksiuridina: sintez i protivotuberkuleznaja aktivnost'. Izvestija Akademii nauk. Seriya himicheskaja. 2014; 5: 1197—1200. [in Russian]
 21. Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В., Молотковский Ю.Г. Препаративная химия липидов. Под ред. Л.Д. Бергельсон, Э.В. Дятловицкая. М.: Наука, 1981; 259. / Bergel'son L.D., Djatlovickaja Je.V., Molotkovskij Ju.G. Preparativnaja himija lipidov. Pod red. L.D. Bergel'son, Je.V. Djatlovickaja. M.: Nauka, 1981; 259. [in Russian]
 22. Niks M, Otto M. Towards an optimized MTT assay. J Immunol Methods. 1990; 130: 1: 149—151.
 23. Маланичева И.А., Козлов Д.Г., Сумарукова И.Г., Ефременкова О.В., Зенкова В.А., Катруха Г.С., Резникова М.И., Тарасова О.Д., Синеокий С.П., Эль-Пеустан Г.И. Антимикробная активность представителей вида *Bacillus megaterium*. Микробиология 2012; 81: 2: 196—204. / Malanicheva I.A., Kozlov D.G., Sumarukova I.G., Efremenkova O.V., Zenkova V.A., Katruha G.S., Reznikova M.I., Tarasova O.D., Sineokij S.P., Jel'-Registan G.I. Antimikrobnaja aktivnost' predstavitelej vida *Bacillus megaterium*. Mikrobiologija 2012; 81: 2: 196—204. [in Russian]
 24. Shmalenyuk E.R., Chernousova L.N., Karpenko I.L., Kochetkov S.N., Smirnova T.G., Andreevskaja S.N., Efremenkova O.V., Alexandrova L.A. Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* strains H37Rv and MDR MS-115 by a new set of C5 modified pyrimidine nucleosides. Bioorg. Med. Chem. 2013; 21: 4874—4884.
 25. Александрова Л.А., Шмаленюк Э.Р., Кочетков С.Н., Ерохин В.В., Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Черноусова Л.Н. Новые 5 модифицированные пиримидиновые нуклеозиды — ингибиторы роста микобактерий. Acta Naturae 2010; 3: 89—92. / Aleksandrova L.A., Shmalenyuk Je.R., Kochetkov S.N., Erohin V.V., Smirnova T.G., Andreevskaja S.N., Chernousova L.N. Novye 5 modifitsirovannye pirimidinovyie nukleozidy — inhibitory rosta mikobakterij. Acta Naturae 2010; 3: 89—92. [in Russian]
 26. Matyugina E., Khandazhinskaya A., Chernousova L., Andreevskaja S., Smirnova T., Chizhov A., Karpenko I., Kochetkov S., Alexandrova L. The synthesis and antituberculosis activity of 5'-nor carbocyclic uracil derivatives. Bioorg Med Chem 2012; 20: 6680—6686.
 27. Александрова Л.А., Ефременкова О.В., Андреевская С.Н., Галегов Г.А., Сольев П.Н., Карпенко И.Л., Кочетков С.Н. (4-алкил-1,2,3-триазол-1-ил)метильные производные 2'-дезоксигуанидина — ингибиторы роста бактерий и вирусов. Биоорган. химия 2016; 42: 6: 746—754. / Aleksandrova L.A., Efremenkova O.V., Andronova V.L., Galegov G.A., Sol'ev P.N., Karpenko I.L., Kochetkov S.N. (4-alkil-1,2,3-triazol-1-il)metil'nye proizvodnye 2'-dezoksiuridina — inhibitory rosta bakterij i virusov. Bioorgan. Himija 2016; 42: 6: 746—754. [in Russian]
 28. Rai D., Johar M., Manning T., Agrawal B., Kunimoto D.Y., Kumar R. Design and studies of novel 5-substituted alkylpyrimidine nucleosides as potent inhibitors of mycobacteria. J med Chem. 2005; 48: 22: 7012—1017.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Карпенко И.Л. — с.н.с. ФГБНУ «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН», Москва

Сорокоумова Г.М. — к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и бионанотехнологии ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова», Москва

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

Гайдукевич С.К. — студент магистратуры ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова» Москва

Зарецкая М.А. — студент магистратуры ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова» Москва

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

Александрова Л.А. — с.н.с. ФГБНУ «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН», Москва

Противоопухолевые и антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов из мицелия базидиального гриба *Flammulina velutipes*

Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ^{1*}, М. И. ШУКТУЕВА¹, А. В. АВТОНОМОВА¹,
М. С. ЯРИНА¹, Б. Р. ДЖАВАХЯН¹, Е. Б. ИСАКОВА¹, В. М. БУХМАН^{1,2}

¹ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва

² Российский онкологический научный центр. им. Н. Н. Блохина МЗ РФ, Москва

Antitumor and Antioxidant Properties of Water-Soluble Polysaccharides from Submerged Mycelium of *Flammulina velutipes*

L. M. KRASNOPOLSKAYA^{1*}, M. I. SHUKTUEVA¹, A. V. AVTONOMOVA¹, M. S. YARINA¹,
B. R. DZHAVAKHYAN¹, E. B. ISAKOVA¹, V. M. BUKHMAN^{1,2}

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

N. N. Blokhin Russian Scientific Cancer Centre, Moscow

Цель исследования состояла в получении водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *Flammulina velutipes*, выращенного в оптимизированных условиях, и оценке их противоопухолевых и антиоксидантных свойств. Оптимизация состава жидкой питательной среды, осуществленная методами математического планирования, позволила более чем в 2 раза увеличить выход биомассы (до 35 г/л) и сократить длительность процесса культивирования. Погруженный мицелий наиболее перспективного штамма *F. velutipes* Fv-1, полученный на оптимизированной среде, содержал 14,8% водорастворимых полисахаридов, включавших остатки глюкозы, галактозы, фукозы, маннозы, ксилозы, рамнозы, 31,6% белков, содержащих все незаменимые аминокислоты за исключением триптофана, 2,5% общих липидов, витамины группы В (В₁, В₅, В₆). В опытах *in vivo* на модели перевиваемого мышинного лимфолейкоза Р 388 противоопухолевую активность продемонстрировали порошок погруженной биомассы гриба, водный экстракт мицелия и суммарная фракция водорастворимых полисахаридов. За противоопухолевую активность отвечали, прежде всего, полисахариды гриба, поскольку по мере их очистки повышались показатели торможения роста опухоли протестированных препаратов. Максимальное торможение роста опухоли, вызываемое водорастворимыми полисахаридами, составило 94%. Суммарная фракция водорастворимых полисахаридов *F. velutipes* штамм Fv-1 обладала антиоксидантной активностью. Антиоксидантная емкость (АОЕ) суммарной фракции этого препарата была выше таковой водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *Grifola frondosa*, но уступала АОЕ водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *Ganoderma lucidum*.

Ключевые слова: *Flammulina velutipes*, погруженное культивирование, оптимизация состава среды, мицелий, водорастворимые полисахариды, противоопухолевая активность, антиоксидантная активность.

The aim of the study was to evaluate antitumor and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from submerged mycelium of *Flammulina velutipes* grown under optimized conditions. The optimization of the nutrient medium composition allowed to increase the biomass yield by more than 2 times (up to 35 g/l) and to reduce the time of the cultivation process. The submerged mycelium of *F. velutipes* strain Fv-1 contained 14.8% of a water-soluble polysaccharides, 31.6% of proteins, 2.5% of total lipids, vitamins B (B₁, B₅, B₆). The polysaccharides contained glucose, galactose, fucose, mannose, xylose, rhamnose. The proteins contained all the essential amino acids except for tryptophan. Dry powder of the submerged mycelium, water extract of the mycelium and total fraction of the water-soluble polysaccharides demonstrated the antitumor activity against murine lymphocytic leukemia P 388 *in vivo*. The antitumor activity of the substances was mainly due to the polysaccharides, since their purification increased the tumor growth inhibition. The maximum tumor growth inhibition by the water-soluble polysaccharides amounted to 94%. The total fraction of the water-soluble polysaccharides from *F. velutipes* strain Fv-1 demonstrated antioxidant activity. The antioxidant capacity (AOC) of the water-soluble fraction from *F. velutipes* was higher than that of the water-soluble polysaccharides from the submerged mycelium of *Grifola frondosa*, but inferior to the AOC of the water-soluble polysaccharides from the submerged mycelium of *Ganoderma lucidum*.

Key words: *Flammulina velutipes*, submerged cultivation, optimization of medium composition, mycelium, water-soluble polysaccharides, antitumor activity, antioxidant activity.

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д.11. НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе. * Email: lmkrasnopolaska@gmail.com

Введение

Полисахариды базидиальных грибов известны своей высокой и многосторонней биологической активностью. В частности, полисахариды лекарственно-съедобного базидиального гриба опёнка зимнего *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer обладают иммуномодулирующими, противоопухолевыми, антиоксидантными и антитоксическими свойствами, препятствуют адгезии патогенных грибов на эпителиальных клетках, оказывают положительное воздействие на когнитивные функции и др. [1–7]. Биологически активные полисахариды *F. velutipes* различаются по своей структуре и физико-химическим свойствам, в том числе по составу моносахаридов, типу гликозидной связи, молекулярной массе, наличию тройной спиральной структуры, способности растворяться в воде или в щёлочи [1–3, 5, 8, 9]. Источником биологически активных полисахаридов служат плодовые тела гриба, его мицелий, выращенный в условиях погруженной культуры, и культуральная жидкость [5, 9, 10]. Оптимизация условий погруженного культивирования позволяет резко увеличить выход биомассы продуцента и, как следствие, эндополисахаридов, а также в ряде случаев сокращать длительность процесса выращивания. Использование разработанной ранее стратегии оптимизации [11] показало, что штаммы *F. velutipes*, так же как и лекарственного базидиального гриба *Hypsizygus ulmarius* (Bull.) Redhead [12], представляют собой высокопродуктивные культуры. Выход их воздушно-сухой биомассы в результате оптимизации условий погруженного культивирования существенно превышает 30 г/л.

Цель настоящего исследования заключалась в получении препарата водорастворимых полисахаридов *F. velutipes* и оценке его противоопухолевых и антиоксидантных свойств.

Материал и методы

В работе использовали два штамма *F. velutipes* — Fv-1 и Fv-4, а также *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. штамм Gl-5-1 и *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray штамм Gf-1 из коллекции лаборатории биосинтеза биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА». В качестве плотной питательной среды для культивирования использовали картофельно-глюкозный агар. Погруженное культивирование осуществляли в колбах на качалке по описанному способу [13, 14]. По окончании культивирования мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через бязь, сушили при 40°C и измельчали на лабораторной мельнице. Содержание влаги в воздушно-сухом мицелии составляло 5–6%.

Оптимизацию состава жидкой питательной среды проводили с применением методов математического планирования [15].

Водный экстракт порошка мицелия получали автоклавированием (1,2 атм., 2 ч) навески мицелия (36 г/л) в дистиллированной воде. Готовый экстракт хранили при -20°C. Суммарную фракцию водорастворимых полисахаридов погруженного мицелия получали путём добавления в водный экстракт 4 объёмов 96% этанола. Осадок отделяли центрифугированием при 3000 об/мин в течение 20 мин. Затем осадок

растворяли в небольшом количестве воды, раствор фильтровали и лиофилизировали.

Содержание углеводов в водных экстрактах мицелия определяли с использованием фенол-сернокислотного метода [16].

Определение моносахаридного состава. Для определения состава нейтральных моносахаридов выделенной суммарной полисахаридной фракции, образцы подвергали полному гидролизу действием 2М трифторуксусной кислоты в присутствии мио-инозита в качестве маркера, в течение 8 ч при 100°C. Полученные моносахариды переводили в ацетаты полиолов, которые идентифицировали и определяли их соотношение с применением газожидкостной хроматографии на хроматографе HP 5890А.

Определение аминокислотного состава проводили по методу, заключающемуся в гидролизе образца до аминокислот и последующем количественном определении образовавшихся аминокислот с помощью аминокислотного анализатора Биотроник LC-7000 [17].

Определение витаминов В₁, В₅ и В₆ проводили методом ВЭЖХ в обращеннофазовом ион-парном варианте в изократическом режиме со спектрофлуорометрическим детектированием (интервал длин волн 220–650 нм) [17].

Определение общего содержания жиров проводили экстракционным методом с предварительным гидролизом навески [17].

Изучение противоопухолевого действия препаратов проводили *in vivo* на модели перевиваемого мышино-лимфолейкоза Р388. Мышей В6D2F1 получали из питомника РАМН «Крюково» и выдерживали 21 день в карантине. Контрольные и экспериментальные группы комплектовали по 8–10 животных. Инокуляция опухолевых клеток проводили в день «0» подкожно, в количестве 10⁶ клеток/мышь. Испытуемые препараты вводили ежедневно, начиная с 3 суток опыта, длительность курса лечения составляла 10 сут. Препараты вводили с помощью зонда внутрижелудочно. Использовали суспензию порошка погруженного мицелия в крахмальном клейстере, водный экстракт погруженного мицелия и водный раствор водорастворимых полисахаридов в концентрации 2 мг/кг [14]. В течение экспериментов контролировали рост опухоли. Торможение роста опухоли (ТРО) рассчитывали по формуле: $\text{ТРО (\%)} = (M_k - M_o) / (M_k) \times 100$, где M_k и M_o — средняя расчётная масса опухоли (РМО) в контроле и опыте, соответственно. Массу опухоли рассчитывали по формуле $\text{РМО (мг)} = (a \times b \times c) / 2$, где РМО — расчётная масса опухоли, а, b, c — 3 наибольших взаимоперпендикулярных диаметра опухолевого узла в мм. Достоверность различий средних значений массы опухоли определяли по *t*-критерию Стьюдента. За достоверные принимали различия при $p \leq 0,05$.

Антиоксидантные свойства полисахаридов определяли кулонометрическим методом с помощью электрогенерированного брома на анализаторе «Эксперт-006» НПК ООО «Эконикс-Эксперт». Прибор калибровали по стандартным растворам аскорбиновой кислоты. Суммарную антиоксидантную емкость (АОЕ) вычисляли по [18] в пересчете на аскорбиновую кислоту, рутин и кверцетин.

Результаты и обсуждение

Для установления трофических потребностей штаммов Fv-1 и Fv-4 провели сравнительное изучение сочетаний трёх источников углерода (глюкоза, масло растительное и меласса) и четырёх источников азота (соевая мука, пептон, дрожжевой экстракт и кукурузный экстракт). Наибольший выход биомассы обоих штаммов обеспечивала жидкая питательная среда, содержащая масло растительное и соевую муку. Оптимизация состава этой среды была осуществлена методами математичес-

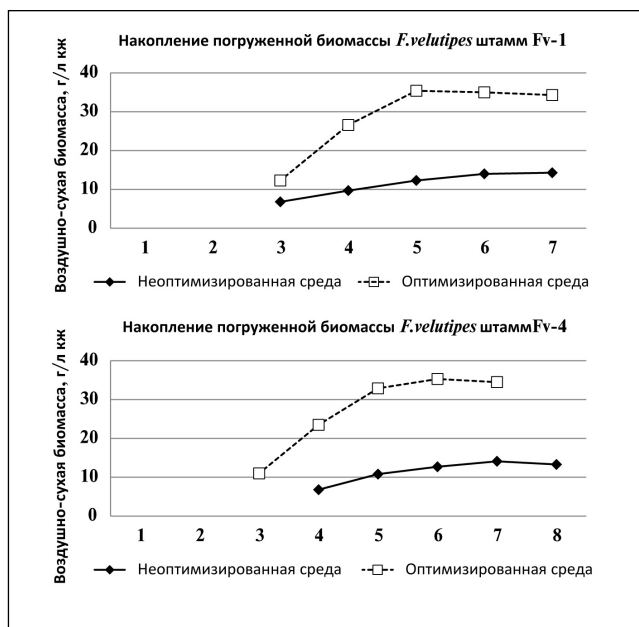


Рис. 1. Накопление биомассы штаммов *F. velutipes* Fv-1 и Fv-4 в процессе погруженного культивирования.

кого планирования эксперимента. Опыт по плану полного факторного эксперимента выявил необходимость увеличения содержания источников углерода и азота, опыт по методу крутого восхождения установил их оптимальные концентрации для каждого из штаммов. Изучение процесса накопления биомассы на исходной и разработанных жидких питательных средах показало, что оптимизация среды привела к более чем двукратному увеличению выхода биомассы штаммов и сокращению длительности процесса (рис. 1). Показатели максимального выхода биомассы исследованных штаммов были практически одинаковыми: $35,4 \pm 1,0$ г/л — у штамма Fv-1 и $35,3 \pm 0,55$ г/л — у штамма Fv-4. Однако штамм Fv-1 обеспечивал достижение максимального показателя содержания биомассы на сутки раньше и требовал для этого меньшего расхода источников углерода и азота. Учитывая, что противоопухолевая активность водных экстрактов погруженной биомассы обоих штаммов, оцененная в предварительных опытах, была близка, дальнейшая работа была проведена со штаммом Fv-1.

Погруженный мицелий штамма Fv-1, полученный в оптимизированных условиях культивирования, содержал 15,4% водорастворимых полисахаридов. В состав водорастворимых полисахаридов, по данным ГЖХ, входили остатки глюкозы, галактозы, фукозы, маннозы, ксилозы и рамнозы (табл. 1). Основными моносахаридами являлись глюкоза и галактоза. Об общем содержании белка в мицелии судили по сумме аминокислот, составившей 31,6%. В мицелии *F. velutipes* штамм Fv-1 было обнаружено 17 аминокислот, в том числе все незаменимые аминокислоты за исключением триптофа-

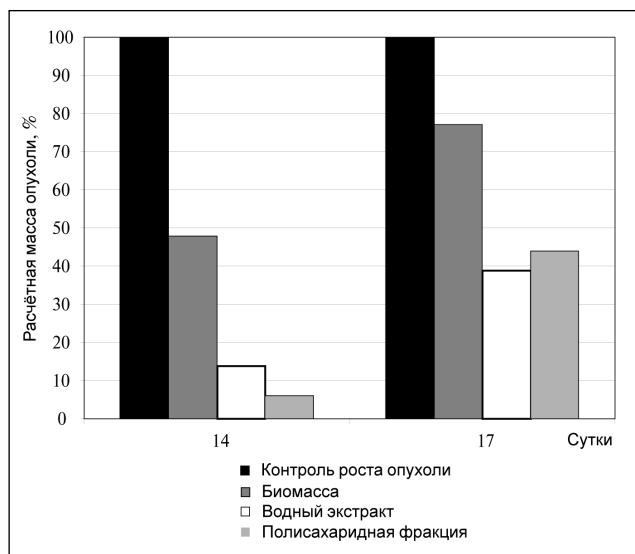


Рис. 2. Расчётная масса опухоли в контрольной и опытных группах животных при внутрижелудочном введении препаратов из погруженного мицелия *F. velutipes* штамм Fv-1, %. Модель — перевиваемый мышинный лимфолейкоз Р 388.

на. Больше всего в погруженной биомассе содержалось глутаминовой кислоты (14,7%), пролина (9,4%), аспарагиновой кислоты (9,0%) и лизина (8,8%). Суммарное количество липидов, выделенных из биомассы *F. velutipes* штамм Fv-1, составило 2,5%. Количественное определение витаминов B_1 , B_5 (PP) и B_6 показало, что в погруженной биомассе *F. velutipes* штамм Fv-1 наиболее высоко было содержание витамина PP — 266 мг/100 г биомассы. Количество витамина B_1 составило 3,2 мг/100 г биомассы, B_6 — 7,9 мг/100 г.

На основе погруженной биомассы *F. velutipes* штамм Fv-1 были получены препараты для изучения противоопухолевого действия метаболитов продуцента: порошок погруженной биомассы, водный экстракт погруженной биомассы и суммарная фракция водорастворимых полисахаридов мицелия. Опыты проводили *in vivo* на модели солидного перевиваемого мышинного лимфолейкоза Р 388. Препараты вводили внутрижелудочно в течение 10 дней. Все изученные препараты показали противоопухолевое действие, выраженное в торможении роста опухоли. Наибольшие показатели противоопухолевого действия изучаемых препаратов были отмечены на 14-е сутки опыта, т.е. на вторые сутки после окончания лечения. При введении животным порошка биомассы максимальное значение ТРО составило 52%, при введении водного экстракта биомассы — 86%, при введении суммарной полисахаридной фракции — 94%. Далее к 18 суткам опыта противоопухолевый эффект препаратов уменьшался (рис. 2). Увеличение показателей ТРО в ряду от биомассы к полисахаридной фракции говорит о том, что противоопухолевое действие

Таблица 1. Состав нейтральных моносахаридов в суммарной фракции водорастворимых полисахаридов из мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1

Моносахарид	Глюкоза	Галактоза	Фукоза	Манноза	Ксилоза	Рамноза
Содержание, %	8,8	8,9	4,4	4,1	2,5	1,6

Таблица 2. Антиоксидантная ёмкость суммарных фракций водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия базидиомицетов в пересчете на аскорбиновую кислоту, рутин и кверцетин в г/100 г образца ($n=4$, $p=0,95$)

Вид базидиомицета	АОЕ, г/100 г		
	В пересчёте на аскорбиновую кислоту	В пересчёте на рутин	В пересчёте на кверцетин
<i>Flammulina velutipes</i>	4,89±0,64	2,90±0,38	1,14±0,15
<i>Ganoderma lucidum</i>	5,14±1,14	3,06±0,68	1,21±0,27
<i>Grifola frondosa</i>	4,27±0,90	2,54±0,54	1,00±0,21

определяет водорастворимая полисахаридная составляющая мицелия. Известно, что противоопухолевое действие полисахаридов базидиальных грибов основано на их иммунномодуляторных свойствах. Ранее было показано, что испытуемая полисахаридная фракция мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1 индуцировала выработку интерферона лимфоцитами человека, при этом выявленный цитокин не являлся интерфероном γ [19].

Для определения антиоксидантных свойств использовали метод кулонометрического титрования с помощью электрогенерированного брома, АОЕ выражали в расчётном количестве аскорбиновой кислоты, рутина или кверцетина в г на 100 г испытуемого образца. Тестировали суммарную фракцию водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1. Для сравнения использовали аналогичные полисахаридные фракции лекарственных базидиомицетов *G.lucidum* и *G.frondosa*, выделенные из их погруженного мицелия. Полученные результаты (табл. 2) свидетельствовали о наличии антиоксидантной активности у всех изученных полисахаридных препаратов. Наибольшее значение АОЕ было отмечено у суммарной фракции водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *G.lucidum*, наименьшее — у водорастворимых полисахаридов из мицелия *G.frondosa*. Сравнение полученных результатов с данными литературы показывает, что АОЕ грибных водорастворимых полисахаридов сопоставимы по величине с АОЕ водных экстрактов растений. Так в пересчёте на рутин (г/ 100 г абсолютно сухой массы) АОЕ водного экстракта свежих плодов боярышника зеленомякотного составляет 1,24±0,11, АОЕ водного экстракта сушёных образцов сорта капусты Арктика — 13,13±0,40 [18].

Заключение

Проведенное исследование показало, что лекарственно-съедобный базидиальный гриб *F.velutipes* является биотехнологически перспективным продуцентом биологически активных полисахаридов, способным к интенсивному накоплению

биомассы в условиях погруженной культуры. Достигнутый выход погруженной биомассы изученных штаммов *F.velutipes* представляет собой один из лучших известных в литературе показателей и приближается к выходу погруженного мицелия *H.ulmarius*, составляющему 36—38 г/л культуральной жидкости. Суммарная фракция водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *H.ulmarius* также показала высокую противоопухолевую активность в опытах *in vivo* [12]. Результаты исследования подтвердили целесообразность применяемой стратегии оптимизации условий погруженного культивирования грибных организмов. Погруженный мицелий *F.velutipes* штамм Fv-1 представляет собой потенциальное сырьё для получения целого ряда биологически активных соединений. В этой связи он был охарактеризован по содержанию водорастворимых полисахаридов с установлением моносахаридного состава, по содержанию аминокислот, липидов и витаминов группы В. Изучение противоопухолевых свойств препаратов из погруженного мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1 показало, что искомой активностью обладали порошок погруженной биомассы, её водный экстракт, суммарная фракция водорастворимых полисахаридов мицелия. За противоопухолевую активность отвечали, прежде всего, полисахариды гриба, поскольку по мере их очистки повышались показатели торможения роста опухоли протестированных препаратов. Как известно, противоопухолевые свойства полисахаридов базируются, прежде всего, на активации клеточного и гуморального иммунитета. Ранее было показано, что исследуемая суммарная фракция водорастворимых полисахаридов из погруженного мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1 стимулировала выработку лейкоцитами крови человека интерферона, который не являлся интерфероном- γ [19]. Антиоксидантная ёмкость суммарной фракции водорастворимых полисахаридов из мицелия *F.velutipes* штамм Fv-1 была выше таковой

водорастворимых полисахаридов *G.fondosa*, но уступала АОЕ водорастворимых полисахаридов *G.lucidum*.

Таким образом, в результате проведения исследования с применением биотехнологических

методов была получена фракция водорастворимых полисахаридов из мицелия лекарственно-съедобного базидиомицета *F.velutipes*, обладающая выраженной противоопухолевой активностью, антиоксидантными и интерферогенными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wu M., Luob X., Xub Xi., Weib W., Yub M., Jiangb N., Yeb L., Yanga Z., Feic X. Antioxidant and immunomodulatory activities of a polysaccharide from *Flammulina velutipes*. *J Tradit Chin Med* 2014; 34: 6: 733—740.
2. Leung M.Y.K., Fung K.P., Choy Y.M. The isolation and characterization of an immunomodulatory and anti-tumor polysaccharides preparation from *Flammulina velutipes*. *Immunopharmacology* 1997; 35: 3: 255—263.
3. Yang W., Pei F., Zhao L., Hu Q. Purification, characterization and antiproliferation activity of polysaccharides from *Flammulina velutipes*. *Carbohydrate Polymers* 2012; 88: 2: 474—480.
4. Huang L., Chen M., Li S., Shah, Nagendra P. Antioxidant activities and bifidogenic properties of water-soluble crude polysaccharide preparations from *Flammulina velutipes* and *Hypsizygus marmoreus* mushrooms. *Intern J Probiotics & Prebiotics* 2015; 10: 1: 37—42.
5. Pang X., Yao W., Yang X., Xie C., Liu D., Zhang J., Gao X. Purification, characterization and biological activity on hepatocytes of polysaccharides from *Flammulina velutipes* mycelium. *Carbohydrate Polymers* 2007; 70: 3: 291—297.
6. Kashina S., Villavicencio L.L.F., Balleza M., Sabanero G.B., Tsutsumi V., Lopez M.S. Extract from *Flammulina velutipes* inhibits the adhesion of pathogenic fungi to epithelial cell. *Pharmacognosy Res* 2016; 8: 1: 56—60.
7. Yang W., Yu J., Zhao L., Ma N., fang Y., Pei F., Mariga A.M., Hu Q. Polysaccharides from *Flammulina velutipes* improve scopolamine-induced impairment of learning and memory of rats. *J Funct Foods* 2015; 18: A: 411—422.
8. Kashina S., Villavicencio L.L.F., Zaina S., Ordaz M.B., Sabanero G.B., Fujiyoshi V.T., Lopez M.S. Activity of extracts from submerged cultured mycelium of winter mushroom, *Flammulina velutipes* (Agaricomycetes), on the immune system *in vitro*. *Intern J Med Mushrooms* 2016; 18: 1: 49—57.
9. Jing P., Zhao S.-J., Lu M.-M., Cai Z., Pang J., Song L.-H. Multiple-fingerprint analysis for investigating quality control of *Flammulina velutipes* fruiting body polysaccharides. *J Agric Food Chem* 2014; 62: 50: 12128—12133.
10. Ma Z., Cui F., Gao X., Zhang J., Zheng L., Jia L. Purification, characterization, antioxidant activity and anti-aging of polysaccharides by *Flammulina velutipes* SF-06. *Antonie van Leeuwenhoek* 2015; 107: 1: 73—82.
11. Краснополянская Л.М., Белицкий И.В., Антимонова А.В., Соболева Н.Ю. Стратегия оптимизации способов культивирования лекарственных грибов. В сб.: Успехи медицинской микологии. Мат второго всероссийского конгресса по медицинской микологии. М.: 2004; III: 222—224. / *Krasnopol'skaja L.M., Belickij I.V., Antimonova A.V., Soboleva N.Ju.* Strategija optimizacii sposobov kul'tivirovanija lekarstvennyh gribov. V sb.: Uspehi medicinskoj mikologii. Mat второго всероссийского конгресса по медицинской микологии. М.: 2004; III: 222—224. [In Russian]
12. Krasnopol'skaja L., Leontieva M., Avtonomova A., Isakova E., Belitskij I.V., Usov A.I., Buchman V.M. Antitumor properties of submerged cultivated biomass and extracts of medicinal mushrooms of genus *hypsizygus* singer. *Int J Med Mushrooms* 2008; 10: 1: 25—35.
13. Бухман В.М., Трещалина Е.М., Краснополянская Л.М., Исакова Е.Б., Седякова Л.А., Автономова А.В., Леонтьева М.И., Соболева Н.Ю., Белицкий И.В., Баканов А.В. Получение и биологические свойства водных экстрактов и их композиций из мицелия базидиомицетов. *Антибиотики и химиотерапия* 2007; 52: 1—2: 4—9. / *Buhman V.M., Treshhalina E.M., Krasnopol'skaja L.M., Isakova E.B., Sedakova L.A., Avtonomova A.V., Leont'eva M.I., Soboleva N.Ju., Belickij I.V., Bakanov A.V.* Poluchenie i biologicheskie svojstva vodnyh jekstraktov i ih kompozicij iz micelija bazidiomicetov. *Antibiotiki i khimioter* 2007; 52: 1—2: 4—9. [In Russian]
14. Краснополянская Л.М., Ярина М.С., Автономова А.В., Усов А.И., Исакова Е.Б., Бухман В.М. Сравнительное изучение противоопухолевой активности полисахаридов из мицелия *Ganoderma lucidum* в опытах *in vivo*. *Антибиотики и химиотерапия* 2015; 60: 11—12: 29—34. / *Krasnopol'skaja L.M., Jarina M.S., Avtonomova A.V., Usov A.I., Isakova E.B., Buhman V.M.* Sravnitel'noe izuczenie protivopuhoлевой aktivnosti polisaharidov iz micelija *Ganoderma lucidum* v opytah *in vivo*. *Antibiotiki i khimioter* 2015; 60: 11—12: 29—34. [In Russian]
15. Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии. М.: Изво МГУ, 1980; 280. / *Maksimov V.N.* Mnogofaktornyj jeksperiment v biologii. М.: Iz-vo MGU, 1980; 280. [In Russian]
16. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt Chem* 1956; 28: 3: 350—356.
17. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Руководство Р 4.1.1672-03. М.: Федеральный центр государственного надзора Минздрава России, 2004; 240. / *Rukovodstvo po metodam kontrolja kachestva i bezopasnosti biologicheski aktivnyh dobavok k pishhe.* Rukovodstvo R 4.1.1672-03. М.: Federal'nyj centr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii, 2004; 240. [In Russian]
18. Лапин А.А., Романова Н.Г., Зеленков В.Н. Применение метода гальваностатической кулонометрии в определении антиоксидантной активности различных видов биологического сырья и продуктов их переработки (учебное пособие). М.: Изд-во РГАУ — МСХА им. К.А. Тимирязева, 2011; 196. / *Lapin A. A., Romanova N. G., Zelenkov V. N.* Primenenie metoda gal'vanostaticheskoi kulonometrii v opredelenii antioksidantnoj aktivnosti razlichnyh vidov biologicheskogo syr'ja i produktov ih pererabotki (uchebnoe posobie). М.: Izd-vo RGAU - MSHA im. K. A. Timirjazeva, 2011; 196. [In Russian]
19. Шегловитова О.Н., Бабаянц А.А., Склянкина Н.Н., Болдырева Н.А., Леонтьева М.И., Автономова А.В., Краснополянская Л.М. Полисахариды из мицелия *Ganoderma lucidum* и *Flammulina velutipes* индуцируют интерферон в культуре лейкоцитов крови человека, но различаются по типу продуцируемого интерферона. Иммунопатол аллергол инфектол (Труды II Междисциплинарного микологического форума, Москва, 14—15 апреля 2010 г.), 2010; 1: 276. / *Shheglovitova O.N., Babajanc A.A., Skljankina N.N., Boldyreva N.A., Leont'eva M.I., Avtonomova A.V., Krasnopol'skaja L.M.* Polisaharidy iz micelija *Ganoderma lucidum* i *Flammulina velutipes* inducirujut interferon v kul'ture lejkcitov krvi cheloveka, no razlichajutsja po tipu produciruемого interferona. Immunopatol allergol infektol (Trudy II Mezhdisciplinarnogo mikologicheskogo foruma, Moskva, 14—15 aprilja 2010 g.), 2010; 1: 276. [In Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Краснополянская Лариса Михайловна — зав.лабораторией, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Шуктуева М.И. — научный сотрудник, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Автономова А.В. — старший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Ярина М.С. — научный сотрудник, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Джавахан Б.Р. — лаборант-исследователь, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Исакова Е.Б. — научный сотрудник, ФГБНУ «НИИНА, Москва

Бухман В.М. — зав.лабораторией, ФГБНУ «НИИНА; ФГБУ РОНЦ В. им. Н.Н.Блохина МЗ РФ, Москва

SNP-полиморфизм в геномах изолятов *Streptococcus pneumoniae* CC320, устойчивых к бета-лактамам

И. А. ЦВЕТКОВА¹, М. О. ВОЛКОВА¹, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ¹,
С. С. БЕЛАНОВ², В. В. ГОСТЕВ¹, С. В. СИДОРЕНКО^{1,3}

¹ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

² Университет Хельсинки, Институт Биотехнологии, Хельсинки, Финляндия

³ Северо-Западный Государственный Медицинский Университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

SNP Polymorphism in Genomes of CC320 Isolates of *Streptococcus pneumoniae* Resistant to Beta-Lactams

I. A. TZVETKOVA¹, M. O. VOLKOVA¹, O. S. KALINOGORSKAYA¹, S. S. BELANOV², V. V. GOSTEV¹, S. V. SIDORENKO^{1,3}

¹ Institute of Children's Infections FMBA of Russia, Saint-Petersburg, Russia

² University of Helsinki, Institute of Biotechnology, Helsinki, Finland

³ North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

В результате биоинформационного анализа данных полногеномного секвенирования изолятов *Streptococcus pneumoniae* клонального комплекса CC320, циркулирующих в Российской Федерации, а также данных об изолятах CC320 из открытых источников у резистентных к пенициллину изолятов было обнаружено 139 миссенс-мутаций в 45 генах. Кроме мутаций в генах основных пенициллин-связывающих белков (ПСБ — PBP1A, PBP2B и PBP2X) высокая частота мутаций обнаружена в генах, входящих в состав *dcw*-кластера (*division and cell wall*), а также в белке RegR, который относится к регуляторам транскрипции, принадлежащим к семейству LacI/GalR. Формирование резистентности к бета-лактамам у *S. pneumoniae* определяется не только модификацией ПСБ, но и адаптивными изменениями в метаболических путях участвующих в росте делении бактериальной клетки.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, мутации, резистентность, бета-лактамы.

Bioinformatic analysis of the data on the genome sequencing of the isolates of the *Streptococcus pneumoniae* clonal complex SS320 from the Russian Federation, as well as the data on SS320 isolates from public sources in the penicillin resistant isolates resulted in detection of 139 missense mutations in 45 genes. In addition to the mutations in the genes of the main penicillin-binding proteins (PSB - PBP1A, PBP2B and PBP2X) there was detected high frequency of mutations in the genes of the (*division and cell wall*) *dcw*-cluster, as well as in RegR protein belonging to the transcription regulators of the LacI/GalR family. Development of resistance to beta-lactams in *S. pneumoniae* is defined not only by modification of the PSB, but also by adaptive changes in the metabolic pathways involved in the bacterial cell growth and division.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, missense mutations, resistance, beta-lactams.

Введение

Streptococcus pneumoniae является комменсальным микроорганизмом, входящим в состав назофарингеальной микробиоты. В то же время пневмококки являются возбудителями ряда инвазивных и мукозальных инфекций. Современная стратегия сдерживания пневмококковых инфекций основана на их профилактике с помощью полисахаридных и конъюгированных вакцин, а также на лечении развившихся инфекций с помощью антибиотиков различных групп, среди последних наибольшее значение имеют бета-лактамы. Первые резистентные к β -лактамам штам-

мы *S. pneumoniae* появились в 40-х годах, с тех пор распространенность этого явления нарастает [1, 2]. Доказанным механизмом резистентности является снижение аффинности к бета-лактамам мишеней их действия — мембраносвязанных трансапептидаз (пенициллин-связывающих белков — ПСБ), катализирующих синтез и ремоделирование пептидогликана.

Снижение аффинности в свою очередь, является результатом мутаций в генах ключевых ПСБ, *pbp2x*, *pbp2b*, [3]. В то же время показано, что помимо генов, кодирующих белки PBP1A, PBP2B и PBP2X, для развития резистентности критичны мутации в генах, отвечающих за синтез пептидогликана (*mraW* и *mraY*), клеточное деление (*ftsL*, *gpsB*), кодирующих шапероны (*clpL*, *clpX*), обеспечивающих процесс генетической рекомбина-

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. НИИДИ

ции (*recU*) [4], а также в других. Однако детали механизмов резистентности напрямую не связанных с ПСБ не известны. Значительные перспективы в этом направлении связаны с биоинформатическим анализом накопленных к настоящему времени данных о структуре ПСБ и других белков, участвующих в процессах роста микробной клетке.

Актуальной и практически важной проблемой является также влияние антипневмококковой иммунизации на распространение в популяции *S.pneumoniae* антибиотикорезистентности. Внедрение в 2000 г. в США, а затем и в других странах, массовой иммунизации семивалентной пневмококковой конъюгированной вакциной (ПКВ7) привело к существенному изменению популяционной структуры *S.pneumoniae*, за счёт уменьшения распространённости «вакцинных» серотипов и увеличения «невакцинных». Наиболее значительное распространение получил серотип 19А [5]. При этом в Азии и США распространение получили множественноустойчивые штаммы пневмококка серотипа 19А, принадлежащие к СС320 (Clonal Complex 320) [6–8], а в Норвегии доминировали штаммы СС199 [9], сохранявшие чувствительность к антибиотикам. Последующее внедрение в ряде стран 13 валентной конъюгированной вакцины (ПКВ13), в состав которой входит полисахарид серотипа 19А, привел к снижению распространения этого серотипа. Генетическая линия СС320, представленная как чувствительными, так и устойчивыми изолятами, широко распространена в России.

Настоящее исследование было направлено на изучение роли мутаций в генах ПСБ и других белков в формировании резистентности генетически линии *S.pneumoniae* СС320 к бета-лактамам антибиотикам.

Материал и методы

Идентификация и типирование *S.pneumoniae*. Выделение, идентификацию и оценку антибиотикочувствительности *S.pneumoniae* из респираторных образцов осуществляли классическими микробиологическими методами. Определение серотипов изолятов выполняли с помощью ПЦР в соответствии с рекомендациями CDC (Centers for Disease Control and Prevention, США). Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) проводилось по стандартной схеме (www.mlst.net).

Полногеномное секвенирование. Полногеномное секвенирование изолятов, выделенных в ФГБУ «НИИ Детских инфекций ФМБА России» (штаммы 3733, 1950_231, 148_87 и 438_198), было выполнено на платформах IonTorrent, LifeTechnologies (штамм PGM2), и MiSeq, Illumina.

Открытые источники данных. Данные полногеномного секвенирования (короткие риды, HiSeq, Illumina) 41 штамма *S.pneumoniae*, относящихся к клональной группе СС320, из базы данных European Nucleotide Archive (ENA), результаты серотипирования и оценки антибиотикочувствительности этих изолятов были получены из публикаций [4, 10]. Геном референсного штамма *S.pneumoniae* TW31 (Taiwan19F-

14/PMEN14, Пневмококковая молекулярная эпидемиологическая сеть; ATCC700905, Американская коллекция типовых культур) из базы данных GenBank (NC_012469.1).

Методы биоинформатики. Сборка геномов *de novo* и аннотация. Качество коротких ридов их процессинг выполнялись с помощью программ FASTQC и Trimmomatic v.0.32. Сборка геномов *de novo* была выполнена с помощью программ SPAdes v.3.5.0 и SSPACE v.3.0. Качество сборки геномов *de novo* оценивалось с помощью программы QUAST. Геномы были аннотированы с помощью программного интерфейса myRAST и RAST сервера (Rapid Annotations using Subsystems Technology).

Детекция однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Короткие риды каждого изолята были картированы на референсный геном *S.pneumoniae* TW31 с помощью программ Samtools и Bowtie2, параметры были установлены по умолчанию. Потенциальные SNP были идентифицированы с использованием программы samtools mpileup. SNP были отфильтрованы для удаления сайтов, в которых качество SNP замены составило ниже 20 по шкале Phred. SNP в сайтах с гетерогенным картированием были отфильтрованы для удаления сайтов, в которых SNP-замена присутствовала менее чем в 66% коротких ридов.

Сравнение изолятов по консервативной части генома. Идентификация и множественное выравнивание консервативной части геномов изучаемых изолятов было выполнено с помощью программного пакета Harvest tools parsnp [11].

Оценка полиморфизма индивидуальных белков. Для каждого изолята исследуемой популяции кодирующие последовательности были транслированы в протеиновые последовательности и экстрагированы из сборки *de novo*. Сравнение аминокислотных последовательностей, ассоциированных с высокой степенью полиморфизма у резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae*, было выполнено путем множественного выравнивания набора последовательностей с помощью алгоритма MUSCLE. В качестве референсных последовательностей использовали протеиновые последовательности, принадлежащие двум диким штаммам из исследуемой популяции *S.pneumoniae* (ERR057872 и ERR047995).

Оценка распределения аллелей Pbp2X в пределах исследуемой популяции. Распределение выровненных аминокислотных последовательностей белка Pbp2X было получено с помощью программного обеспечения BAPS [12]. Оценка распределения аллелей в программе BAPS основана на алгоритме односторонней стохастической оптимизации. Заданный уровень значимости соответствовал $p=0,05$.

Результаты исследования

Идентификация однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), ассоциированных с резистентностью к пенициллину. Исследуемая популяция была сформирована генетически близкими изолятами пневмококка, относящимися к клональной группе СС320 и представляющими собой двулокусные варианты референсного штамма *S.pneumoniae* TW31 (ST236, ST271, ST320 и т.д.). Однородность отобранной популяции способствовала снижению фонового SNP полиморфизма, не обусловленного наличием резистентности. Характеристики включенных в исследование штаммов приведены в табл. 1.

В результате анализа частоты SNP-полиморфизма в геномах исследуемых изолятов было обнаружено 139 миссенс-мутаций в 45 генах у резистентных к пенициллину штаммов пневмококка. Поскольку не все обнаруженные SNP могут ассо-

Таблица 1. Штаммы *S.pneumoniae* CC320, включенные в данное исследование

	ST	Серотип	МПК, мг/л						Источник
			PEN	CTX	TMP	ERY	TET	CHL	
ERR057872	236	19F	S	S	S				2009, [13]
ERR047995	236	19F	S	S	S				2008, [13]
ERR089630	236	19F	S	S	S				2009, [13]
ERR064097	236	19F	S	S	S				2010, [13]
ERR054377	236	19F	0,25		R				2009, [13]
ERR065314	236	19F	2,00	0,5	>2	>0,5	>4	2	2004, [10]
ERR129078	236	19F	3,00	1,5	6	4			2007, [10]
<i>S.pneumoniae</i> TW31	236	19F	2,00			3	32	0,75	GenBank
438_198	236	19F	2,00		64			8	2011, НИИДИ
ERR069793	236	19F	2,00	1	>4/76	>1	>8		2001, [10]
ERR069842	236	19F	4,00	1	>4/76	>1	>8		2001, [10]
ERR069791	236	19F	2,00	0,5	>4/76	0,25	>8		2001, [10]
ERR054445	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR060014	236	19F	1,00		R				2009, [13]
ERR050055	236	19F	1,00		R				2009, [13]
ERR054374	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR054285	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR054441	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR056842	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR060002	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR056791	236	19F	0,50		R				2009, [13]
ERR069699	236	19F	2,00	1	1	>0,5	>4	2	2004, [10]
ERR067999	236	19F	2,00	1	1	>0,5	>4	2	2004, [10]
ERR124222	320	19A	6,00	6	6	>256			2007, [13]
ERR124233	320	19A	4,00	1,5	6	>256			2007, [13]
ERR124255	1451	19A	4,00	2	4	>256			2007, [13]
ERR129031	320	19A	3,00	2	6	>256			2007, [13]
ERR129036	320	19A	3,00	2	3	>256			2007, [13]
ERR129049	320	19A	3,00	1,5	12	>256			2007, [13]
ERR129075	320	19A	6,00	8	3	4			2007, [13]
ERR129193	320	19A	4,00	1,5	6	>256			2007, [13]
PGM2	320	19A	R			R			2011, НИИДИ
ERR069720	320	19A	>4	>2	>2	>0,5	>4		2004, [13]
ERR129062	3292	19F	1,00	0,5	>32	>256			2007, [13]
148_87	320	19F	4	0,5	64				2011, НИИДИ
1950_231	1464	19F	8		64				2011, НИИДИ
ERR068003	1941	19F	1,00	<0,25	>2	>0,5	>4		2004, [13]
3733	271	19F	8			64	32		2011, НИИДИ
ERR065973	320	19F	>4	2	>4/76	>1	>8		2001, [13]
ERR067990	271	19F	4,00	>2	>2	>0,5	>4		2004, [13]
ERR068035	1937	19F	4,00	1	>2	>0,5	>4		2004, [13]
ERR068036	271	19F	4,00	1	>2	>0,5	>4		2004, [13]
ERR069843	320	19F	4,00	2	>4/76	>1	>8		2001, [13]
ERR069706	1943	19F	2,00	1	0,5	>0,5	>4		2004, [13]
ERR069762	1945	19F	2,00	1	>4/76	<0,03	0,12		2001, [13]

цироваться с возникновением резистентности, была проведена оценка полиморфизма индивидуальных продуктов идентифицированных генов и исключены сайты SNP, предположительно не связанные с развитием устойчивости к пенициллину. В табл. 2 представлен перечень генов и кодируемых ими продуктов, а также выявленные аминокислотные замены, которые могут быть связаны с развитием резистентности к бета-лактамам.

Оценка полиморфизма индивидуальных белков. В табл. 2 перечислены аминокислотные замены, встречающиеся у резистентных к пенициллину изолятов *S.pneumoniae* CC320.

Фермент ундекапринилфосфат фосфо-N-ацетилмурамоил-пентапептид-трансфераза (MgaY) вовлечён в первый (цитоплазматический) этап би-

осинтеза клеточной стенки пептидогликана. Белок MgaY является компонентом клеточной мембраны, он содержит 10 трансмембранных областей (www.uniprot.org). У всех резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* идентифицированы мутации T60A; S73K(N); F75L; V170I; I213V.

В сравниваемых последовательностях белка RBP2X идентифицировано 54 аминокислотные замены. В области транспептидазного домена (позиции 266-616) обнаружена 31 замена. В С-терминальной области идентифицировано 20 замен. В пенициллин-связывающей области найдены 3 замены. Из приведённых замен ранее были охарактеризованы мутации: T338A (связана с изменением активности серина активного центра); R384G (приводит к конформационному измене-

Таблица 2. Гены пенициллинорезистентных штаммов *S.pneumoniae*, мутации в которых могут быть ассоциированы с резистентностью к пенициллину

Ген	Продукт	Функция	Аминокислотные замены у большинства резистентных штаммов
<i>mraY</i>	Ундекапринилфосфат фосфо-N-ацетилмура-моил-пентапептид-трансфераза	Синтез пептидогликана	T60A; S73K(N); F75L; V170I; I213V
<i>pbp2x</i>	PBP2X		A172T/A172D; R254Q; M256V; D301N; T338A; A346S; A347S; G354S; V358Y; L364F; I371T; G382T; R384G; S389L; T401S; N417K; N444S; I462L; P486T; D488N; T490S; A491V; V516I; V523L; S530Y; T536I; V537I; L546V; V565S; D567N; S574T; S576N; N605T; D616E; T622S; T623P; A626N; E628D; S631T; Q632T; Q633E; P635S; P637A; Y641I; E652A; L657I; N671E; S672T; A674V; I688L; A693V; V696I; L710F; Q721E
<i>pbp2b</i>	PBP2B		S412P; N422Y; T426K; Q427L; Q438E; T446A; L455I
<i>ftsL</i>	FtsL	Клеточное деление	K4R
<i>gpsB</i>	GpsB		A2T; N24S; K65Q; K65_P66_insVSSA; V69S; Q70H; A71P; E72D; L74I; E75D; A76V; I78A; T79S; S107T; F109L
<i>mapZ</i>	Срединно распо-ложенный белок Z		A13G; F75L; K94E; L110P; D127E; D148E; I161V; V164A; A184N; V257A; L273P; Q327E; K343E; P344T
<i>engB</i>	YsxC/EngB		C96R у некоторых высокорезистентных изолятов серотипа 19F
<i>recU</i>	Резолваза RecU		V8L; T14P; Q60R; H89N; V97A; V122I; F147Y; E165G
<i>rlmL</i>	Гипотетическая N6-аденин-специфичная метилаза ДНК	Метилирование ДНК	I235V
<i>rpiR</i>	Регулятор утилизации сиаловой кислоты, се-мейство RpiR	Метаболизм фруктозы и маннозы	
SPT_0166 (S.p.TW31)	Белок семейства MutT/Nudix	Репарация ДНК	E124Q; D125N
SPT_0376 (S.p.TW31)	Гепариназа-II/III-по-добный белок	Метаболизм углево-дов, одноуглеродный	G172S; D206E; D385G
<i>regR</i>	Репрессор утилизации гиалуроната и дезок-сикетоглюконат кина-зы RegR	метаболизм, модуля-ция экспрессии фак-торов вирулентности	N79T; Q151R; S216R; D238N; I247V; L254P; S295A; R313L; N327S (у всех <i>S.pneumoniae</i> ST236, ST271 и других однолокусных вариантов ST236)
SPT_0384 (S.p.TW31)	Метилтрансфераза Н малой субъединицы рибосомальной РНК	Процессинг РНК	
SPT_0555 (S.p.TW31)	Нуклеотид-связываю-щий белок с гистиди-новой триадой		T108A
SPT_0872 (S.p.TW31)	тРНК и рРНК цито-зин-C5-метилаза		
SPT_1551 (S.p.TW31)	Гипотетическая тРНК-m1A22 метилаза		
SPT_0382 (S.p.TW31)	Гипотетический белок (FIG01114714)	Не известна	S78A; D133G
<i>upsA</i>	Гипотетический белок (FIG005686)	Не известна	S51T; E164Q

нию петли, прилегающей к поверхности актив-ного центра); замены R384G, D567N и N605T связаны с изменением кинетики взаимодействия PBP2X с β -лактамами [14].

Аминокислотные последовательности белка PBP2B отличались от чувствительных штаммов наличием 7 мутаций в области транспептидазно-го домена, между высококонсервативными моти-вами S386VVK и S443SN. Мутация T446A была охарактеризована ранее, она приводит к сниже-нию аффинности к пенициллину на 60%, по сравнению со штаммом дикого типа [15]. Мута-ции вблизи консервативного мотива K615TG мо-гут модифицировать гибкость β 3-спирали, грани-

чащей с активным центром, и изменять кинетику связывания PBP2B белка с бета-лактамами [15]. Аминокислоты Asn659, Gly660 и Ser664 находятся в С-терминальной области спирали α 11. Возмож-но, мутации в данных областях могут индуциро-вать конформационные изменения в области ак-тивного центра, создающие препятствия для связывания с антибиотиками [15].

Белок клеточного деления FtsL регулирует по-перечный рост клетки и участвует в формирова-нии комплекса белков клеточного деления FtsQ и FtsB/FtsL: его периплазматический домен взаимо-действует с белком FtsQ, трансмембранный домен взаимодействует с белком FtsB, цитоплазматичес-

кий домен взаимодействует с трансмембранным белком FtsW [16, 17]. У большинства резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* обнаружена мутация в коротком N-концевом цитоплазматическом домене (K4R).

Белок GpsB консервативен у всех грамположительных бактерий, он взаимодействует с белками клеточного деления PBP1, MreC и EzrA [18, 19]. Предполагают, что белок GpsB играет роль в переключении между синтезом клеточной стенки в периферическом направлении и синтезом перегородки, посредством релокализации белка PBP1. У всех резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* мы обнаружили мутации в области N-концевого домена, гомологичного белку DivIVA (A2T; N24S; K65Q), а также мутации в области C-концевого домена.

ГТФ-связывающий белок EngB (YsxC/EngB) контролирует клеточное деление, клеточный цикл, сигнальную трансдукцию, сборку рибосом и синтез белка, способствуя чередованию неактивной ГДФ-связанной и активной ГТФ-связанной формы белков [18]. У некоторых штаммов *S.pneumoniae* ST236 серотипа 19F, отличающихся высокой резистентностью, была обнаружена мутация C96R.

Срединно-расположенный белок MarZ формирует кольцо на экваторе вновь поделившихся клеток. После начала клеточного деления, во время периферического роста, сформированное белком MarZ кольцо расщепляется на два кольца, которые перемещаются к полюсам клетки [20]. Белок имеет три основных домена: N-концевой, локализованный в цитоплазме, трансмембранный домен, C-концевой внеклеточный домен. У всех резистентных к пенициллину изолятов *S.pneumoniae* были идентифицированы мутации как в цитоплазматическом (A13G; F75L; K94E; L110P; D127E; D148E), так и во внеклеточном домене (I161V; V164A; A184N; V257A; L273P; Q327E; K343E; P344T). Мутации в C-концевом домене белка MarZ локализуются между многочисленными областями формирования спиралей, β -цепей и серин-обогащённого участка.

Резолваза RecU участвует в сегрегации хромосом во время клеточного деления, рекомбинации ДНК и репарации ДНК. Фермент содержит четыре металл-связывающих сайта (позиции 81, 83, 96, 115), а также сайт, стабилизирующий состояние транзиции (98). Аллостерическая транзиция обеспечивает гибкую систему регуляции активности ферментов. У всех резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* были обнаружены мутации V8L; T14P; Q60R; H89N; V97A; V122I; F147Y; E165G. При этом аминокислотная замена V97A локализуется рядом с сайтом, стабилизирующим состояние аллостерической транзиции.

Структура гипотетической N6-аденин-специфичной метилазы ДНК представлена двумя до-

менами: N-концевой THUMP-домен (АМК-остатки 45-159) и C-концевой UPF0020 домен (собственно, метилаза). Считают, что происхождению гена данного фермента предшествовало слияние генов эндонуклеазы рестрикции и метилтрансферазы [21]. Метилирование ДНК является ключевым механизмом, контролирующим экспрессию генов, поддержание целостности генома клетки, защиту от встраивания ДНК фагов и транспозонов. АМК-замены в белке N6-аденин-специфичной метилазы ДНК могут быть связаны с изменением специфичности метилтрансферазы. У всех резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* мы обнаружили мутацию I235V в C-концевом домене метилтрансферазы.

Охарактеризованные белки суперсемейства MutT/Nudix гидролизуют нуклеозид дифосфат, связанный с каким-либо другим фрагментом. Гидролазы семейства Nudix могут быть необходимы для защиты клеток от потенциально опасных метаболитов и для снижения накопления промежуточных продуктов ключевых биохимических процессов. У резистентных штаммов обнаружены две аминокислотные замены в C-терминальной области (E124Q; D125N). Идентифицированные замены локализованы вне области Nudix-мотива, считается, что они определяют субстратную специфичность фосфогидролазы.

Сравниваемые аминокислотные последовательности гепариназа-II/III-подобного белка отличались у всех резистентных штаммов наличием трёх замен в области N-терминального домена (G172S; D206E; D385G). Известно, что α -спирали N-терминального домена гепариназы III у *Bacteroides thetaiotaomicron* участвуют в формировании туннеля, содержащего каталитический активный центр [22]. Гепариназа является фактором инвазии. Ген, кодирующий гепариназа-II/III подобный белок, является частью RegR-регулона, который включает три граничащих друг с другом транскрипционные единицы.

Белок RegR относится к регуляторам транскрипции семейства LacI/GalR, характеризующимся наличием мотива спираль-петля-спираль в N-концевом домене, вовлечённом в связывание этим белком ДНК, а также мотива в C-концевом домене, связывающего белки и углеводы и выполняющего регуляторные функции [23]. У всех резистентных к пенициллину изолятов *S.pneumoniae*, принадлежащих ST236, ST271, мутации в последовательностях белка RegR были локализованы в C-концевом домене (N79T; Q151R; S216R; D238N; I247V; L254P; S295A; R313L; N327S).

Обсуждение

Мутации в первичных мишенях β -лактамовых антибиотиков имеют критическое значение для развития резистентности. Показано, что

большая часть значимых мутаций локализуется рядом с активными центрами ферментов [24]. Предполагается, что кумулятивный эффект подобных мутаций можно интерпретировать как «калибровку» активного центра первичной мишени, который будет эффективнее различать субстрат от β -лактаминового блокатора. Как уже отмечалось синтез пептидогликана — это компонент процесса роста клеточной стенки, управляемого белком FtsZ, который является гомологом тубулина, а также другими белками раннего клеточного деления [19], объединёнными в один комплекс [6].

Гены, отвечающие за синхронизацию процессов синтеза пептидогликана и клеточного деления, входят в состав *dcw*-кластера (*division and cell wall*). Эта область имеет похожую организацию у различных видов грамположительных микроорганизмов и содержит гены, кодирующие белки, которые участвуют в сегрегации хромосомы, поддержании клеточной морфологии и клеточном делении, а также неохарактеризованные гены [1, 20, 22, 25–31]. Полученные результаты показывают, что у резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae* наблюдается высокая частота полиморфизма в генах, входящих в состав данного кластера.

У всех резистентных к пенициллину штаммов *S.pneumoniae*, являющихся одноклассовыми вариантами ST236, мы обнаружили мутации в белке RegR, который относится к регуляторам транскрипции, принадлежащим к семейству LacI/GalR. Ген *regR* включён в 15.5-kb область, предшествующую региону *dcw*-кластера и содержащую открытые рамки считывания, кодирующие гипотетическую глутатион пероксидазу

(*gpx*), гиалуронидазу (*hyl*), белки, участвующие в метаболизме 2-кето-3-дезоксиглюконата (*kdg* оперон), белки углевод-фосфотрансферазной транспортной системы (*PTS* оперон), а также гипотетические белки.

RegR снижает уровень экспрессии гиалуронидазы в клетке, являющейся фактором вирулентности, активирует адгезивную функцию у растущих бактерий при pH 7 и позитивно регулирует компетентность [23]. Уменьшение активности гиалуронидазы ассоциируется с ослаблением вирулентности мутантов *S.pneumoniae* [18]. Таким образом, RegR может выполнять функцию настройки экспрессии генов вирулентности и компетентности, кульминацией данного процесса является оптимизированный ответ бактерии на специфические условия окружающей среды. Возможно, процесс развития резистентности к β -лактамам связан с изменением вирулентности *S.pneumoniae*. Для оценки этой гипотезы требуются дополнительные исследования.

Формирование резистентности к бета-лактамам антибиотикам у *S.pneumoniae* определяется не только модификацией ПСБ, но и адаптационными изменениями в метаболических путях, участвующих в росте делении бактериальной клетки. Дальнейший анализ изменений структуры белков, связанных с устойчивостью к бета-лактамам позволит выявить новые мишени для антибактериальных препаратов и пути преодоления резистентности.

Уведомление: Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект №15-15-00185)

ЛИТЕРАТУРА

- Hulten K.G., Kaplan S.L., Lamberth L.B., Barson W.J., Romero J.R., Lin P.L., Bradley J.S., Givner L.B., Tan T.Q., Hoffman J.A., Mason E.O. Changes in *Streptococcus pneumoniae* Serotype 19A Invasive Infections in Children from 1993 to 2011. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1294–1297.
- Sauerbier J., Maurer P., Rieger M., Hakenbeck R. *Streptococcus pneumoniae* R6 interspecies transformation: genetic analysis of penicillin resistance determinants and genome-wide recombination events. *Mol Microbiol* 2012; 86: 692–706.
- Albarracin Orio A.G., Pinas G.E., Cortes P.R., Cian M.B., Echenique J. Compensatory evolution of *pbp* mutations restores the fitness cost imposed by beta-lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002000.
- Chewapreecha C., Martinen P., Croucher N.J., Salter S.J., Harris S.R., Mather A.E., Hanage W.P., Goldblatt D., Nosten F.H., Turner C. et al. Comprehensive identification of single nucleotide polymorphisms associated with beta-lactam resistance within pneumococcal mosaic genes. *PLoS Genet* 2014; 10: e1004547.
- Reinert R., Jacobs M.R., Kaplan S.L. Pneumococcal disease caused by serotype 19A: review of the literature and implications for future vaccine development. *Vaccine* 2010; 28: 4249–4259.
- Shin J., Baek J.Y., Kim S.H., Song J.H., Ko K.S. Predominance of ST320 among *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A isolates from 10 Asian countries. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 1001–1004.
- Moore M.R., Gertz R.E., Jr., Woodbury R.L., Barkocy-Gallagher G.A., Schaffner W., Lexau C., Gershman K., Reingold A., Farley M., Harrison L.H. et al. Population snapshot of emergent *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in the United States, 2005. *J Infect Dis* 2008; 197: 1016–1027.
- Beall B.W., Gertz R.E., Hulkower R.L., Whitney C.G., Moore M.R., Brueggemann A.B. Shifting genetic structure of invasive serotype 19A pneumococci in the United States. *J Infect Dis* 2011; 203: 1360–1368.
- Vestheim D.F., Steinbakk M., Aaberge I.S., Caugant D.A. Postvaccination increase in serotype 19A pneumococcal disease in Norway is driven by expansion of penicillin-susceptible strains of the ST199 complex. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 443–445.
- Croucher N.J., Finkelstein J.A., Pelton S.I., Mitchell P.K., Lee G.M., Parkhill J., Bentley S.D., Hanage W.P., Lipsitch M. Population genomics of post-vaccine changes in pneumococcal epidemiology. *Nat Genet* 2013; 45: 656–663.
- Treangen T.J., Ondov B.D., Koren S., Phillippy A.M. The Harvest suite for rapid core-genome alignment and visualization of thousands of intraspecific microbial genomes. *Genome Biol* 2014; 15: 524.
- Corander J., Martinen P., Siren J., Tang J. Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations. *BMC Bioinformatics* 2008; 9: 539.
- Chewapreecha C., Harris S.R., Croucher N.J., Turner C., Martinen P., Cheng L., Pessia A., Aanensen D.M., Mather A.E., Page A.J. et al. Dense genomic sampling identifies highways of pneumococcal recombination. *Nat Genet* 2014; 46: 305–309.
- Mouz N., Di Guilmi A.M., Gordon E., Hakenbeck R., Dideberg O., Vernet T. Mutations in the active site of penicillin-binding protein PBP2x from *Streptococcus pneumoniae*. Role in the specificity for beta-lactam antibiotics. *J Biol Chem* 1999; 274: 19175–19180.
- Pagliaro E., Chesnel L., Hopkins J., Croize J., Dideberg O., Vernet T., Di Guilmi A.M. Biochemical characterization of *Streptococcus pneumoniae* penicillin-binding protein 2b and its implication in beta-lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1848–1855.

16. De la Iglesia R., Valenzuela-Heredia D., Pavissich J.P., Freyhoffer S., Andrade S., Correa J.A., Gonzalez B. Novel polymerase chain reaction primers for the specific detection of bacterial copper P-type ATPases gene sequences in environmental isolates and metagenomic DNA. *Lett Appl Microbiol* 2010; 50: 552–562.
17. Noireclerc-Savoie M., Le Gouellec A., Morlot C., Dideberg O., Vernet T., Zapun A. *In vitro* reconstitution of a trimeric complex of DivIB, DivIC and FtsL, and their transient co-localization at the division site in *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 2005; 55: 413–424.
18. Land A.D., Tsui H.C., Kocaoglu O., Vella S.A., Shaw S.L., Keen S.K., Sham L.T., Carlson E.E., Winkler M.E. Requirement of essential Pbp2x and GpsB for septal ring closure in *Streptococcus pneumoniae* D39. *Mol Microbiol* 2013; 90: 939–955.
19. Massidda O., Novakova L., Vollmer W. From models to pathogens: how much have we learned about *Streptococcus pneumoniae* cell division? *Environ Microbiol* 2013; 15: 3133–3157.
20. Massidda O., Anderluzzi D., Friedli L., Feger G. Unconventional organization of the division and cell wall gene cluster of *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology* 1998; 144 (Pt 11): 3069–3078.
21. Miner Z., Schlagman S.L., Hattman S. Single amino acid changes that alter the DNA sequence specificity of the DNA-[N6-adenine] methyltransferase (Dam) of bacteriophage T4. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 8149–8157.
22. Fadda D., Santona A., D'Ulisse V., Ghelardini P., Ennas M.G., Whalen M.B., Massidda O. *Streptococcus pneumoniae* DivIVA: localization and interactions in a MinCD-free context. *J Bacteriol* 2007; 189: 1288–1298.
23. Chapuy-Regaud S., Ogunniyi A.D., Diallo N., Huet Y., Desnottes J.F., Paton J.C., Escaich S., Trombe M.C. RegR, a global LacI/GalR family regulator, modulates virulence and competence in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2003; 71: 2615–2625.
24. Contreras-Martel C., Dahout-Gonzalez C., Martins Ados S., Kotnik M., Dessen A. PBP active site flexibility as the key mechanism for beta-lactam resistance in pneumococci. *J Mol Biol* 2009; 387: 899–909.
25. Fadda D., Pischella C., Caldara F., Whalen M.B., Anderluzzi D., Domenici E., Massidda O. Characterization of divIVA and other genes located in the chromosomal region downstream of the dcw cluster in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol* 2003; 185: 6209–6214.
26. Flardh K. Essential role of DivIVA in polar growth and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol* 2003; 49: 1523–1536.
27. Hamoen L.W., Meile J.C., de Jong W., Noirot P., Errington J. SepF, a novel FtsZ-interacting protein required for a late step in cell division. *Mol Microbiol* 2006; 59: 989–999.
28. Kabeya Y., Nakanishi H., Suzuki K., Ichikawa T., Kondou Y., Matsui M., Miyagishima S.Y. The YlmG protein has a conserved function related to the distribution of nucleoids in chloroplasts and cyanobacteria. *BMC Plant Biol* 2010; 10: 57.
29. Miyagishima S.Y., Wolk C.P., Osteryoung K.W. Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. *Mol Microbiol* 2005; 56: 126–143.
30. Ramirez-Arcos S., Liao M., Marthaler S., Rigden M., Dillon J.A. *Enterococcus faecalis* divIVA: an essential gene involved in cell division, cell growth and chromosome segregation. *Microbiology* 2005; 151: 1381–1393.
31. Ramos A., Honrubia M.P., Valbuena N., Vaquera J., Mateos L.M., Gil J.A. Involvement of DivIVA in the morphology of the rod-shaped actinomycete *Brevibacterium lactofermentum*. *Microbiology* 2003; 149: 3531–3542.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Цветкова Ирина Анатольевна — младший научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Волкова Марина Олеговна — к.м.н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Калиногорская Ольга Серафимовна — к.м.н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Беланов Сергей Сергеевич — научный сотрудник Института Биотехнологии Университета Хельсинки, Хельсинки, Финляндия

Гостев Владимир Валерьевич — к.б.н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного учреждения «НИИ детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»; профессор кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западного государственного медицинского университета имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург.

Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации

И. В. ЛАЗАРЕВА¹, В. А. АГЕЕВЕЦ¹, Т. А. ЕРШОВА¹, Л. П. ЗУЕВА², А. Е. ГОНЧАРОВ^{2,3,4},
М. Г. ДАРЬИНА^{2,5}, Ю. С. СВЕТЛИЧНАЯ^{2,5}, А. Н. УСКОВ, С. В. СИДОРЕНКО^{1,2,6}

¹ Научно-исследовательский институт детских инфекций, Санкт-Петербург

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

³ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

⁵ Медицинский информационно-аналитический центр, Санкт-Петербург

⁶ Санкт-Петербургский научный центр РАН, Санкт-Петербург

Prevalence and Antibiotic Resistance of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacteria in Saint Petersburg and Some Other Regions of the Russian Federation

I. V. LAZAREVA¹, V. A. AGEEVETS¹, T. A. ERSHOVA¹, L. P. ZUEVA², A. E. GONCHAROV^{2,3,4},
M. G. DARINA^{2,5}, YU. S. SVETLICHNAYA^{2,5}, A. N. USKOV, S. V. SIDORENKO^{1,2,6}

¹ Pediatric Infectious Research Institute, St. Petersburg

² I.I. Mechnikov Nord-West State Medical University, St. Petersburg

³ Experimental Medicine Institute, St. Petersburg

⁴ St. Petersburg State University, St. Petersburg

⁵ Medical Research and Information Centre, St. Petersburg

⁶ St. Petersburg Scientific Center, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

Грамотрицательные бактерии, продуцирующие карбапенемазы (ферменты, разрушающие карбапенемные антибиотики), являются одной из глобальных угроз системе здравоохранения. Количество известных карбапенемаз постоянно увеличивается, однако только четыре типа получили наибольшее распространение: NDM-тип, KPC-тип, OXA-48-тип и VIM-тип. В стационарах Санкт-Петербурга среди *Klebsiella pneumoniae* частота продукции карбапенемаз достигает 9,2% (5,9% — NDM-тип, 1,4% — OXA-48-тип, 1,9% — NDM-тип + OXA-48-тип). Продуценты карбапенемаз также обнаруживали в стационарах Москвы, Екатеринбурга, Вологды, Мурманска, Кургана, Красноярска, Ижевска, Краснодара и Перми. Всего в период с 2011 по 2016 гг. получено 281 продуцент карбапенемаз, выделенных от инфицированных или колонизованных пациентов (247 изолятов *K. pneumoniae*; 29 — *Acinetobacter* spp.; 2 — *Enterobacter cloacae*; 1 — *Serratia marcescens*; 1 — *Escherichia coli* и 1 — *Proteus mirabilis*). *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, отличались значительным генетическим разнообразием, так продуценты NDM-типа относились к восьми различным сиквенс-типам (Sequence Types — ST), KPC-типа — к трём и OXA-48-типа — к четырём. Обнаружены представители глобально доминирующей генетической линии — клональной группы (Clonal Group — CG) CG258, а также ряда менее распространённых линий: ST147, ST273, ST307 и ST377. *K. pneumoniae* отличалась высокой частотой перекрёстной и ассоциированной резистентности с антибиотиками разных групп. Частота устойчивости к цефалоспорином и фторхинолонам приближалась к 100%. Среди продуцентов NDM частота устойчивости к аминогликозидам превосходила 90%, среди продуцентов KPC частота устойчивости к амикацину была на уровне 66%, а к гентамицину — 93%, среди продуцентов OXA-48 частота устойчивости была ещё ниже 50 и 73%, соответственно. Высокий уровень устойчивости к имипенему и меропенему проявляли около 80% продуцентов NDM, приблизительно 90% продуцентов KPC и только 60% продуцентов OXA-48. Частота устойчивости к тигециклину колебалась от 6,7 до 14,8%; к полимиксину — от 4,2% до 20%. *Acinetobacter* spp., продуцирующие карбапенемазы OXA-40- и OXA-23-типов сохраняли чувствительность только к полимиксину. Очевидно, что возможности этиотропной терапии инфекций, вызываемых продуцентами карбапенемаз, ограничены.

Ключевые слова: грамотрицательные бактерии, карбапенемазы, устойчивость.

Carbapenemase-producing gramnegative bacteria, which hydrolyze most of β -lactams, including carbapenems, is of global health care system threat. The number of the known carbapenemases is constantly increasing, however only four types are widely distributed: NDM-type, KPC-type, OXA-48-type and VIM-type. The frequency of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in hospitals of Saint Petersburg reached 9.2% (5.9% for NDM-type, 1.4% for OXA-48-type, 1.9% for NDM-type + OXA-48-type).

© Коллектив авторов, 2016

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

Carbapenemase producers were also detected in hospitals of Moscow, Yekaterinburg, Vologda, Murmansk, Kurgan, Krasnoyarsk, Izhevsk, Krasnodar and Perm. In total 281 carbapenemase producers were recorded within 2011–2016, which were isolated from infected or colonized patients (*K.pneumoniae* — 247 isolates, *Acinetobacter* spp — 29 isolates, *Enterobacter cloacae* — 2 isolates, *Serratia marcescens* — 1 isolate, *Escherichia coli* — 1 isolate and *Proteus mirabilis* — 1 isolate). The carbapenemase-producing *K.pneumoniae* isolates were distinguished by considerable genetic diversity, the NDM-type carbapenemase-producers belonged to eight, KPC-type — to three and OXA-48-type — to four different sequence-types (STs) respectively. The representatives of the globally dominant genetic line, Clonal Group 258 (CG258), and also a number of the less common lines (ST147, ST273, ST307 and ST377) were detected. The *K.pneumoniae* strains were distinguished by a high frequency of cross-resistance and the associated resistance to antibiotics of different groups. The frequency of resistance to cephalosporins and fluoroquinolones reached 100%. Among the NDM-type carbapenemase producers the frequency of resistance to aminoglycosides exceeded 90%, among the KPC-type carbapenemase producers the frequency of resistance corresponded to 66% for amikacin and 93% for gentamicin, among the OXA-48 type carbapenemase producers the frequency of resistance was even lower (50% and 73% respectively). Approximately 80% of the NDM-type, 90% of the KPC-type and only 60% of the OXA-48-type carbapenemase producers showed a high level of resistance to imipenem and meropenem. The frequency of resistance to tigecycline varied within 6.7% to 14.8% and the frequency of resistance to polymyxin was within 4.2% to 20%. The OXA-40- and OXA-23-types carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. remained susceptible only to polymyxin. It is obvious that the possibility of antibacterial therapy of infections caused by carbapenemases producers is limited.

Key words: gramnegative bacteria, carbapenemase, resistance.

Введение

Глобальное распространение продукции карбапенемаз среди энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий представляет собой серьёзную угрозу здравоохранению и безопасности пациентов. К наиболее распространённым карбапенемазам относятся ферменты четырёх типов: VIM, NDM, KPC и OXA-48. Два первых фермента являются металло-бета-лактамазами, а два последних — сериновыми бета-лактамазами. С 2012 г. Европейский Центр профилактики и контроля болезней реализовывает программу по экспертной оценке распространения карбапенемаз (European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae — EuSCAPE). Сбор данных осуществляется путём анкетирования экспертов из стран Европейского Союза, для оценки эпидемической ситуации предложена шкала из семи ступеней. Результаты оценки были опубликованы в 2013 [1] и 2015 [2] гг.

Сравнение опубликованных результатов свидетельствует, что за два года ситуация с распространением карбапенемаз существенно ухудшилась, так количество стран, в которых отмечают эндемичные очаги или межрегиональное распространение продуцентов карбапенемаз, увеличилось с шести до 13. Свободными от карбапенемаз в 2015 г. оставались Исландия, а также Босния и Герцеговина. Спорадические случаи или единичные госпитальные вспышки регистрировали в странах Северной Европы (Швеции, Норвегии и Финляндии), а также в Нидерландах, Словении и Болгарии. В остальных странах регистрировали госпитальные вспышки или региональное распространение карбапенемаз. Наиболее быстрыми темпами росло распространение продуцентов карбапенемаз NDM — и OXA-48 — типов.

В наиболее близкой к Санкт-Петербургу стране Европейского Союза — Финляндии — ситуация

представляется достаточно благополучной, так в 2015 г. было зарегистрировано восемь продуцентов карбапенемаз NDM-типа, шесть — KPC-типа и четыре — OXA-48-типа. В Санкт-Петербурге первые сообщения о выделении продуцентов карбапенемаз NDM-1 относятся к 2012–2013 гг. [3, 4]. Данные о первых в Санкт-Петербурге случаях выделения продуцентов карбапенемаз OXA-48 и KPC-типа были опубликованы в 2014 г. [5], в этом же году было опубликовано сообщение о выделении единичных продуцентов OXA-48 и NDM-1 в других регионах России [6]. При вспышке госпитальных инфекций в одном из стационаров Москвы были выделены 52 изолята *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие OXA-48-подобные карбапенемазы, 7 — *Proteus mirabilis*, 3 — *Enterobacter aerogenes* и 1 — *Enterobacter cloacae* [7].

К актуальным проблемам резистентности относится также распространение карбапенем-устойчивых *Acinetobacter* spp., прежде всего *A. baumannii*. Рост частоты распространения этих патогенов среди возбудителей госпитальных инфекций в Российской Федерации отмечается с начала XXI века [8]. А в период с 2006–2007 гг. по 2011–2012 гг. резко возросла частота продукции приобретённых карбапенемаз (с 2,7 до 44%) [9]. Для *Acinetobacter* spp. характерно наличие карбапенемаз OXA-типа (класс D). Карбапенемаза OXA-51 отличается хромосомной локализацией и является видоспецифичной для *A. baumannii*, в норме она практически не экспрессируется, соответственно бактерии проявляют чувствительность к карбапенемам. Для экспрессии карбапенемаз OXA-51 необходимы мутации в промоторной области гена. Карбапенемазы групп OXA-23, OXA-40 и OXA-58 обычно локализованы на плазмидах, хорошо экспрессируются и обеспечивают высокие значения МПК.

Учитывая приведённые данные о скорости распространения продуцентов карбапенемаз, с

Таблица 1. Критерии снижения чувствительности *E.coli*, *K.pneumoniae* и *A.baumannii* к карбапенемным антибиотикам

	<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i>		<i>A.baumannii</i>	
	диаметр, мм*	МПК, мкг/мл*	диаметр, мм**	МПК, мкг/мл*
Меропенем	< 25	> 0,125	< 21	> 2,0
Дорипенем	< 27	> 0,125	< 23	> 1,0
Имипенем	< 24	> 0,5	< 23	> 1,0
Эртапенем	< 29	> 0,064	—	—

Примечание. * — значения «эпидемиологической точки отсечения»; ** — значения клинического критерия чувствительности.

большой долей вероятности можно предположить, что ранее опубликованные данные лишь в незначительной степени отражают реальную ситуацию с распространением этих патогенов на территории Российской Федерации.

Необходимость информирования специалистов различного профиля о появлении и распространении нового крайне опасного механизма резистентности послужила стимулом к скорейшей публикации результатов исследований по проблеме распространения карбапенемаз среди представителей семейства Enterobacteriaceae и *A.baumannii*.

Материалы и методы

Источники изолятов CPE (Carbapenemase Producing Enterobacteria) и CPA (Carbapenemase Producing Acinetobacter spp). В исследование по оценке антибиотикочувствительности и молекулярному типированию были включены:

- Изоляты *E.coli* и *K.pneumoniae*, полученные в 2016 г. в ходе проведения кросс-секционного исследования распространения CPE в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга, демонстрирующие уменьшение чувствительности к карбапенемным антибиотикам относительно значения эпидемиологической точки отсечения (подозрительные на снижение чувствительности к карбапенемным антибиотикам) в соответствии с табл. 1.

- Изоляты *E.coli*, *K.pneumoniae* и *A.baumannii*, полученные в течение 2011–2016 гг. из учреждений здравоохранения Санкт-Петербурга и других городов Российской Федерации, подозрительные на снижение чувствительности к карбапенемным антибиотикам в соответствии с табл. 1.

Кросс-секционное исследование распространения CPE в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга. В Санкт-Петербурге в соответствии с «Регламентом взаимодействия участников Мониторинга распространения резистентных к антимикробным препаратам возбудителей гнойно-септических инфекций» медицинские учреждения стационарного типа, находящиеся в ведении Комитета по здравоохранению и отделов здравоохранения администраций районов Санкт-Петербурга, ежемесячно направляют в «Медицинский информационно-аналитический центр — МИАЦ» сведения о результатах бактериологических исследований проб биологического материала. В рамках настоящего исследования были использованы данные о количестве изолятов *E.coli* и *K.pneumoniae*, выделенных в медицинских учреждениях в течение марта 2016 г., а также о чувствительности этих изолятов к карбапенемным антибиотикам.

В соответствии с приведённым выше регламентом, медицинские учреждения направили в референтную лабораторию (Научно-исследовательский институт детских инфекций — НИИДИ), выделенные в течение марта 2016 г. изоляты *E.coli* и *K.pneumoniae*, проявляющие сниженную чувствительность к карбапенемным антибиотикам независимо от источника вы-

деления (кровь, моча, отделяемое из дыхательных путей и т.д.). В качестве критериев снижения чувствительности использовали эпидемиологические точки отсечения EUCAST (www.eucast.org), определяемые диско-диффузионным методом или методом серийных разведений (см. табл. 1).

Методы культивирования и идентификации. В лаборатории НИИДИ изоляты, полученные из лабораторий учреждений здравоохранения, проверяли на чистоту, а также проводили их повторную идентификацию методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Microflex, Bruker Daltonics, GmbH, Германия) и программного пакета Microflex™ MALDI Biotyper 2.0 (версия 3.1.1.0). Использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на плотной среде Мюллера-Хинтона. Экстракцию белков проводили с помощью 70% муравьиной кислоты непосредственно на мишени. В качестве матрицы использовался раствор HCCA (Bruker Matrix HCCA), приготовленный согласно инструкции производителя.

Методы оценки антибиотикочувствительности. Определение чувствительности к антибиотикам проводили методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, Франция), согласно рекомендациям [10] и критериям EUCAST [11], в 96-луночных планшетах. МПК определяли для следующих антибиотиков: цефотаксим (CTX), цефепим (FEP), цефтазидим (CAZ), гентамицин (GEN), амикацин (AN), имипенем (IMP), меропенем (MEM), триметоприм-сульфаметоксазол (SXT), тигециклин (TGC), полимиксин В (PB), ципрофлоксацин (CIP). Для приготовления рабочих растворов антибиотиков использовались субстанции антибактериальных препаратов (Molekula GmbH, Германия). Постановка эксперимента по определению чувствительности для каждой новой партии бактерий сопровождалась тремя контролями: контроль пригодности используемых антибактериальных субстанций со штаммом *E.coli* ATCC 25922, контроль стерильности используемой среды, контроль роста тестируемых штаммов.

Изоляты, соответствовавшие критериям снижения чувствительности к карбапенемным антибиотикам, были включены в дальнейшие исследования по детекции генов карбапенемаз и MLST типированию.

Молекулярные методы

Выделение ДНК и детекция генов карбапенемаз. В период с 2011 по 2014 гг. бактериальную ДНК выделяли с помощью набора ДНК-экспресс (Литех, Россия), с 2015 до настоящего момента — набором ДНК-сорб (Интерлабсервис, Россия) в соответствии с инструкциями производителей. Гены клинически значимых карбапенемаз детектировали методом реал-тайм ПЦР с помощью наборов AmplySens®MDR KPC/OXA-48-FL (bla_{KPC}, bla_{OXA-48-like}), AmplySens®MDR MBL-FL (bla_{VIM}, bla_{IMP}, bla_{NDM}), InterLabService (два мультиплекса на каждую пробу) в случае выделения представителей семейства Enterobacteriaceae; AmplySens®Acinetobacter (bla_{OXA-51}, bla_{OXA-40-like}, bla_{OXA-23-like}), InterLabService — в случае выделения *Acinetobacter* spp.

Мультилокусное сиквенс типирование (МЛСТ). МЛСТ было проведено для некоторых карбапенемазо-продуцирующих изолятов *K.pneumoniae* и *A.baumannii*. Мультилокусное сиквенс-типирование ядерного генома *K.pneumoniae*, было прове-

Таблица 2. Географическое распространение карбапенемаз в Российской Федерации

Город	Гены карбапенемаз	Вид бактерий	Кол-во изолятов	СТ (сиквенс-тип)	Кол-во стационаров
Санкт-Петербург	NDM-тип	<i>K.pneumoniae</i>	113	ST340, ST101, ST395, ST11, ST147, ST292, ST48, ST258	10
		<i>E.coli</i>	1	нд*	1
		<i>A.nosocomialis</i>	2	нд	1
		<i>K.pneumoniae</i>	15	ST258, ST307, ST395, ST273	3
		<i>K.pneumoniae</i>	23	ST395, ST377	5
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	23	нд	3
		<i>E.cloacae</i>	2	нд	1
	VIM-4				
	OXA-40-тип	<i>A.baumannii</i>	12	ST208, ST450, ST1100, ST 348, ST1167, ST944	9
		<i>A.baumannii</i>	1	ST 348	1
Москва	OXA-40-тип+				
	OXA-23-тип				
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	43	ST147	7
	NDM-тип	<i>K.pneumoniae</i>	2	нд	1
	NDM-тип+	<i>K.pneumoniae</i>	1	нд	1
Курган	OXA-48-тип	<i>A.baumannii</i>	11	нд	1
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	2	нд	1
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	2	нд	1
Вологда	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	1	нд	1
Красноярск	NDM-тип	<i>P.mirabilis</i>	1	нд	1
Ижевск	OXA-40-тип+	<i>A.baumannii</i>	2	нд	1
	OXA-23-тип				
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	1	нд	1
Мурманск	OXA-40-тип+	<i>A.baumannii</i>	1	нд	1
Пермь	OXA-23-тип				
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	1	нд	1
	OXA-48-тип	<i>K.pneumoniae</i>	16	нд	1
Екатеринбург		<i>Serratia marcescens</i>	1	нд	1
Краснодар		<i>K.pneumoniae</i>	4	нд	1
	NDM-тип				

Примечание. * — нд — нет данных

дено согласно протоколу, доступному по ссылке: <http://bigsdh.web.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>. Мультилокусное сиквенс-типирование ядерного генома *A.baumannii*, определение номеров аллелей и сиквенс-типов было проведено по схеме Oxford согласно протоколу, доступному по ссылке: http://pubmlst.org/perl/bigsdh/bigsdh.pl?db=pubmlst_abaumannii_oxford_seqdef. Секвенирование по Сэнгеру было проведено на приборе 3730 (Applied Biosystems, Life Technologies, Foster City, CA, USA). Для анализа данных был использован алгоритм eBURST (http://eburst.mlst.net/v3/enter_data/single/).

Результаты исследования

Географическое распространение продуцентов карбапенемаз в Российской Федерации. Как следует из табл. 2, на территории РФ среди Enterobacteriaceae встречаются представители всех четырёх глобально распространённых типов карбапенемаз: NDM-тип, KPC-тип, OXA-48-тип и VIM-4-тип. При этом чаще всего продукцию карбапенемаз обнаруживали среди *K.pneumoniae*, наиболее распространёнными ферментами оказались NDM- и OXA-48-типы. Следует также отметить тенденцию к преобладанию карбапенемаз NDM-типа в Санкт-Петербурге и OXA-48-типа в других регионах РФ. Карбапенемазы VIM-4- и KPC-типов были обнаружены лишь в Санкт-Петербурге. Следует также отметить выявление в Санкт-Петербурге и Москве изолятов *K.pneumo-*

niae, одновременно продуцирующих карбапенемазы NDM- и OXA-48-типов.

Результаты МЛСТ свидетельствуют о значительном генетическом разнообразии продуцентов карбапенемаз, циркулирующих в России. Так, продуценты карбапенемаз NDM-типа относились к восьми различным сиквенс-типам, продуценты KPC — к трём и OXA-48-типов — к четырём. На рис. 1 приведена популяционная структура *K.pneumoniae*, циркулирующих на Земном шаре, согласно базе данных Института Пастера (<http://bigsdh.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>), здесь же отмечены сиквенс-типы выявленные в Российской Федерации. Среди продуцентов KPC и NDM карбапенемаз были обнаружены представители клональной группы 258 (clonal group 258 — CG258), к этой группе относятся сиквенс-типы ST258, ST11 и ST 340. Генетическая линия CG258, вероятно, сформировалась в начале 2000 годов в США [12] в результате нескольких рекомбинационных событий между ST11-подобной и ST442-подобной генетическими линиями [13]. Успешность CG258 в глобальном распространении на сегодняшний день не нашла исчерпывающего объяснения. Для CG258 характерна высокая частота бессимптомного носительства, выраженные

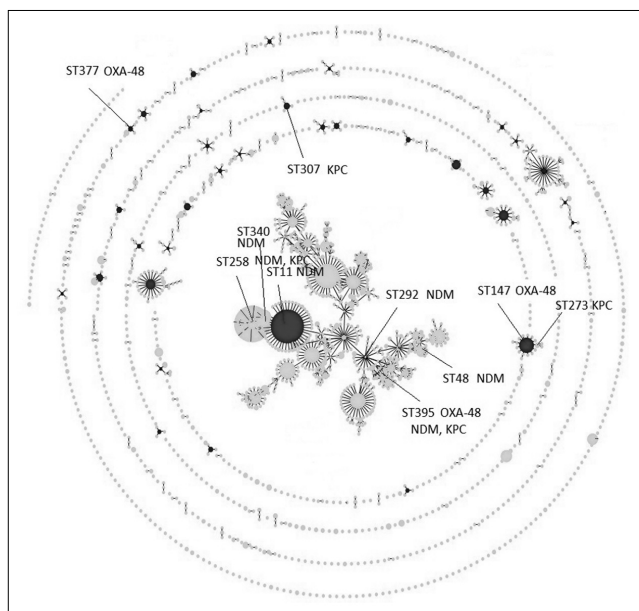


Рис. 1. Глобальная структура *K.pneumoniae*, подписаны сиквенс-типы (ST), выявленные в Российской Федерации

инфекции развиваются, в основном, у пациентов с множественными и тяжёлыми сопутствующими заболеваниями, а также на фоне иммуносупрессии [14]. По большинству признаков клебсиеллы этой линии следует рассматривать как типичные оппортунистические патогены, они лишены факторов вирулентности, однако развившиеся инфекции сопровождаются высокой летальностью [15]. Кроме глобально распространённой линии CG258, на территории России выявлено несколько генетически изолированных линий: ST147, ST273, ST307 и ST377.

Среди *Acinetobacter* spp. продуценты карбапенемаз были представлены в основном *A.baumannii*, несущими гены карбапенемаз $\text{bla}_{\text{OXA-40}}$, у единичных изолятов, в дополнение к этим карбапенемазам, были выявлены ферменты OXA-23-типа. В одном стационаре Санкт-Петербурга были выделены два изолята *A.nosocomialis*, продуцирующие карбапенемазу NDM-типа.

Распространение СРЕ в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга. В Санкт-Петербурге

распространение карбапенемаз среди энтеробактерий было изучено в ходе кросс-секционного исследования. Всего, по данным МИАЦ, в марте 2016 г. в стационарах Санкт-Петербурга было выделено 1068 изолятов *E.coli* и 913 — *K.pneumoniae* (табл. 3). Продукция карбапенемаз наиболее характерна для *K.pneumoniae*, среди которых её частота достигает 9,2%, при этом наиболее распространённым ферментом является карбапенемаза NDM-типа, выявленная у 5,9% изолятов. Следует отметить, что частота распространения изолятов, продуцирующих одновременно две карбапенемазы (NDM-тип + OXA-48-тип = 1,9%) превышает частоту выделения продуцентов OXA-48 (1,4%). Продукция карбапенемаз для *E.coli* не характерна, в то же время необходимо отметить, что устойчивость к карбапенемам связанная с другими нерасшифрованными механизмами, достигает невысоких, но вполне реальных значений (2%).

Антибиотикочувствительность продуцентов карбапенемаз. Для изученных продуцентов карбапенемаз характерен высокий уровень перекрестной и ассоциированной резистентности к антибиотикам разных групп (табл. 4.). Продуценты NDM характеризовались высоким уровнем устойчивости (100% устойчивых изолятов) к цефалоспорином и ципрофлоксацину. Важно отметить, что суммарная доля изолятов, проявивших чувствительность и промежуточную устойчивость к карбапенемам (МПК — 8 мкг/мл), составляла 20% для имипенема и 18,7% для меропенема. По имеющимся данным, инфекции, вызываемые патогенами с таким уровнем устойчивости, могут с успехом лечиться при применении карбапенемов в максимальных дозах в виде длительных инфузий [16].

Незначительная часть изолятов сохраняла чувствительность к аминогликозидам и ко-тримоксазолу. Наибольший уровень чувствительности продуценты NDM проявляли к полимиксину и тигециклину: соответственно 93 и 79,1% чувствительных изолятов. В качестве крайне негативной тенденции необходимо отметить обнаружение 2,5% «панрезистентных» изолятов, проявивших устойчивость ко всем изученным антибиотикам, включая полимиксин и тигециклин.

Таблица 3. Частота распространения продукции карбапенемаз среди *E.coli* и *K.pneumoniae* в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга

Микроорганизм	Количество выделенных в учреждениях изолятов	Количество изолятов, устойчивых к карбапенемам		Выявлено генов карбапенемаз	
		выявлено в учреждениях	передано в референтную лабораторию	тип	n (%)
		n (%)	n (%)		
<i>E.coli</i>	1068	35 (3,3)	22 (2,0)	NDM-тип	1 (0,1)
<i>K.pneumoniae</i>	913	123 (13,5)	119 (13,0)	NDM-тип	54 (5,9)
				OXA-48-тип	13 (1,4)
				NDM-тип+OXA-48-тип	17 (1,9)
				Всего	84 (9,2)

Таблица 4. Антибиотикорезистентность продуцентов различных карбапенемаз

Микро- организм	Карбапе- немаза	n	Антибиотики	Критерии чувствительности, МПК, мкг/мл		%R	%I	%S	MIC ₅₀ , мкг/ мл	MIC ₉₀ , мкг/ мл	Среднее геометри- ческое значение МПК, мкг/мл	Диапазон МПК, мкг/мл
<i>K.pneumoniae</i>	NDM-тип	115	Амикацин	S≤8	R>16	93,9	1,7	4,3	>256	>256	325,8	0,25—512
			Гентамицин	S≤2	R>4	94,8	0	5,2	128	256	102,4	0,25—512
			Цефепим	S≤1	R>4	100	0	0	>256	>256	385,7	16—512
			Цефотаксим	S≤1	R>2	100	0	0	>256	>256	476,3	4—512
			Цефтазидим	S≤1	R>4	100	0	0	128	256	141,8	16—512
			Ципрофлоксацин	S≤0,5	R>1	100	0	0	128	>256	112,8	4—512
			Имипенем	S≤2	R>8	80	9,6	10,4	32	64	24,1	0,125—128
			Меропенем	S≤2	R>8	81,7	13,9	4,3	64	64	31,2	0,125—128
			Полимиксин В ¹	S≤2	R>2	7,0	0	93,0	0,25	1	0,181	0,007—32
			Тигециклин	S≤1	R>2	14,8	6,1	79,1	0,5	4	0,579	0,06—32
			Ко-тримоксазол	S≤2	R>4	95,7	1,7	2,6	64	64	38,6	0,06—128
	OXA-48-тип	72	Амикацин	S≤8	R>16	50	6,9	43,1	16	>256	30,5	0,25—512
			Гентамицин	S≤2	R>4	73,6	0	26,4	128	128	22,4	0,06—512
			Цефепим	S≤1	R>4	95,8	1,4	2,8	>256	>256	295,7	0,125—512
			Цефотаксим	S≤1	R>2	97,2	0	2,8	>256	>256	372,6	0,125—512
			Цефтазидим	S≤1	R>4	100	0	0	128	256	115,1	8—512
			Ципрофлоксацин	S≤0,5	R>1	97,2	0	2,8	128	256	83,0	0,25—512
			Имипенем	S≤2	R>8	61,1	19,4	19,4	16	64	13,8	0,125—128
			Меропенем	S≤2	R>8	62,5	8,3	29,2	32	64	12,5	0,125—128
			Полимиксин В ¹	S≤2	R>2	15,3	0	84,7	0,125	16	0,309	0,015—32
			Тигециклин	S≤1	R>2	13,9	25	61,1	1	8	0,837	0,06—64
			Ко-тримоксазол	S≤2	R>4	88,9	1,4	9,7	32	64	22,8	0,06—128
	NDM-тип+ OXA-48-тип	24	Амикацин	S≤8	R>16	95,8	0	4,2	>256	>256	383,6	8—512
			Гентамицин	S≤2	R>4	100	0	0	128	128	128,0	128—128
			Цефепим	S≤1	R>4	100	0	0	>256	>256	512,0	512—512
			Цефотаксим	S≤1	R>2	100	0	0	>256	>256	512,0	512—512
			Цефтазидим	S≤1	R>4	100	0	0	128	128	128,0	128—128
			Ципрофлоксацин	S≤0,5	R>1	100	0	0	128	128	83,0	4—128
			Имипенем	S≤2	R>8	95,8	4,2	0	64	64	53,8	4—64
			Меропенем	S≤2	R>8	95,8	4,2	0	64	64	53,8	4—64
			Полимиксин В ¹	S≤2	R>2	4,2	0	95,8	0,25	2	0,311	0,007—4
			Тигециклин	S≤1	R>2	8,3	4,2	87,5	0,25	2	0,35	0,06—16
			Ко-тримоксазол	S≤2	R>4	100	0	0	64	64	57,0	32—64
	KPC-тип	15	Амикацин	S≤8	R>16	66,7	20	13,3	64	>256	80,6	8—512
			Гентамицин	S≤2	R>4	93,3	0	6,7	128	>256	64,0	0,5—512
			Цефепим	S≤1	R>4	100	0	0	>256	>256	337,8	64—512
			Цефотаксим	S≤1	R>2	100	0	0	>256	>256	353,8	64—512
			Цефтазидим	S≤1	R>4	100	0	0	128	>256	244,4	128—512
			Ципрофлоксацин	S≤0,5	R>1	100	0	0	128	>256	128,0	32—512
			Имипенем	S≤2	R>8	86,7	13,3	0	64	128	61,1	4—128
			Меропенем	S≤2	R>8	93,3	6,7	0	128	128	70,2	4—128
			Полимиксин В ¹	S≤2	R>2	20	0	80	0,064	32	0,243	0,015—32
			Тигециклин	S≤1	R>2	6,7	20	73,3	1	2	0,625	0,06—32
			Ко-тримоксазол	S≤2	R>4	86,7	6,7	6,7	32	32	21,1	1—64
<i>A.baumannii</i>	OXA-40/ OXA-23-like	26	Амикацин	S≤8	R>16	100	0	0	>256	>256	512,0	512—512
			Гентамицин	S≤4	R>4	100	0	0	128	128	115,1	8—128
			Цефепим ¹	—	—	—	—	—	>256	>256	512,0	512—512
			Цефотаксим ¹	—	—	—	—	—	>256	>256	512,0	512—512
			Цефтазидим ¹	—	—	—	—	—	128	128	128,0	128—128
			Ципрофлоксацин	S≤1	R>1	100	0	0	128	128	128,0	128—128
			Имипенем	S≤2	R>8	100	0	0	32	64	42,9	16—64
			Меропенем	S≤2	R>8	100	0	0	64	64	62,3	32—64
			Полимиксин В ²	S≤2	R>2	0	0	100	0,064	0,5	0,1	0,06—0,5
			Тигециклин	—	—	—	—	—	1	4	0,669	0,06—8
			Ко-тримоксазол	S≤2	R>4	61,5	23,1	15,4	16	64	13,6	0,5—64

Примечание. ¹ — критерии EUCAST отсутствуют; ² — использованы критерии, предложенные для колистина.

K.pneumoniae, продуцировавшие карбапенемазу OXA-48-типа, проявляли меньший уровень устойчивости к большинству антибиотиков в сравнении с продуцентами карбапенемаз NDM-

типа. Доля изолятов, продуцирующих карбапенемазу с МПК карбапенемов — 8 мкг/мл, составила 38,9% для имипенема и 37,5% — для меропенема. К амикацину и гентамицину сохраняли чувстви-

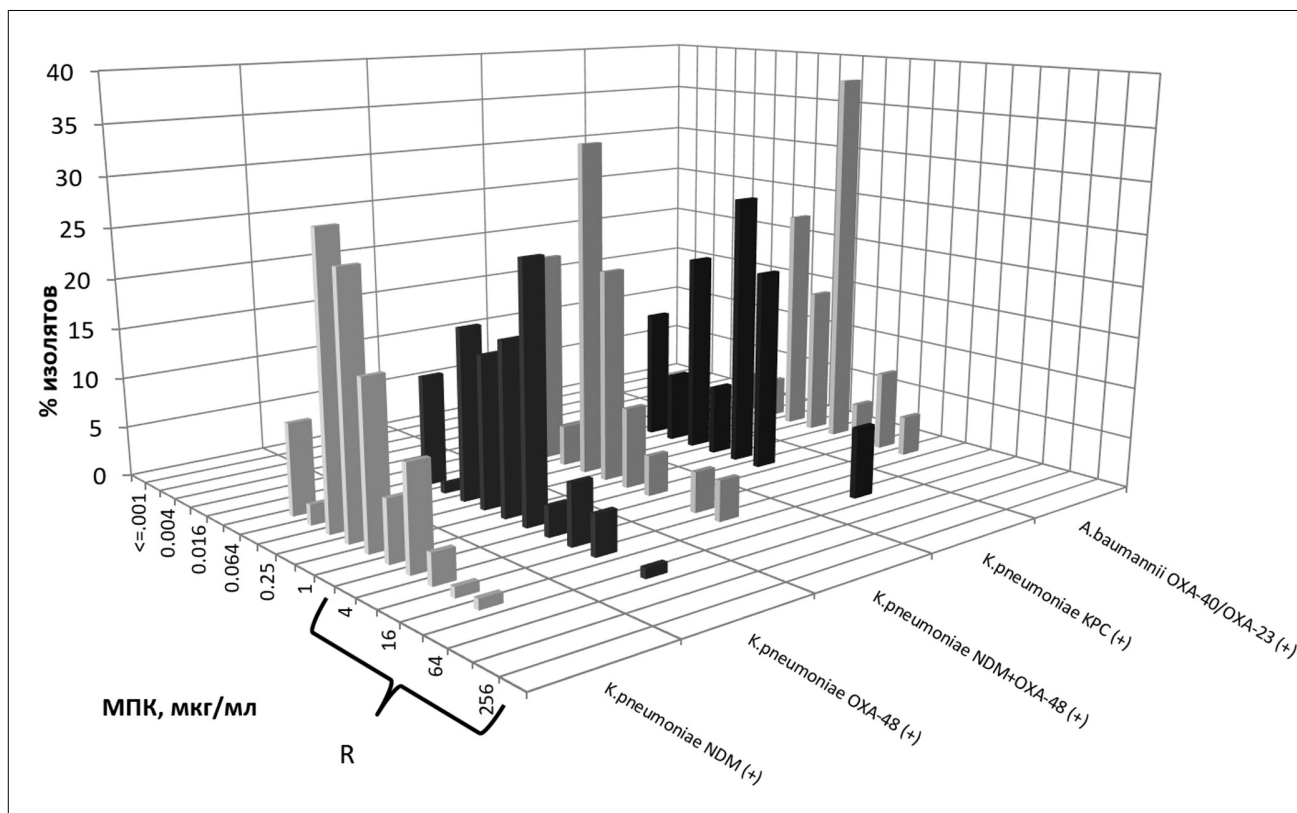


Рис. 2. Распределение МПК тигециклина в отношении продуцентов различных карбапенемаз.

R — диапазон значений МПК соответствующих устойчивости согласно критериям EUCAST (МПК > 2 мкг/мл).

тельность, соответственно 43,1 и 26,2% изолятов. Наибольший уровень чувствительности был характерен для полимиксина и тигециклина 84,7 и 61,1%, соответственно.

Ко-продуценты ферментов NDM-типа и ОХА-48-типа сохраняли чувствительность к полимиксину и тигециклину (соответственно, 95,8 и 87,5% чувствительных изолятов), единичные изоляты были также чувствительны к амикацину. Промежуточный уровень чувствительности к карбапенемам проявил лишь один изолят из 24.

Изоляты *A.baumannii*, продуцирующие карбапенемазы ОХА-40-типа и/или ОХА-23-типа, продемонстрировали высокий уровень устойчивости ко всем бета-лактамам, аминогликозидам и ципрофлоксацину. МПК цефалоспоринов, аминогликозидов и ципрофлоксацина были равны или превышали 128 мкг/мл. Изоляты проявляли 100% резистентность к имипенему и меропенему, со значениями МПК от 16 до 32 мкг/мл и более для имипенема, и 32 мкг/мл и более — для меропенема. 61,5% изолятов проявляли устойчивость к ко-тримоксазолу. Все изоляты проявляли чувствительность к полимиксину В. EUCAST в настоящее время не определил критерии чувствительности *A.baumannii* к тигециклину. Распределение МПК тигециклина в отношении *A.baumannii* и *K.pneumoniae* свидетельствует о сходной

микробиологической активности антибиотика в отношении указанных бактерий (рис. 2).

Результаты оценки антибиотикочувствительности редких продуцентов карбапенемаз не вошли в табл. 2. Два изолята *Enterobacter cloacae*, продуцирующие VIM-4, характеризовались резистентностью к цефалоспорином всех поколений, аминогликозидам и ципрофлоксацину, при этом отличались низкими значениями МПК к карбапенемам (0,5 и 1 мкг/мл — к имипенему; 1 и 4 мкг/мл — к меропенему). *Enterobacter cloacae*, продуценты ОХА-48-like (2 изолята) и KPC (1 изолят) также частично характеризовались более низкими значениями МПК к карбапенемам (4 мкг/мл — к имипенему; 2, 8 и 16 мкг/мл — к меропенему), чем продуценты, относящиеся к другим видам Enterobacteriaceae. Все изоляты *Enterobacter cloacae* проявляли чувствительность к полимиксину В и тигециклину. Изолят *E.coli*, продуцент фермента NDM-типа, выделенный от пациента в одном из стационаров Санкт-Петербурга, демонстрировал резистентность к цефалоспорином, карбапенемам, ципрофлоксацину, амикацину и ко-тримоксазолу, но сохранял чувствительность к гентамицину, полимиксину и тигециклину. Также был обнаружен изолят *P.mirabilis*, продуцирующий фермент NDM-типа, проявляющий устойчивость ко всем протестированным антибиотикам.

Обсуждение результатов

В настоящее время карбапенемы составляют основу терапии инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью, в том числе, *K.pneumoniae* и *A.baumannii*. Однако, глобальное распространение среди указанных патогенов ферментов карбапенемаз ставит под угрозу эффективность антибиотиков этой группы.

Представленные результаты не позволяют дать количественную оценку распространённости продуцентов карбапенемаз на территории России, поскольку изоляты из большинства медицинских учреждений попадали в коллекцию спорадически. Тем не менее, факт обнаружения и выделения в течение нескольких лет всех четырёх глобально распространённых групп карбапенемаз (NDM, KPC, OXA-48 и VIM) среди представителей Enterobacteriaceae в Санкт-Петербурге, Москве и ещё в шести городах однозначно свидетельствует о реальной угрозе этого механизма резистентности для системы здравоохранения Российской Федерации.

Основным продуцентом карбапенемаз среди энтеробактерий в России, как и в других регионах мира, оказалась *K.pneumoniae* [12, 16]. Среди *K.pneumoniae*, циркулирующих в стационарах Санкт-Петербурга, частота распространения продукции карбапенемаз достигла 9,2%, при этом чаще всего обнаруживали NDM-тип (у 5,9% изолятов). Из других энтеробактерий продукция ферментов NDM-типа была выявлена у одного изолята *E.coli* и одного — *P.mirabilis*. В Москве и других городах преобладали *K.pneumoniae*, продуцирующие OXA-48. В Санкт-Петербурге эти карбапенемазы выявляли у 1,4% изолятов *K.pneumoniae*, ещё у 1,9% была выявлена одновременная продукция ферментов OXA-48- и NDM-типов. В настоящее время невозможно оценить, насколько существенны различия в распространении отдельных типов карбапенемаз между Санкт-Петербургом и другими городами России. *K.pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы KPC-типа, выявляли только в Санкт-Петербурге, при этом их распространённость явно невысокая, поскольку в ходе кросс-секционного исследования в марте 2016 г. они не были обнаружены. Карбапенемазы VIM-4 были выявлены лишь у двух изолятов *E.cloacae*. Оценка распространения карбапенемаз среди *A.baumannii* не была основной целью исследования, тем не менее, полученные данные о преобладании среди этих бактерий карбапенемаз OXA-40-, OXA-23-типов и их комбинаций представляют определённый интерес.

Вопрос об источниках появления продуцентов карбапенемаз в России в настоящее время не решён. Учитывая значительное генетическое разнообразие продуцентов, прежде всего *K.pneumoniae*, можно предположить множественность слу-

чаев импорта этих патогенов. Однако сценарий импорта продуцентов карбапенемаз подтверждён лишь в одном случае, когда у изолята *K.pneumoniae*, выделенного в Санкт-Петербурге, было показано сходство плазмид и мобильных генетических элементов, несущих гены карбапенемазы KPC-2, с таковыми из Юго-Восточной Азии [17].

Представленные в работе данные имеют определённое значение для планирования этиотропной терапии инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз. Данные, полученные в недавних исследованиях и суммированные в обзорах и мета-анализах [18–22], свидетельствуют о том, что в виде монотерапии ни одни из доступных в настоящее время антибиотиков не обладает достаточной эффективностью при лечении инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз. В состав схем комбинированной терапии обычно входят карбапенемы, тигециклин, полимиксин, аминогликозиды, фосфомицин и иногда рифампин, однако конкретный состав комбинаций не обоснован.

Как уже было отмечено, карбапенемы проявляют клиническую эффективность при инфекциях, вызванных продуцентами карбапенемаз, если МПК этих антибиотиков в отношении возбудителя не превышает 8 мкг/мл [16]. Необходимо также помнить, что продлённые инфузии карбапенемов более эффективны в сравнении с болюсным введением [23], а также, что карбапенемы необходимо использовать в комбинации с другими активными антибиотиками [24]. Оценивая возможность применения карбапенемов в отношении продуцентов карбапенемаз, циркулирующих в России, следует отметить, что эмпирическое назначение этих антибиотиков, не основанное на данных количественного определения чувствительности патогенов, может быть связано со значительным риском неудачи лечения. В современных условиях применение карбапенемов в составе различных комбинаций наиболее реально при инфекциях, вызванных продуцентами OXA-48, поскольку среди них около 40% проявляют чувствительность к имипенему и меропенему на уровне МПК ≤ 8 мкг/мл. Вопрос о возможности применения карбапенемов при более высоких значениях МПК не решён. Согласно экспертной оценке, применение карбапенемов при МПК выше 16 мкг/мл нецелесообразно [25]. В то же время имеется экспериментальное наблюдение об эффективности сверхвысоких доз карбапенемов (до 24 г меропенема в сутки) в комбинации с полимиксином в отношении штаммов с МПК 64 мкг/мл [26]. Несмотря на высокий уровень устойчивости *in vitro*, хорошие результаты лечения продуцентов KPC карбапенемаз отмечают при сочетанном использовании эртапенема и меропенема [27].

Антибиотиком, который практически всегда включают в комбинации для лечения инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз, является тигециклин. Тигециклин зарегистрирован для применения при интраабдоминальных инфекциях, инфекциях кожи мягких тканей, а также внебольничной пневмонии, кроме этого, антибиотик достаточно широко применяется и при инфекциях другой локализации. Результаты клинических исследований тигециклина суммированы в ряде мета-анализов, согласно выводам работы [28] по показателю летальности схемы лечения с тигециклином не уступают препаратам сравнения, в других исследованиях показано, что летальность при лечении тигециклином выше [29]. В одной из более новых работ анализ результатов лечения инфекций, вызванных только карбапенемостойчивыми возбудителями, показал, что летальность при применении комбинаций из двух и, особенно, из трёх антибиотиков с включением тигециклина существенно ниже, чем при монотерапии [30]. Тигециклин не показан для лечения инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp., EUCAST не предлагает критериев чувствительности, в то же время имеются попытки off label применения антибиотика в составе различных комбинаций для указанных целей. Однако результаты недавно опубликованного мета-анализа свидетельствуют о субоптимальной эффективности тигециклина в стандартных дозировках при *A.baumannii* инфекциях [31].

В целом, необходимо чётко представлять, что применение тигециклина наиболее обосновано в тех случаях, когда возбудитель устойчив к подавляющему большинству доступных антибиотиков и, что данные о чувствительности к антибиотику конкретного возбудителя имеют принципиальное значение. Несмотря на достаточно длительную историю клинического применения, устойчивость к тигециклину среди Enterobacteriaceae, по данным международных многоцентровых исследований, сохраняется на невысоком уровне (приблизительно 5–10%) [32, 33]. По данным настоящего исследования, частота устойчивости среди продуцентов различных карбапенемаз колебалась в пределах 6,7–14,8%, что позволяет оценивать тигециклин как базовый препарат для лечения соответствующих инфекций.

Реальные возможности лечения инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз, также связаны с антибиотиками группы полимиксинов

(полимиксин В и колистин). Клиническая эффективность полимиксинов при чувствительности к ним возбудителей инфекции хорошо доказана, но необходимо отметить, что, по крайней мере, колистин серьёзно уступает по эффективности препаратам сравнения [34], соответственно его применение обосновано только при устойчивости возбудителя к антибиотикам других групп. Серьёзным недостатком полимиксинов является возможность развития резистентности в процессе терапии, а также недавно обнаруженная плазмидная локализация генов резистентности [35], что создаёт потенциальную угрозу её быстрого распространения. Несмотря на некоторые недостатки, полимиксины остаются важнейшим компонентом комбинированной терапии инфекций, вызванных карбапенемостойчивыми бактериями. Частота устойчивости к полимиксинам среди продуцентов карбапенемаз достигает в России в некоторых случаях 20%, что вызывает определённые опасения. К крайне неблагоприятным тенденциям следует отнести выявление единичных изолятов, проявляющих резистентность ко всем доступным антибиотикам, включая тигециклин и полимиксины.

Из других антибиотиков, применение которых возможно при лечении инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз, следует отметить аминогликозиды. Так, 50% продуцентов карбапенемазы ОХА-48 сохраняли промежуточную или полную чувствительность к амикацину, среди продуцентов КРС к таким относились более 30% изолятов.

В заключение следует отметить, что, несмотря, на множественную устойчивость продуцентов карбапенемаз, при корректной микробиологической диагностике и количественной оценке антибиотикочувствительности сохраняются определённые возможности для эффективного лечения инфекций, вызванных этими крайне опасными патогенами.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00563) и гранта компании Пфайзер на независимые исследования. Авторы выражают благодарность коллективам бактериологических лабораторий, отдельным врачам и эпидемиологам, принявшим участие в работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Glasner C., Albiger B., Buist G., Tambic Andrasevic A., Canton R., Carmeli Y., Friedrich A.W., Giske C.G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. Euro Surveill 2013; 18 (28): pii=20525. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20525>.
2. Albiger B., Glasner C., Struelens M., Grundmann H., Monnet D., group. tESoC-PEEW: May 2015. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, . Euro Surveill 2015; 20(45): pii=30062 DOI: <http://dxdoiorg/102807/1560-7917ES2015204530062> 2015.
3. Агеев В.А., Партина И.В., Лисицына Е.С., Батыршин И.М., Попенко Л.Н., Шляпников С.А., Ильина Е.Н., Сидоренко С.В. Первое обнаружение металло-бета-лактамазы NDM-типа в многопрофильном стационаре в России. Медицинский академический журнал 2012, 12: 43–45. / Ageev V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Bityrshin I.M., Popenko L.N., Shlyapnikov S.A., Il'ina E.N., Sidorenko S.V. Pervoe obnaryzhenie metallo-beta-laktamazy NDM-tipa v mnogo-profil'nom stacionare v Rossii. Medicinskij akademicheskij zhurnal 2012, 12: 43–45. [in Russian]

4. Barantsevich E.P., Churkina I.V., Barantsevich N.E., Pelkonen J., Schlyakhto E.V., Woodford N. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 carbapenemase in Saint Petersburg, Russia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2013, 68: 1204–1206.
5. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilina E.N., Lobzin Y.V., Shlyapnikov S.A., Sidorenko S.V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int J Antimicrob Agents* 2014, 44: 152–155.
6. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования Марафон в 2011–2012 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2014, 16: 254–265 / Suhorukova M.V., Ejdel'shtejn M.V., Sklelenova E.Ju., Ivanchik N.V., Timohova A.V., Dehnich A.V., Kozlov R.S. Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov Enterobacteriaceae v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologicheskogo issledovanija Marafon v 2011–2012 gg. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimirnaja himioterapija* 2014, 16: 254–265. [in Russian]
7. Fursova N., Astashkin E., Knyazeva A., Kartsev N., Leonova E., Ershova O., Alexandrova I., Kurdyumova N., Szakina S., Volozhantsev N. et al. The spread of blaOXA-48 and blaOXA-244 carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter* spp. isolated in Moscow, Russia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2015, 14: 46.
8. Сидоренко С.В., Резван С.П., Еремина Л.В., Поликарпова С.В., Карабак В.И., Меньшикова Е.Д., Тишков В.И., Черкашин Е.А., Белобородов В.Б. Этиология тяжёлых госпитальных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии и антибиотикорезистентность возбудителей. Антибиотики и химиотерапия 2005, 50: 33–41. / Sidorenko S.V., Rezvan S.P., Eremina L.V., Polikarpova S.V., Karabak V.I., Men'shikova E.D., Tishkov V.I., Cherkashin E.A., Beloborodov V.B. Jetiologija tjazhelyh gospi tal'nyh infekcij v otdelenijah reanimacii i intensivnoj terapii i antibiotikorezistentnost' vozбудitelej. *Antibiotiki i khimioterapija* 2005, 50: 33–41. [in Russian]
9. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. «МАРАФОН» иг: Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. *Клин Микробиол Антимикроб Химиотер* 2014; 2014, 16: 266–271. / Suhorukova M.V., Ejdel'shtejn M.V., Sklelenova E.Ju., Ivanchik N.V., Timohova A.V., Shek E.A., Dehnich A.V., Kozlov R.S., «MARAFON» ig: Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov *Acinetobacter* spp. v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologicheskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. *Klin Mikrobiol Antimikrob Himioter* 2014; 2014, 16: 266–271. [in Russian]
10. INTERNATIONAL STANDARD ISO 20776-1. Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
11. EUCAST. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version 6.0. January 2016. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
12. Pitout J.D., Nordmann P., Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrob Agents Chemother* 2015, 59: 5873–5884.
13. Chen L., Mathema B., Pitout J.D., DeLeo F.R., Kreiswirth B.N. Epidemic *Klebsiella pneumoniae* ST258 is a hybrid strain. *MBio* 2014, 5: e01355–01314.
14. Borer A., Saidel-Odes L., Eskira S., Nativ R., Riesenber K., Livshitz-Riven I., Schlaeffer F., Sherf M., Peled N. Risk factors for developing clinical infection with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients initially only colonized with carbapenem-resistant *K.pneumoniae*. *Am J Infect Control* 2012, 40: 421–425.
15. Tzouveleki L.S., Miriagou V., Kotsakis S.D., Spyridopoulou K., Athanasiou E., Karagouni E., Tzelepi E., Daikos G.L. KPC-producing, multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 258 as a typical opportunistic pathogen. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2013, 57: 5144–5146.
16. Tzouveleki L.S., Markogiannakis A., Psychogiou M., Tassios P.T., Daikos G.L. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clinical Microbiology Reviews* 2012, 25: 682–707.
17. Ageevets V., Sopova J., Lazareva I., Malakhova M., Ilina E., Kostriukova E., Babenko V., Carattoli A., Lobzin Y., Uskov A., Sidorenko S. Genetic environment of the blaKPC-2 gene in *Klebsiella pneumoniae* isolate which may have been imported to Russia from Southeast Asia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016.
18. Falagas M.E., Lourida P., Poulidakos P., Rafailidis P.I., Tansarli G.S. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014, 58: 654–663.
19. Falagas M.E., Karageorgopoulos D.E., Nordmann P. Therapeutic options for infections with Enterobacteriaceae producing carbapenem-hydrolyzing enzymes. *Future Microbiol* 2011, 6: 653–666.
20. Lee G.C., Burgess D.S. Treatment of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2012, 11: 32.
21. Morrill H.J., Pogue J.M., Kaye K.S., LaPlante K.L. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infectious Diseases* 2015, 2.
22. Qureshi Z.A., Paterson D.L., Potoski B.A., Kilayko M.C., Sandovsky G., Sordillo E., Polsky B., Adams-Haduch J.M., Doi Y. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2012, 56: 2108–2113.
23. Vourli S., Tsala M., Kotsakis S., Daikos G.L., Tzouveleki L., Miriagou V., Zerva L., Meletiadis J. Comparison of short versus prolonged infusion of standard dose of meropenem against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in different patient groups: a pharmacokinetic-pharmacodynamic approach. *J Pharm Sci* 2016, 105: 1513–1518.
24. Daikos G.L., Tsaousi S., Tzouveleki L.S., Anyfantis I., Psychogiou M., Argyropoulou A., Stefanou I., Sympa V., Miriagou V., Nepka M. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014, 58: 2322–2328.
25. Bassetti M., Peghin M., Pecori D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis* 2016, 29: 583–594.
26. Lenhard J.R., Bulitta J.B., Connell T.D., King-Lyons N., Landersdorfer C.B., Cheah S.-E., Thamlikitkul V., Shin B.S., Rao G., Holden P.N. et al. High-intensity meropenem combinations with polymyxin B: new strategies to overcome carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2017, 72: 153–165.
27. Oliva A., D'Abramo A., D'Agostino C., Iannetta M., Mascellino M.T., Gallinelli C., Mastroianni C.M., Vullo V. Synergistic activity and effectiveness of a double-carbapenem regimen in pndrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *J Antimicrob Chemother* 2014, 69: 1718–1720.
28. Tasina E., Haidich A.B., Kokkali S., Arvanitidou M. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *The Lancet infectious diseases* 2011, 11: 834–844.
29. Shen F., Han Q., Xie D., Fang M., Zeng H., Deng Y. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of severe infectious diseases: an updated meta-analysis of RCTs. *Int J Infect Dis* 2015, 39: 25–33.
30. Ni W., Han Y., Liu J., Wei C., Zhao J., Cui J., Wang R., Liu Y. Tigecycline treatment for carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016, 95: e3126.
31. Ni W., Han Y., Zhao J., Wei C., Cui J., Wang R., Liu Y. Tigecycline treatment experience against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2016, 47: 107–116.
32. Sader H.S., Castanheira M., Flamm R.K., Mendes R.E., Farrell D.J., Jones R.N. Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010–2013). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015.
33. Kehl S.C., Dowzicky M.J. Global assessment of antimicrobial susceptibility among Gram-negative organisms collected from pediatric patients between 2004 and 2012: results from the tigecycline evaluation and surveillance trial. *J Clin Microbiol* 2015, 53: 1286–1293.
34. Yahav D., Farbmán L., Leibovici L., Paul M. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2012, 18: 18–29.
35. Liu Y.-Y., Wang Y., Walsh T.R., Yi L.-X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Dong B., Huang X. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases* 2016, 16: 161–168.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лазарева Ирина Владимировна — научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт

детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Агеев Владимир Андреевич — младший научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский

институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Ершова Татьяна Александровна — лаборант-исследователь отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Зуева Людмила Павловна — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующая кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Гончаров Артемий Евгеньевич — к.м.н., доцент, заведующий лабораторией кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов отдела молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Дарьина Мария Геннадьевна — к.м.н., заведующая отделом организационно-методического сопровождения и мониторинга медицинской деятельности Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Медицинский информационно-аналитический центр»; доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфекто-

гии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Светличная Юлия Сергеевна — врач-эпидемиолог сектора госпитальной эпидемиологии отдела организационно-методического сопровождения и мониторинга медицинской деятельности Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Медицинский информационно-аналитический центр»; ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Усков Александр Николаевич — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»; профессор кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Влияние противовирусной терапии на частоту развития бактериальных осложнений и назначения антибактериальных препаратов для системного использования у пациентов с ОРВИ и гриппом (результаты международного когортного наблюдательного исследования FLU-EE)

В. Х. ФАЗЫЛОВ¹, И. Г. СИТНИКОВ², Н. А. МАЛЫШЕВ³, Е. В. СИЛИНА⁴,
С. Б. ШЕВЧЕНКО⁴, Г. А. ЕГАНЫАН⁵, Б. М. КОРСАНТИЯ⁶, Л. Г. ГРОППА⁷

¹ Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань

² Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России, Ярославль

³ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва

⁴ Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

⁵ Ереванский государственный медицинский университет им. Мхитара Гераци, Ереван, Армения

⁶ Институт медицинской биотехнологии им. Вл. Бахуташвили Тбилисского Государственного медицинского университета, Тбилиси, Грузия

⁷ Государственный университет медицины и фармации им. Николае Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова

The Effect of Antiviral Therapy on the Incidence of Bacterial Aggravations and Administration of Systemic Antibiotics in Patients with Acute Respiratory Viral Infections and Influenza (Results of International Cohort Observational Study)

V. CH. FAZYLOV¹, I. G. SITNIKOV², N. A. MALYSHEV³, E. V. SILINA⁴, S. B. SHEVSHENKO⁴,
G. A. EGANYAN⁵, B. M. KORSANTIYA⁶, L. G. GROPPA⁷

¹ Kazan State Medical University, Department of Infection Diseases

² Yaroslav State Medical University, Department of Infection Diseases, Epidemiology and Pediatric Infections

³ Moscow State Medical and Stomatological University by A.I.Evdokimov, Department of Infection Diseases

⁴ First Moscow State Medical University by I.M.Sechenov, Department of Human Pathology

⁵ Erevan State Medical University by Mhitar Geraci, Department of Internal Diseases Diagnostics

⁶ Institute of Medical Biotechnology by V.Bahutashvili, Tbilisi State Medical University, Department of Immunorehabilitation

⁷ State University of Medicine and Pharmacy by N.Testemianu, Department of Internal Diseases, Rheumatology and Nephrology, Moldova

Цель. Оценка частоты развития бактериальных осложнений и антибиотикотерапии у амбулаторных пациентов с ОРВИ и гриппом с анализом эффективности противовирусного лечения. **Материал и методы.** Проведено международное когортное открытое неинтервенционное исследование «Лечение ОРВИ и гриппа в рутинной клинической практике». Проанализированы результаты лечения 18946 пациентов в возрасте 18–93 лет с установленным клинически диагнозом ОРВИ или гриппа, проходивших амбулаторное лечение в 262 центрах России, Молдовы, Армении и Грузии. Одна группа пациентов получала лечение, согласно принятым и применяемым в соответствующей стране схемам комплексного лечения ОРВИ и гриппа; в другую группу вошли пациенты, получавшие в составе комплексного лечения противовирусный препарат Кагоцел® (Россия). На каждом из трёх визитов оценивали клиническую симптоматику (в баллах), наличие бактериальных осложнений, эффективность назначенной лекарственной, в т.ч. антибактериальной, терапии. **Результаты.** Бактериальные осложнения зарегистрированы в 8,3% случаев, а системные антибиотики назначались врачами в 9,3%. Частота развития бактериальных осложнений и назначения системных антибиотиков увеличивается пропорционально возрасту пациентов, тяжести заболевания, срокам обращения к врачу и начала лечения. Назначение препарата кагоцел в составе комплексного лечения гриппа и ОРВИ способствует сокращению числа бактериальных осложнений в 1,65 раза ($p < 0,01$), а также снижению назначения системной антибактериальной терапии в 1,51 раза ($p < 0,01$), что приводит к улучшению исхода заболевания при различных сроках начала терапии. Максимальная эффективность и меньшее число осложнений лечения зарегистрировано у лиц трудоспособного возраста. **Выводы.** Противовирусная терапия показала свою эффективность при лечении ОРВИ и гриппа, её применение приводит к снижению частоты развития бактериальных осложнений.

Ключевые слова: острая респираторная вирусная инфекция, грипп, бактериальные осложнения, противовирусная терапия, кагоцел, антибактериальная терапия.

Objective: to evaluate the incidence of bacterial aggravations and antibiotics administration with analysis of effectiveness of antiviral therapy in ambulatory patients with acute viral respiratory infection (ARVI) and influenza. **Material and methods.**

© Коллектив авторов, 2016

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

International cohort open non-interventional study «Treatment of ARVI and influenza in routine clinical practice» was conducted. The data analysis covers treatment results of 18946 ambulatory patients aged 18–93 years with clinical diagnosis of ARVI or influenza in 262 centers in Russia, Moldova, Armenia and Georgia. One group of patients received treatment in accordance with approved and applicable in their country schemes of complex treatment of ARVI and influenza; other group included patients treated with the complex treatment including antiviral drug Kagocel® (Russia). On each of 3 visits were evaluated clinical symptoms (in scores), the presence of bacterial aggravations, and the effectiveness of drug treatment including antibacterial therapy. **Results.** Bacterial aggravations were recorded in 8.3% cases, and systemic antibiotics were prescribed by doctors in 9.3% cases. The incidence of bacterial aggravations and administration of systemic antibiotics increased proportionally to the age of patients, severity of disease, times of first visit to the doctor and the start of treatment. Prescription of Kagocel® in the complex treatment of ARVI and influenza contributes to reduction of number of bacterial aggravations in 1.65 times ($p<0.01$) and decreases necessity of systemic antibiotic therapy in 1.51 times ($p<0.01$), which leads to better disease outcome at various therapy start times. Maximum efficiency and fewer treatment aggravations were recorded for working age patients. **Conclusions.** Antiviral therapy has shown its effectiveness in the treatment of ARVI and influenza, its implementation leads to decrease of bacterial aggravations incidence.

Key words: influenza, acute respiratory viral infection, bacterial complications, antiviral therapy, Kagocel®, antibacterial therapy.

Введение

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и грипп остаются в центре внимания клинической медицины, что связано с регулярно повторяющимися эпидемиями и значительными трудопотерями. Во время тяжёлых эпидемий, вызываемых вирусом гриппа, в эпидемический процесс вовлекаются до 50% населения [1–3]. В России регистрируются 27,3–41,2 млн случаев ОРВИ в год, доля которых достигает 95% в структуре всех инфекционных заболеваний [1, 4].

Интоксикация, а также другие последствия ОРВИ и гриппа могут стать причиной обострения уже имеющихся соматических (в т.ч. хронических) заболеваний и присоединения различных бактериальных инфекций, а в тяжёлых случаях и смерти больных. От ОРВИ и гриппа ежегодно в мире умирают около 4,5 млн человек, при этом на долю вируса гриппа приходится около 250 тыс летальных исходов [3, 4]. В России при заболевании гриппом наиболее высокая частота госпитализаций отмечается в возрастной группе от 18 до 64 лет, а летальность в отделениях реанимации достигает 46%. Основными причинами летального исхода являются тяжёлое течение, сопровождающееся развитием одно- или двусторонних вирусных пневмоний, регистрирующихся у 30% взрослых госпитализированных пациентов, а также развитие бактериальных осложнений и полиорганной недостаточности [5]. Частота бактериальных осложнений, составляет, по данным разных авторов, от 7,5 до 23% [6–8].

Антибактериальная терапия для системного применения необходима в случае развития бактериальных осложнений. Также она рекомендуется с профилактической целью при тяжёлых формах ОРВИ и гриппа пациентам с синуситами, ринитами, отитами и другими хроническими патологиями. При лёгком и среднетяжёлом течении ОРВИ назначение антибиотиков не рекомендуется [9, 10], так как это может вызвать развитие лекарственной устойчивости возбудителей, а также за-

медлить процесс выздоровления и ухудшить исход в связи с побочными и нежелательными явлениями антибиотикотерапии. Вопросы применения системных антибиотиков при ОРВИ и гриппе до сих пор остаются дискуссионными. Ряд авторов полагают, что роль бактериальной инфекции сильно переоценена, а назначение антибактериальной терапии происходит значительно чаще, чем требуется [11, 12].

Учитывая эпидемиологическую актуальность, ВОЗ рекомендует вакцинацию населения от гриппа. Однако постоянные изменения штаммов вирусов не позволяют заранее точно предсказать будущую угрозу. Это ставит под сомнение вакцинацию в качестве единственного патогенетически обоснованного метода профилактики гриппа. Поэтому поиск эффективных универсальных противовирусных препаратов остается по-прежнему актуальной задачей.

Для изучения эффективности существующих схем лечения ОРВИ и гриппа было проведено когортное многоцентровое международное открытое неинтервенционное исследование FLU-EE «Лечение ОРВИ и гриппа в рутинной клинической практике» [13]. Целью настоящей работы является оценка частоты развития бактериальных осложнений и частоты назначения системных антибактериальных препаратов у пациентов с ОРВИ и гриппом с анализом эффективности противовирусного препарата кагоцел. Основными задачами данной работы стали: изучение назначаемых при гриппе и ОРВИ лекарственных средств; анализ частоты осложнений ОРВИ и гриппа, требующих назначения системных антибиотиков (АБ), а также частоты назначения АБ, в т.ч. в зависимости от возраста пациентов и сроков начала лечения; изучение влияния препарата кагоцел на частоту развития бактериальных осложнений и частоту назначения системных АБ с анализом групп АБ по международной классификации (коды АТХ); изучение исхода заболевания и сроков выздоровления в группах пациентов, получавших и не получавших препарат кагоцел.

Материал и методы

Проанализированы результаты лечения 18 946 пациентов, в том числе 8 085 мужчин (42,7%) и 10 861 женщин (57,3%), в возрасте от 18 до 93 лет (средний возраст $42,7 \pm 15,1$ лет, медиана 40 лет) с клинически установленным диагнозом ОРВИ или гриппа, проходивших амбулаторное лечение в 262 лечебно-профилактических учреждениях России, Молдовы, Армении и Грузии. 79,6% ($n=15\,087$) человек были трудоспособного возраста (согласно ТК РФ: женщины до 55 лет, мужчины до 60 лет), 20,4% ($n=3\,859$) пациентов были пенсионного возраста. Обращение за медицинской помощью на 1–2 сутки заболевания (раннее) было зарегистрировано в 76,8% ($n=14\,555$) случаях, включая 7 437 (39,3%) пациентов, обратившихся и начавших получать соответствующее лечение с 1-х суток заболевания. На 3-й день и позднее с момента появления первых симптомов гриппа и ОРВИ к врачу обратилось 4 391 (23,2%) человек, которые были отнесены к подгруппе позднего обращения.

По окончании исследования для анализа результатов пациенты были разделены на группы в зависимости от назначенной противовирусной терапии. Одна группа была сформирована из пациентов, которые получали комплексное лечение ОРВИ и гриппа по схемам, применяемым в этих странах (группа сравнения, $n=1\,680$), другая группа дополнительно в составе комплексного лечения получала противовирусный препарат кагоцел ($n=17\,266$). Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести заболевания и срокам обращения за медицинской помощью.

Согласно протоколу исследования, анализировались данные 3 визитов пациента к врачу без регламентирования промежутков времени между ними. В среднем 2-й визит проводился через 3 суток (при межквартильном интервале 3 / 4 день), 3-й визит — через 6 дней после первого (при межквартильном интервале 5 / 8 день). На каждом визите осуществлялась оценка состояния пациентов с регистрацией выраженности клинических симптомов (температура тела, озноб, слабость, боль в мышцах и/или суставах, ринит, зуд в горле, кашель, склерит/ конъюнктивит, головная боль), проводилось измерение артериального давления и числа сердечных сокращений. Выполнялась оценка назначенной в динамике лекарственной терапии, оценка осложнений, требующих назначения системных антибиотиков.

Проведение исследования «Лечение ОРВИ и гриппа в routine клинической практике» на территории РФ было одобрено Независимым междисциплинарным Комитетом по этической экспертизе клинических исследований. Оно получило одобрение Локального этического комитета Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет». Проведение исследования FLU-EE в Армении, Грузии и на территории Молдовы было одобрено «Фрайбургским международным Этическим Комитетом», на территории

Армении исследование получило так же одобрение Комитета по Этике Ереванского государственного медицинского университета им. Мхитара Гераци. В Грузии исследование было одобрено «Национальным центром контроля заболеваний и общественного здоровья».

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием программы SPSS с применением стандартных параметрических и непараметрических критериев оценки статистической значимости. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Описательная статистика качественных параметров представлена в виде частот (абс, %), количественных — медиана (Me), среднее $\pm$ стандартное отклонение, а также нижний и верхний квартиль в случае, когда параметр имел функцию распределения, далекую от нормального. Нормальным принималось распределение, у которого критерий отклонения Колмогорова-Смирнова от теоретически нормального распределения был выше 0,05. Для сравнения двух независимых непараметрических выборок использовали критерий Манна-Уитни, для множественного сравнения — Краскелла-Уоллиса. Для сравнения двух зависимых непараметрических выборок использовали критерий Уилкоксона, для множественного сравнения — Фридмана. Количественные данные с нормальным распределением оценивали с помощью теста Стьюдента, а также Ньюмана-Кейлса для множественных сравнений. Качественные переменные сравнивались с помощью теста χ^2 (хи-квадрат Пирсона, анализ таблиц сопряженности).

Результаты

При анализе назначенной терапии было установлено, что число назначаемых препаратов варьировало от 1 до 11, в среднем (медиана) пациенты получали 3 препарата на протяжении всего исследования. Согласно международной классификации лекарственных средств по кодам АТХ, наиболее часто назначались препараты группы J (противомикробные средства для системного применения), их получали 17 680 человек (93,3%), а также препараты группы R (для лечения патологий дыхательной системы), которые были назначены 11 137 (58,8%) пациентам (табл. 1). На третьем месте по частоте назначались препараты группы N (нервная система; $n=4\,783$; 25,2%) за счёт входящих в эту группу жаропонижающих средств (анилинов), на четвёртом — препараты группы M (костно-мышечная система; $n=2\,663$; 14,1%) преимущественно за счёт входящих в эту группу НПВС, назначаемых с той же целью; на

Таблица 1. Частота принимаемых лекарственных средств, классифицируемых по первому уровню кода АТХ

Группа лекарственных средств		Абс. (n)	%
A	Пищеварительный тракт и обмен веществ	2085	11,0
B	Препараты, влияющие на кроветворение и кровь	444	2,3
C	Сердечно-сосудистая система	1643	8,7
D	Лечение заболеваний кожи (дерматология)	351	1,9
G	Мочеполовая система и половые гормоны	20	0,1
H	Гормональные препараты	47	0,2
J	Противомикробные для системного использования	17680	93,3
L	Противоопухолевые и иммунные препараты	217	1,2
M	Костно-мышечная система	2663	14,1
N	Нервная система	4783	25,2
R	Дыхательная система	11137	58,8
S	Органы чувств	170	0,9
V	Прочие препараты	51	0,3

пятом — препараты группы А (пищеварительный тракт и обмен веществ; $n=2085$; 11,0%) за счёт входящих в эту группу средств, предназначенных для лечения заболеваний полости рта, и витаминов. Для лечения ОРВИ и гриппа использовали различные средства за исключением препаратов групп В, С, D, G, H, при этом число одновременно получаемых препаратов для ОРВИ и гриппа варьировало от 1 до 8 ($Me=3$).

Системные антибиотики (АБ) были назначены 1 764 (9,3%) пациентам. Однако осложнения, требующие назначения АБ, были зарегистрированы у 1 580 (8,3%) пациентов. В числе осложнений в основном врачи чаще регистрировали бронхит и трахеобронхит, реже синусит, отит, ангину; пневмония была диагностирована лишь в 0,7% случаев, при этом большинство бактериальных осложнений течения ОРВИ и гриппа регистрировались на 2-м визите. АБ с профилактической целью (без диагностированного бактериального осложнения) были назначены 299 (1,6%) пациентам. В 115 (0,6%) случаях были зарегистрированы осложнения, требующие назначения АБ, однако пациентам их не назначили, в основном по причине добровольного отказа от антибиотикотерапии.

Наиболее часто врачи назначали препараты групп J01C (пенициллины, $n=740/1\ 764$; 42,0%) и J01F (макролиды, линкозамиды; $n=686/1\ 764$; 38,9%). Другие АБ для системного применения (тетрациклины — J01A, другие бета-лактамы — J01D, сульфаниламиды — J01E, производные хинолона — J01M, прочие АБ — J01X) назначались 341 пациенту (19,3%).

Среди препаратов пенициллинового ряда чаще был назначен амоксициллин ($n=467/1\ 764$; 25,9%), бета-лактамы пенициллины в сочетании с клавулановой кислотой назначали в 1,63 раза реже ($n=281/1\ 764$; 15,9%). Ампициллин был назначен лишь одному пациенту, при этом на 3-м визите его сменили на амоксициллин. Сультамициллин получали 4 человека (0,2%).

Группу других бета-лактамов (J01D) применяли в 4,77 раза реже, чем АБ пенициллинового ряда ($n=155/1\ 764$; 8,8%). Среди других системных бета-лактамов антибиотиков чаще был назначен цефтриаксон ($n=73/1\ 764$; 4,1%) и цефиксим ($n=68/1\ 764$; 3,9%). Другие цефалоспорины применяли гораздо реже.

Группа J01F в основном представлена макролидами, среди которых лидирующую позицию занимал азитромицин ($n=487/1\ 764$; 27,6%) и кларитромицин ($n=169/1\ 764$; 9,6%). Значительно реже назначали джозамицин ($n=21/1\ 764$; 1,2%), спирамицин ($n=3/1\ 764$; 0,2%) и эритромицин ($n=2/1\ 764$; 0,1%). Линкозамиды (линкомицин) использовали в единственном случае.

Группа производных хинолона (J01M) применялась у 169 пациентов. Преимущественно она

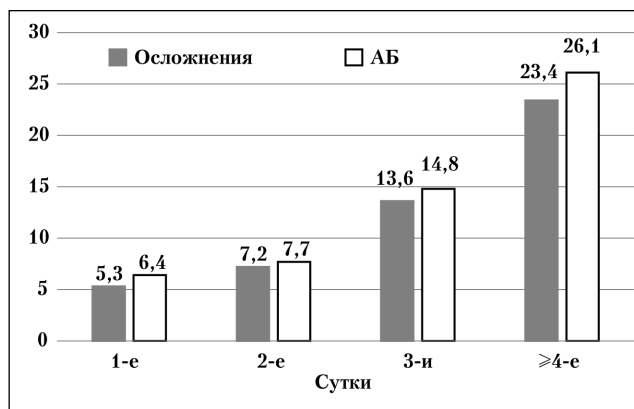


Рис. 1. Частота развития бактериальных осложнений и назначения системных антибиотиков в зависимости от сроков обращения за медицинской помощью и начала лечения ($p<0,001$; χ^2)

представлена фторхинолонами, из которых чаще назначали ципрофлоксацин ($n=86/1\ 764$; 4,9%) и левофлоксацин ($n=75/1\ 764$; 4,3%). Гемифлоксацин был назначен 3 пациентам (0,2%), другие представители группы J01M (офлоксацин, норфлоксацин, моксифлоксацин) использовались крайне редко ($n=1/1\ 764$; 0,1%).

Тетрациклины (J01A) были назначены всего 2 пациентам (0,11%), сульфаниламиды (J01E) — 8 (0,45%).

Прочие АБ для системного использования (группа J01X) были назначены 7 пациентам (0,4%), в том числе метронидазол ($n=1/1\ 764$; 0,1%), нитроксолин ($n=1/1\ 764$; 0,1%) и гидроксиметилхиноксалиндиоксид ($n=5/1\ 764$; 0,3%).

Предварительное микробиологическое исследование на определение чувствительности для подбора оптимальной антибиотикотерапии в большинстве случаев не проводилось, что в условиях амбулаторной практики часто наблюдается.

Частота развития бактериальных осложнений и частота назначения антибиотиков для системного использования при ОРВИ и гриппе увеличивалась пропорционально возрасту пациентов, тяжести заболевания, а также срокам начала лечения (рис. 1). Отсроченное начало лечения ОРВИ и гриппа (с 3 суток и позднее) по сравнению с ранним (на 1—2 суток заболевания) сопровождалось значимым ростом числа осложнений в 2,48 раза (с 6,2 до 15,4%) и частоты антибиотикотерапии в 2,41 раза (с 7,0 до 16,9%).

Среди пациентов, у которых на первом визите была установлена лёгкая степень тяжести, частота назначения системных антибиотиков составила 2,7%, средняя — 8,7%, тяжёлая — 13,5% ($p<0,001$). Увеличение частоты назначения системных АБ пропорционально возрасту (от 8,2% в трудоспособном до 13,7% в пенсионном) и, вероятно, может быть связано с сопутствующей хронической

Таблица 2. Частота бактериальных осложнений в исследуемых группах в зависимости от сроков обращения за медицинской помощью

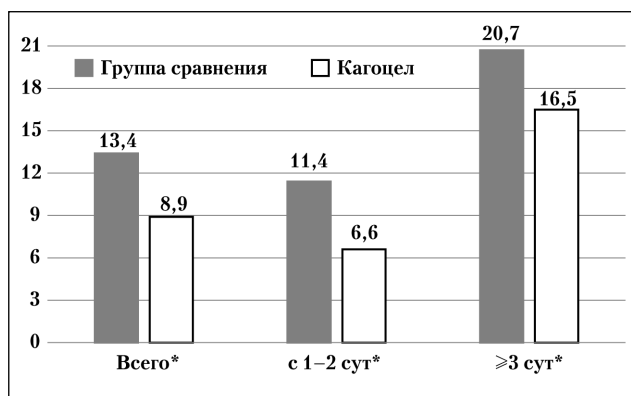
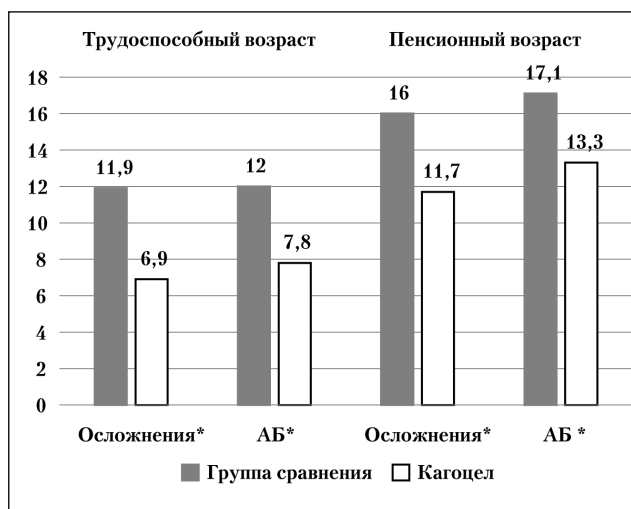
		Группа сравнения	Кагоцел	<i>p</i>	Итого
1-е сут	Осложнения	77 (11,2%)	317 (4,7%)	<0,001 $\chi^2=52,88$	394 (5,3%)
	Без осложнений	609 (88,8%)	6433 (95,3%)		7042 (94,7%)
2-е сут	Осложнения	70 (11,1%)	439 (6,8%)	<0,001 $\chi^2=16,2$	509 (7,2%)
	Без осложнений	561 (88,9%)	6047 (93,2%)		6608 (92,8%)
≥3-и сут	Осложнения	72 (20,0%)	605 (15,0%)	0,009 $\chi^2=6,29$	677 (15,4%)
	Без осложнений	288 (80,0%)	3424 (85,0%)		3712 (84,6%)

соматический патологией, сопровождающейся иммунными нарушениями. Наименьшее число осложнений ОРВИ и гриппа, требующих назначения АБ (менее 10%) зарегистрировано при начале лечения в первые три дня от момента появления клинических симптомов у пациентов в возрасте до 50 лет. Максимальное число осложнений, сопряжённых с назначением системных АБ зарегистрировано при позднем начале лечения у пациентов старших возрастных групп.

В ходе исследования было установлено, что назначение противовирусного препарата кагоцел способствует сокращению числа пациентов с бактериальными осложнениями гриппа и ОРВИ и частоты назначения системных антибактериальных препаратов. Так, осложнения, требующие назначения антибиотиков были зарегистрированы у 8,3% ($n=1\,580$) пациентов, в том числе у 7,9% пациентов из группы кагоцел ($n=1\,361$) и 13,0% группы сравнения ($n=219$). Межгрупповое различие в 1,65 раза является значимым ($p<0,001$). Системные антибиотики были назначены в 8,9% ($n=1\,539$) случаев в группе препарата кагоцел и в 13,4% ($n=225$) случаев в группе сравнения, что в 1,51 раза больше ($p<0,001$).

Анализ частоты назначения системных АБ в зависимости от сроков начала лечения ОРВИ и гриппа показал (рис. 2), что при ранней терапии (1–2 сутки от дебюта заболевания) в группе пациентов, получавших кагоцел, частота назначения системных антибиотиков составила 6,6% (873/13 237), в то время как при отсутствии противовирусной терапии системные антибиотики были назначены 11,4% (150/1 318) пациентам, что статистически значимо в 1,73 раза больше ($p<0,001$). Наиболее существенная разница между группами выявлена среди пациентов, обратившихся за медицинской помощью на 1-е сутки заболевания (5,9% в группе кагоцела и 11,7% в группе сравнения; $p<0,001$). При позднем начале лечения (на 3–7 сутки) в группе кагоцела частота назначения увеличилась до 16,5% (666/4 029). Однако в группе сравнения системные антибиотики были применены у 20,7% (75/362) пациентов, т.е. в 1,26 раза чаще ($p=0,027$).

Аналогичные позитивные результаты обнаружены при анализе частоты бактериальных осложнений в зависимости от сроков начала лечения (табл. 2). Среди пациентов, обратившихся к врачу

**Рис. 2.** Частота назначения системных антибактериальных препаратов в группах пациентов, принимавших и не принимавших препарат кагоцел, в т.ч. в зависимости от сроков обращения за медицинской помощью (%; * — разница между группами при $p<0,05$; χ^2)**Рис. 3.** Частота бактериальных осложнений и частота назначения системных антибиотиков в группах пациентов разного возраста, принимавших и не принимавших препарат кагоцел (%; * — разница между группами при $p<0,05$; χ^2)

на 1-е сутки заболевания, требующие назначения АБ осложнения были зарегистрированы в 4,7% случаях в группе кагоцела и в 11,2% случаев в группе сравнения, что в 2,38 раза больше ($p<0,001$). Назначение препарата кагоцел приводило также к сокращению числа осложнений сре-

ди пациентов, обратившихся к врачу на 2-е сутки заболевания, в 1,63 раза ($p<0,001$), а начавших лечение с 3—7 суток — в 1,33 раза ($p=0,009$).

Анализ частоты бактериальных осложнений и назначения системных АБ в разных возрастных группах пациентов, показал, что кагоцел эффективен в любом возрасте (рис. 3). Осложнения, требующие назначения АБ, реже были зарегистрированы у пациентов трудоспособного возраста — 6,9% (962/13862) в группе кагоцела и у 11,9% пациентов (146/1222) группы сравнения, что в 1,72 раза чаще ($p<0,001$). У женщин старше 55 лет и мужчин старше 60 лет осложнения были в 11,7% (399/3403) и 16,0% (73/455) случаях, соответственно ($p=0,006$). АБ пациентам трудоспособного возраста были назначены в 7,8% (1087/13862) случаях в группе пациентов, получавших кагоцел, а в группе сравнения — 12,0% (147/1222), что в 1,54 раза больше ($p<0,001$). Пациенты пенсионного возраста АБ получали чаще — 13,3% (452/3403) в

группе кагоцела и 17,1% (78/455) в группе сравнения, что в 1,29 раза больше ($p=0,017$).

Назначение препарата кагоцел привело к сокращению применения всех групп системных АБ ($p<0,001$), особенно пенициллинов и непенициллиновых бета-лактамов (см. табл. 3). Так, пенициллины получали 3,7% (637/17 266) пациентов из группы кагоцела и 6,1% (103/1 680) пациентов группы сравнения, что достоверно в 1,65 раза чаще. В большей степени при назначении кагоцела отмечено снижение назначения амоксициллина (в 2,18 раза — с 4,8 до 2,2%; $p<0,01$). Частота назначения бета-лактамов пенициллинов в обеих группах была сопоставимой, но другие бета-лактамы АБ получали 0,7% (119/17 266) пациентов из группы кагоцела и 2,1% (36/1 680) пациентов группы сравнения, что достоверно в 3 раза больше. В частности, при назначении кагоцела установлено уменьшение применения цефтриаксона в 4 раза с 1,2 до 0,3% ($p<0,05$). Зарегистрирована

Таблица 3. Антибактериальные препараты для системного применения у пациентов, принимавших и не принимавших кагоцел ($p<0,001$; χ^2)

Группа	МНН	Код АТХ	Всего назначено антибиотиков (n=1764)	Группа сравнения (n=1680)	Кагоцел (n=17266)
Тетрациклины	Доксициклин	J01AA02	2	0 (0,00%)	2 (0,01%)
Пенициллины, в т.ч. бета-лактамы	Амоксициллин	J01CA04	454	81 (4,8%)	373 (2,2%)
	Амоксициллин+ Клавулановая кислота	J01CR02	279	21 (1,3%)	258 (1,5%)
	Ампициллин, Амоксициллин	J01CA01, J01CA04	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Амоксициллин,	J01CA04, J01CR02	2	1 (0,06%)	1 (0,01%)
	Амоксициллин+ Клавулановая кислота				
	Сультамициллин	J01CR04	4	0 (0,00%)	4 (0,02%)
Итого			740	103 (6,13%)	637 (3,69%)
Другие бета-лактамы	Цефазолин	J01DB04	3	2 (0,1%)	1 (0,01%)
	Цефуроксим	J01DC02	10	9 (0,5%)	1 (0,01%)
	Цефтриаксон	J01DD04	73	20 (1,2%)	53 (0,3%)
	Цефиксим	J01DD08	68	4 (0,2%)	64 (0,4%)
	Меропенем	J01DH02	1	1 (0,06%)	0 (0,00%)
Итого			155	36 (2,14%)	119 (0,69%)
Сульфаниламиды макролиды, линкозамиды	Сульфаметоксазол+Триметоприм	J01EE01	8	5 (0,3%)	3 (0,02%)
	Эритромицин	J01FA01	2	1 (0,06%)	1 (0,01%)
	Спирамицин	J01FA02	3	3 (0,2%)	0 (0,00%)
	Джозамицин	J01FA07	21	3 (0,2%)	18 (0,1%)
	Кларитромицин	J01FA09	169	7 (0,4%)	162 (0,9%)
	Азитромицин	J01FA10	487	50 (3,0%)	437 (2,5%)
	Линкомицин	J01FF02	1	1 (0,06%)	0 (0,00%)
	Азитромицин, Кларитромицин	J01FA10, J01FA09	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
Итого			684	65 (3,87%)	619 (3,59%)
Производные хинолона	Офлоксацин	J01MA01	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Ципрофлоксацин	J01MA02	86	8 (0,5%)	78 (0,5%)
	Норфлоксацин	J01MA06	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Левифлоксацин	J01MA12	75	6 (0,4%)	69 (0,4%)
	Моксифлоксацин	J01MA14	1	1 (0,06%)	0 (0,00%)
	Гемифлоксацин	J01MA15	3	0 (0,00%)	3 (0,02%)
Итого			167	15 (0,89%)	152 (0,88%)
Другие АБ	Метронидазол	J01XD01	1	1 (0,06%)	0 (0,00%)
	Нитроксилин	J01XX07	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Гидроксиметилхиноксалиндиоксид	J01XX	3	0 (0,00%)	3 (0,02%)
Комбинации АБ разных групп	Гидроксиметилхиноксалиндиоксид, Азитромицин	J01XX, J01FA10	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Гидроксиметилхиноксалиндиоксид, Левофлоксацин	J01XX, J01MA12	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)
	Азитромицин, Левофлоксацин	J01FA10, J01MA12	1	0 (0,00%)	1 (0,01%)

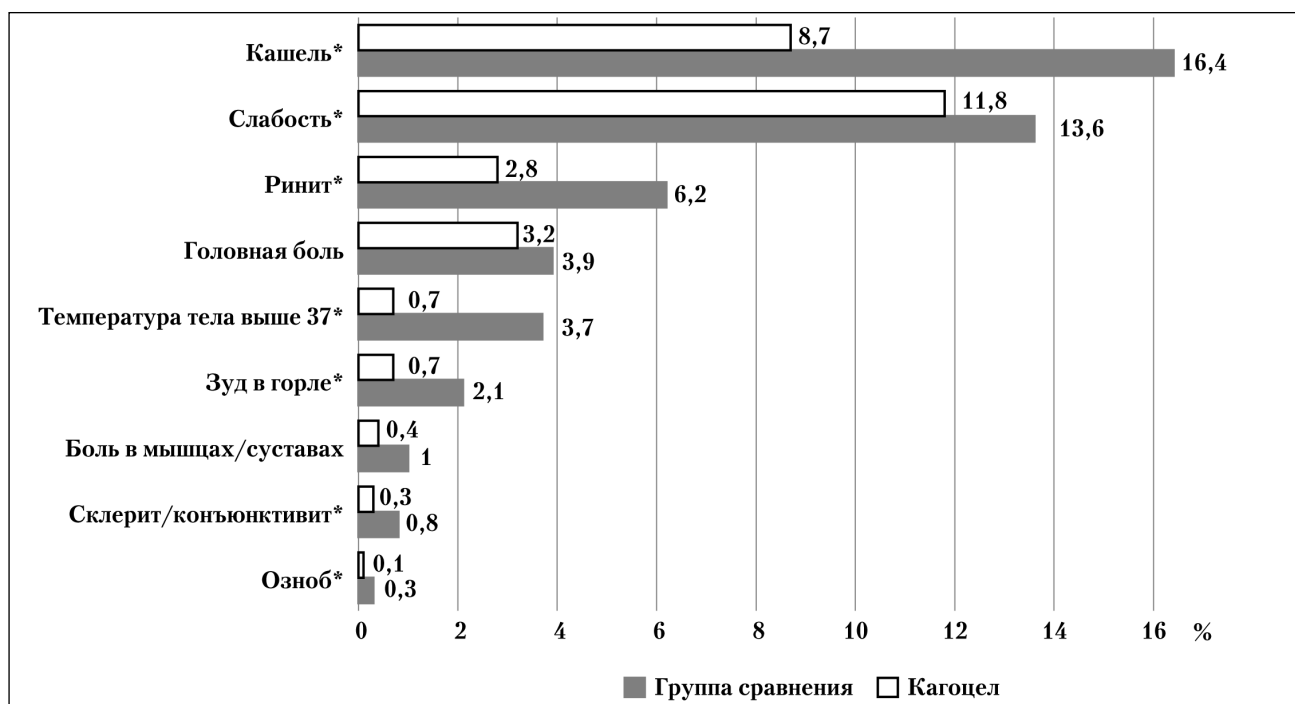


Рис. 4. Клиническая симптоматика ОРВИ и гриппа на 3-м визите у пациентов обеих групп (* — различие между группами при $p < 0,05$; χ^2)

также тенденция к сокращению частоты назначения макролидов в 1,08 раза.

Включение препарата кагоцел в состав терапии ОРВИ и гриппа приводило к улучшению клинической картины заболевания, что выражалось в более существенном и опережающем группой сравнения регрессе всех анализируемых симптомов заболевания и, соответственно, скорейшем выздоровлении (рис. 4).

В группе сравнения полное купирование всех симптомов гриппа и ОРВИ зарегистрировано в 70,8% случаев, а в группе кагоцела — 77,9%, что в 1,10 раза больше ($p < 0,001$). Выздоровление пациентов трудоспособного возраста наступало быстрее. Уже ко 2-му визиту полное купирование всех симптомов ОРВИ и гриппа было зарегистрировано в 9,4% случаев: включая 5,5% пациентов группы сравнения и у 9,7% (в 1,76 раза больше) пациентов трудоспособного возраста, принимавших

кагоцел. К 3-му визиту остаточные явления были в 17,3 и 15,7% случаях, соответственно. Неблагоприятный исход (определялся как неполное купирование всех симптомов заболевания) был установлен в 5,3% случаев, включая 11,6% пациентов группы сравнения и 4,8% (в 2,52 раза меньше) в группе кагоцела ($p < 0,001$). Назначение кагоцела также способствовало улучшению исходов заболевания среди пациентов пенсионного возраста ($p < 0,05$), однако частота неблагоприятного исхода у них была выше в 13,6% случаях в группе сравнения и в 8,4% случаях (в 1,62 раза реже) в группе препарата кагоцел (см. табл. 4).

В среднем сроки выздоровления у пациентов группы кагоцел составили $7,23 \pm 1,75$ суток от начала заболевания, в группе сравнения — $7,34 \pm 1,87$ суток ($p = 0,070$) при значимом сокращении сроков у фоново тяжелых больных в среднем на 1 день — с 8 суток ($7,84 \pm 1,81$) до 7 дней ($7,32 \pm 1,67$) ($p < 0,01$).

Таблица 4. Исход ОРВИ и гриппа у пациентов разного возраста, принимавших и не принимавших препарат кагоцел (n,%; $p < 0,05$)

Возраст	Исход	Группа сравнения	Кагоцел	Всего
Трудоспособный ($p < 0,001$)	Полное выздоровление ко 2 визиту	67 (5,5%)	1348 (9,7%)	1415 (9,4%)
	Полное выздоровление к 3 визиту	802 (65,6%)	9670 (69,8%)	10472 (69,4%)
	Наличие на 3-м визите 1—2 лёгких симптомов лёгкой степени	211 (17,3%)	2181 (15,7%)	2392 (15,9%)
	Наличие на 3-м визите 1—2 симптомов средней или тяжёлой степени выраженности	142 (11,6%)	663 (4,8%)	805 (5,3%)
Пенсионный ($p = 0,047$)	Полное выздоровление ко 2 визиту	19 (4,2%)	171 (5,0%)	190 (4,9%)
	Полное выздоровление к 3 визиту	300 (65,9%)	2256 (66,3%)	2556 (66,3%)
	Наличие на 3-м визите 1—2 симптомов лёгкой степени	74 (16,3%)	692 (20,3%)	766 (19,9%)
	Наличие на 3-м визите 1—2 симптомов средней или тяжёлой степени выраженности	62 (13,6%)	284 (8,4%)	344 (8,9%)

Обсуждение результатов

Системные антибиотики, назначение которых, как правило, связано с присоединением бактериальных осложнений ОРВИ и гриппа, были назначены врачами в условиях амбулаторного лечения в 9,3% случаях. При этом показания в виде осложнений, требующие назначения АБ, были зарегистрированы реже (8,3%), причём бактериальная пневмония диагностирована лишь в 0,7% случаев. Таким образом, несмотря на растущую резистентность к антибиотикам и доказанную нецелесообразность назначения АБ при острых респираторных вирусных инфекциях, подобная тактика продолжается, хотя и в не столь большом проценте. Это может отражаться на ухудшении исходов и увеличении сроков терапии ОРВИ и гриппа (а также сроков нетрудоспособности) на фоне необоснованного удорожания стоимости лечения. Полученные данные согласуются с мнением некоторых учёных, считающих необоснованность полипрагмазии в отношении антибиотикотерапии при респираторных вирусных инфекциях [11, 12]. Наиболее часто назначаются АБ широкого спектра действия азитромицин и амоксициллин, что может быть связано с отсутствием проведения своевременного и адекватного микробиологического исследования.

Частота развития бактериальных осложнений и частота назначения антибиотиков для системного использования при ОРВИ и гриппе увеличивается пропорционально возрасту пациентов, наличия у них соматических заболеваний, тяжести настоящего вирусного заболевания, а также срокам начала лечения. Учитывая то, что отдаление сроков обращения за квалифицированной медицинской помощью прямо коррелирует с тяжестью [13], целесообразным является пропаганда раннего начала этиотропной патогенетически обоснованной противовирусной терапии.

Назначение противовирусного препарата кагоцел в составе комплексного симптоматического лечения ОРВИ и гриппа способствует значительному сокращению числа бактериальных осложнений в 1,65 раза, а также снижению назначений системной антибактериальной терапии в 1,51 раза, что приводит к улучшению исхода заболевания, ускорению регресса симптомов и сроков выздоровления. Следует подчеркнуть, что на фоне приёма препарата кагоцел было зарегистрировано снижение частоты назначения таких АБ, как пенициллины и различные бета-лактамы (в т.ч. амоксициллин, амоксициллин в сочетании с клавулановой кислотой, цефтриаксон). Значимая эффективность зарегистрирована при различных сроках начала терапии (1-е, 2-е и ≥ 3 сутки), что говорит о целесообразности применения кагоцела даже при запоздалом начале лечения. Важно отметить, что максимальная эффективность за-

регистрирована у лиц трудоспособного возраста, что может быть связано с увеличением в группе пациентов пенсионного возраста больных с тяжёлой соматической патологией.

Благодарности

Авторы статьи благодарят всех исследователей, принявших участие в наблюдательной программе «Лечение ОРВИ и гриппа в рутинной практике (FLU-EE)»: Айрумян С.А., Акопян С.Ш., Амбарцумян Л.С., Анисимова Н.В., Арвеладзе Ц., Архипова Н.М., Атоян Р.К., Афанасьева С.А., Бабуренкова Т.Д., Бадиул А., Бакалу В., Барбакадзе М., Басков В.Л., Бахшян К.А., Беглица Л., Бойко И.Н., Большакова Т.В., Борисевич Г.Г., Борисенко Ю.В., Бородин Т.К., Боярко Г.А., Брежнева С.В., Бушева С.Н., Вакула И.В., Васильева Т.В., Васина Е.М., Вахитова З.Р., Веденеева О.И., Векшина В.А., Виноградова Г.Н., Вишняков А.С., Воронюк Е., Вострухина М.Н., Вульфович И.В., Вязанкина Ю.В., Гарибян А., Гаспарян Р.Г., Геворгян Ж.К., Гейсцова Е.В., Герр И.Е., Гилмуллина Ф.С., Гоголадзе Н., Голованова Е.Е., Голованова Н.В., Горелова М.С., Горкавцева О.Ю., Гребельская Т.П., Грекова Л.И., Григорьева И.Г., Григорян М.Н., Григорян Н.А., Григорян Н.С., Гридяева Л.Л., Гришина Е.В., Громацкий Е., Грушко В., Гукасян Н., Гульбина Е.Г., Гурьева Т.Н., Гусева И.Е., Давлетшина М.М., Давоян Т.З., Дарбинян С.В., Дашкевич О.В., Дгебуадзе Н., Девицына О.В., Дзадзамия Н., Добрынинский Д.А., Дюкова В.В., Егиазарян Р.С., Егорова С.В., Ежова Г.Ю., Елисеенко Л.Ф., Жезлова Г.А., Жмуровская Т.Д., Завидей К., Завозина Л.А., Загребнева Н.И., Заерова Л.М., Закарян С.С., Закирова А.М., Залялов М.А., Замятина Л.Л., Захарова И.Г., Захарова О.С., Зограбян Д.А., Зонова С.В., Игнатьева А.Л., Идрисов И.Р., Идрисова З.Д., Илуридзе Н., Ильин А.А., Ишимбаев И.Р., Ишимбаева А.Х., Карагезян Л.В., Карапетян А.В., Карапетян Л.С., Карапетян М.Г., Квернадзе М., Кейдер Е.В., Киприянова Е.В., Кириллова М.Н., Киронда О., Киселева Е.В., Клокова Т.А., Ковалева Л.Н., Кожухова Е., Козарь Е., Колосовская А.А., Копысова Г.Н., Коробицына О.А., Костарев О.В., Котикова Г.А., Круглова Н.В., Крячко Е.Г., Кспоян С.Т., Кудрякова Н.А., Кудряшова Н.О., Кузнецова С.М., Кузьмина Н.И., Кулиббетова Л.А., Кутян Т.А., Кушникова А.Р., Ларина В.К., Левова О.Н., Левченко Г.И., Ломжева Л.М., Лукина Н.Ф., Лунгу Л., Львова С.М., Малыгина В.А., Малышева А., Маннанова А.Н., Манукян А.К., Маринюк И., Марченко Е.А., Махсудян Н.А., Меликян В.С., Меньшикова Г.Н., Михайленко А.В., Мкртчян Н.Ю., Можина Л.Н., Мозина Л.В., Мусатова Л.А., Мындриану Ю., Назарова Т.А., Накудашвили Е., Насртдинов Р.Р., Настас И., Нахапетян М.М., Никулина И.В., Новак В., Новак Л., Нургалеева Л.А., Оганисян Н.Р., Одинцова Т.А., Озерчук А.А.,

Озерчук Г.Ф., Орехова Е.Э., Орлова В.Ф., Осинцева О.В., Осипова Е.В., Панфилова И.Ю., Панфилова Л.А., Папоян Ж., Парахина В.В., Печерская М.Н., Пирцхелаури Е., Пистун О., Плачинта Н., Позднякова О.Ю., Полторацкая Е.В., Полякова Л.Г., Попова О.А., Прокудина И.А., Прыгунова Т.С., Пустынская М.С., Раменская Т.Е., Распопов А.С., Рубенкова А.А., Руснак А., Руснак О., Рыбичкая Т.С., Рязанова Н.В., Саакян Л.Б., Савельева О.В., Савинкина Н.В., Семовских Н.А., Серикова С.П., Серобян С.С., Серякова И.В., Сикорская Л., Симонова А.В., Ситников И.Г., Слесарева Д.С., Смирнова В.В., Смоль Д., Соколова Е.И., Сокоро-

ва Г.А., Сорокина Э.А., Соселия И., Софин А.Б., Стефанко О.М., Стульникова О.В., Сырбу В., Таболина Е.Е., Тадевосян Л.К., Татаренко Е.М., Ташник Л., Тернавский С.Н., Тетерина И.А., Тимофеева Л.Н., Тимошенко А.И., Тимошенко Е.В., Тищенко Е., Токарева К.А., Топчий Е.Е., Тороян Г.А., Тростина С., Угарова Е.А., Урвант О.В., Уткина О.В., Уткина И.И., Ушатый А.А., Федотова Н.В., Федотова О.П., Филипенко С.С., Хартукова С.Ю., Харченко О.А., Хачатрян С.Ю., Хведынич А.С., Хотеевкова Н.В., Храброва С.Л., Царева Т.В., Черневская Т., Чернышева М.В., Шакирова В.Г., Шмидько С.В., Шуликина О.В., Яким Л.

ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Н.И., Лихопенко В.П. Острые респираторные заболевания. Руководство по инфекционным болезням: 4-е изд., доп. и перер. СПб.: Фолиант; 2011. 2: III: 7—122. / *L'vov N.I., Lihopenko V.P. Ostrye respiratornye zabolevaniya. Rukovodstvo po infektsionnym boleznyam: 4-e izd., dop. i perer. SPb.: Foliant; 2011. 2: III: 7—122. [in Russian]*
2. Романова И.В., Суздальцев А.А. Грипп. Самара: ООО «Издательство Ас Гард»; 2013. / *Romanova I.V., Suzdal'tsev A.A. Gripp. Samara: OOO «Izdatel'stvo As Gard»; 2013. [in Russian]*
3. Еропкин М.Ю., Карпова Л.С., Коновалова Н.И., Лобова Т.Г., Петрова П.А., Шеканова С.М. Грипп в сезоне 2014—2015 гг. в России: эпидемиология и свойства вирусов. Эпидемиол инфекц бол 2015; 20: 6: 4—11. / *Eropkin M.Ju., Karpova L.S., Konovalova N.I., Lobova T.G., Petrova P.A., Shhekanova S.M. Gripp v sezone 2014—2015 gg. v Rossii: jepidemiologija i svojstva virusov. Jepidemiol infekc bol 2015; 20: 6: 4—11. [in Russian]*
4. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году». М.: ФГУ Центр гигиены и эпидемиологии; 2011. / *Gosudarstvennyj doklad «O sanitarno-jepidemiologicheskoj obstanovke v Rossijskoj Federacii v 2010 godu». M.: FGU Centr gigeny i jepidemiologii; 2011. [in Russian]*
5. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Колобухина Л.В., Федякина И.Т., Кириллова Е.С., Трушаклова С.В. и др. Вирусологические, эпидемиологические, клинические, молекулярно-генетические особенности эпидемии гриппа 2015—2016 гг: доминирование вируса гриппа А (H1N1) pdm09 в России и странах северного полушария. Вopr вирусол 2016; 61: 4: 159—166. / *L'vov D.K., Burceva E. I., Kolobuhina L.V., Fedjakina I.T., Kirillova E.S., Trushakova S.V. i dr. Virusologicheskie, jepidemiologicheskie, klinicheskie, molekularno-geneticheskie osobennosti jepidemii grippa 2015—2016 gg: dominirovanie virusa grippa A (H1N1) pdm09 v Rossii i stranah severnogo polusharija. Vopr virusol 2016; 61: 4: 159—166. [in Russian]*
6. Казюкова Т.В., Радциг Е.Ю., Панкратов И.В., Алев А.С. Сравнительная оценка эффективности двух противовирусных препаратов в лечении гриппа и ОРВИ у детей 6—12 лет. Педиатрия 2015; 6: 105—112. / *Kazyukova T.V., Radcig E.Ju., Pankratov I.V., Aleev A.S. Sravnitel'naja ocenka jeffektivnosti dvuh protivovirusnyh preparatov v lechenii grippa i ORVI u detej 6—12 let. Peditrija 2015; 6: 105—112. [in Russian]*
7. Кокорева С.П., Сахарова Л.А., Куприна Н.П. Этиологическая характеристика и осложнения острых респираторных инфекций у детей. Вopr современ педиатр 2008; 7: 1: 47—50. / *Kokoreva S.P., Saharova L.A., Kuprina N.P. Jetiologicheskaja harakteristika i oslozhnenija ostryh respiratornyh infekcij u detej. Vopr sovremen peditr 2008; 7: 1: 47—50.*
8. Скворцов В.В., Тумаренко А.В., Скворцова Е.М. Актуальные вопросы диагностики и лечения гриппа. Поликлиника, инфекц бол 2012; 2: 104—107. / *Skvortsov V.V., Tumarenko A.V., Skvortcova E.M. Aktual'nye voprosy diagnostiki i lechenija grippa. Poliklinika, infekc bol 2012; 2: 104—107. [in Russian]*
9. Купченко А.Н., Понезжева Ж.Б. Современные принципы диагностики и лечения ОРВИ. Архив внутр мед 2016; 27: 1: 6—12. / *Kupchenko A.N., Ponezheva Zh.B. Sovremennye principy diagnostiki i lechenija ORVI. Arhiv vnutr med 2016; 27: 1: 6—12.*
10. Романцов М.А. Респираторные заболевания у часто болеющих детей. М.: Гэотар Медиа; 2014. / *Romancov M.A. Respiratornye zabolevaniya u chasto bolejuushih detej. M.: Gjeotar Media; 2014. [in Russian]*
11. Нисевич Л.Л., Волков К.С., Алексеева А.А., Томилова А.Ю., Баранник В.А., Эфендиева К.Е. Подходы к терапии острых респираторных инфекций и гриппа при сезонном увеличении заболеваемости. Вopr современ педиатр 2015; 14: 1: 64—69. / *Nisevich L.L., Volkov K.S., Alekseeva A.A., Tomilova A.Ju., Barannik V.A., Jefendieva K.E. Podhody k terapii ostryh respiratornyh infekcij i grippa pri sezonnom uvelichenii zabolevaemosti. Vopr sovremen peditr 2015; 14: 1: 64—69. [in Russian]*
12. Таточенко В.К. Антибиотико- и химиотерапия инфекций. М.: Континент-Пресс; 2008. / *Tatochenko V.K. Antibiotiko- i himioterapija infekcij. M.: Kontinent-Press; 2008. [in Russian]*
13. Фазылов В.Х., Ситников И.Г., Силина Е.В., Шевченко С.Б., Можина Л.Н., Замятин Л.Л. и др. Лечение больных ОРВИ и гриппом в повседневной клинической практике (результаты многоцентрового международного наблюдательного исследования FLU-EE). Тер архив 2016; 11: 61—68. / *Fazylov V.H., Sitnikov I.G., Silina E.V., Shevchenko S.B., Mozhina L.N., Zamjatina L.L. i dr. Lechenie bol'nyh ORVI i grippom v povsednevnoj klinicheskoj praktike (rezul'taty mnogocentrovogo mezhdunarodnogo nabljudatel'nogo issledovanija FLU-EE). Ter arhiv 2016; 11: 61—68. [in Russian]*

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фазылов Вильдан Хайруллаевич — д.м.н. профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань

Ситников Иван Германович — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, эпидемиологии и детских инфекций ФГБОУ ВО Ярославский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ярославль

Малышев Николай Александрович — д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва

Силина Екатерина Владимировна — д.м.н., профессор кафедры патологии человека ФГБОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Шевченко Сергей Борисович — д.м.н., профессор, проректор по научной работе и профессиональному образованию ФГБОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Еганян Гагик Азатович — д.м.н., профессор кафедры диагностики внутренних болезней Ереванский государственный медицинский университет им. Мхитара Гераци, Ереван, Армения

Корсантия Борис Мушневич — д.м.н., профессор, руководитель отдела иммунореабилитации, Институт медицинской биотехнологии им. Вл. Бахуташвили Тбилисского Государственного медицинского университета, Тбилиси, Грузия

Гроппа Лиана Георгиевна — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней, ревматологии и нефрологии, Государственный университет медицины и фармации им. Николае Тестемидану, Кишинев, Республика Молдова

Успешное применение тигециклина в комбинированной терапии вентилятор-ассоциированной госпитальной пневмонии: клинический случай

Г. В. РОДОМАН¹, И. Р. СУМЕДИ¹, С. К. ЗЫРЯНОВ^{1,2}, М. А. ИВЖИЦ^{1,2}, О. М. РОМАШОВ¹,
М. И. АЛЕКСАНДРОВ¹, О. Ю. МАРКИНА¹, М. А. ЛУКИН¹, И. А. ЗАЙГРАЕВ³, М. Р. СМЕРНОВА¹

¹ Городская клиническая больница № 24, Москва

² Российский университет дружбы народов, Москва

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва

Successful Tigecycline Use in Combined Therapy of Ventilator-Associated Hospital-Acquired Pneumonia: a Clinical Case

G. V. RODOMAN¹, I. R. SUMEDI¹, S. K. ZYRYANOV^{1,2}, M. A. IVZHITS^{1,2}, O. M. ROMASHOV¹,
M. I. ALEKSANDROV¹, O. YU. MARKINA¹, M. A. LUKIN¹, I. A. ZAIGRAEV³, M. R. SMIRNOVA¹

¹ Municipal Clinical Hospital No. 24, Department of Health, Moscow

² RUDN University, Moscow

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

У пациентов на ИВЛ довольно частым и грозным осложнением становится развитие вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП), основными возбудителями которой являются полирезистентные госпитальные штаммы микроорганизмов. Рассматривая случай изначально внебольничной пневмонии у больного с быстрым переводом его на ИВЛ на длительное время, следует отметить, что предшествующая антибактериальная терапия препаратами широкого спектра значительно увеличила риск присоединения именно мультирезистентных нозокомиальных штаммов, что затрудняет «стартовую» терапию нозокомиальной пневмонии как при отсутствии микробиологического посева, так, порой, и при его наличии. При сохранении актуальности лечения тяжёлых пневмоний, вызванных мультирезистентной госпитальной флорой, устойчивой к карбапенемам, при подборе альтернативного лечения одним из препаратов выступает представитель тетрациклинового ряда — тигециклин, из группы глицициклинов. В нашей публикации представлен случай успешного лечения нозокомиальной ВАП тигециклином в соответствии с результатами посева бронхоальвеолярного лаважа. Данный случай интересен тем, что препарат применялся *off-label*.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, нозокомиальная пневмония, тетрациклин, тигециклин, *Tigacyl*, multidrug-resistant *A.baumannii* (MDRAB).

In patients under artificial lung ventilation (ALV) there is often observed development of severe ventilator-associated pneumonia (VAP) due to polyresistant hospital pathogens. It should be noted that in the patient described here with the initial diagnosis of community-acquired pneumonia rapidly subjected to prolonged ALV the previous antibacterial therapy by broad spectrum drugs significantly increased the risk of contamination just by multiresistant nosocomial strains, which hampered the starting therapy of nosocomial pneumonia either when there were not available or sometimes there were available microbial cultures. When the treatment of severe pneumonias caused by multiresistant hospital flora resistant to carbapenems is actual, in the alternative therapy it could be used tigecycline, a tetracycline from the group of glycylicyclines. A case of successful treatment of nosocomial VAP by tigecycline based on the results of the bronchoalveolar lavage (BAL) culture is described. The case is of interest because tigecycline was used as off label.

Key words: community-acquired pneumonia, nosocomial pneumonia, tetracycline, tigecycline, *Tigacyl*, multidrug-resistant *A.baumannii* (MDRAB).

Введение

Госпитальная (нозокомиальная) пневмония — это пневмония, развившаяся через 48 ч и позднее

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 101000 Москва, ул. Песцовой, 10, ГКБ № 24

после госпитализации, при исключении инфекционных заболеваний с поражением лёгких в момент госпитализации, находящихся в инкубационном периоде. Госпитальные пневмонии занимают первое место среди причин смерти от внутрибольничных инфекций. Смертность от госпитальных пневмоний достигает 70%, но непосредственной

причиной смерти больного пневмония является в 30–50% случаев, когда инфекция является основной причиной летального исхода [1].

Если раньше, около 10 лет назад, актуальным патогеном являлась (и остаётся) синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), то сейчас внимание к себе привлекает её неферментирующий «сосед» — *Acinetobacter* spp. Введено даже специальное сокращение для обозначения данных штаммов внутри группы мультирезистентных штаммов — multidrug-resistant (MDR) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) — multidrug-resistant *A.baumannii* (MDRAB). *Acinetobacter baumannii* часто становится одной из основных причин внутрибольничных пневмоний, в частности, вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП), инфекций кровотока и сепсиса у тяжелобольных и иммунокомпрометированных пациентов [2, 3]. Смертность больных в критическом состоянии, инфицированных *A.baumannii*, значимо высока [4–8]. Кроме того, количество штаммов с множественной лекарственной устойчивостью *A.baumannii* (MDR AB) увеличивается, и, соответственно, лечение затрудняется [4, 9–11]. Карбапенемы стали терапией выбора для серьёзных *A.baumannii*-инфекций, однако карбапенемоустойчивые микроорганизмы также становятся всё более распространёнными [12–15]. Многие штаммы MDRAB остаются чувствительными к тигециклину *in vitro* [16]. Однако увеличивается количество сообщений о росте MDRAB, что подтверждается исследованиями как европейской [17], так и американской исследовательских групп [18], которые показывают устойчивость 51–67% к хинолонам и 40–63% — к цефалоспорином третьего поколения. При этом устойчивость к карбапенемам увеличилась до 12–47%. Данные российского исследования МАРАФОН продемонстрировали драматическую ситуацию с резистентностью данного микроорганизма к карбапенемам — этот показатель в нашей стране достигает 96%. Растёт и устойчивость к колистину (до 22%), при том, что его нефротоксичность ограничивает использование препарата у многих тяжёлых больных с почечной недостаточностью [17, 18]. Поэтому, когда эти препараты не эффективны в отношении MDRAB-инфекций, тигециклин может рассматриваться как препарат выбора.

Хотя некоторые исследования показали, что при ВАП, вызванной MDRAB, использование тигециклина является адекватным и успешным [19–22], в то же время роль тигециклина в терапии госпитальной ВАП всё ещё остается неопределённой. Развёрнутый клинический опыт больных в критическом состоянии с MDRAB инфекций беден, и большинство имеющихся публикаций ретроспективны, с небольшим коли-

чеством пациентов или с использованием антибиотиков в комбинированных схемах. Таким образом, опыт работы с тигециклином в лечении больных в критическом состоянии, в том числе у пациентов с ВАП, недостаточно изучен.

Проводя поиск в PubMed соответствующих статей и материалов, которые анализируют оценку имеющихся фактических данных о микробиологической активности и клинической эффективности тигециклина в отношении MDR (в том числе карбапенеморезистентных) штаммов *Acinetobacter* spp., можно выявить лишь ограниченное количество публикаций на эту тему. Так, результаты 22 микробиологических исследований показали чувствительность 90% штаммов *Acinetobacter* spp. к тигециклину (МПК₅₀ ≤ 2 мг/л) в 9 из 18 исследований, представивших данные по *Acinetobacter* с MDR, и в 7 из 15 исследований по данным о карбапенеморезистентных *Acinetobacter*.

Эффективность тигециклина при MDR *Acinetobacter*-инфекции оценивали в восьми клинических исследованиях, в которых представлены ретроспективные данные о 42 тяжёлых больных, среди которых у 31 больного были инфекции дыхательных путей (в сочетании с бактериемией — у 8 больных). Терапия тигециклином (в комбинации с другими антибиотиками у 28 пациентов) была эффективна в 32 из 42 случаях. В трёх случаях устойчивость *Acinetobacter* spp. к тигециклину развилась во время лечения. Тигециклин проявлял выраженную антимикробную активность в отношении MDR (включая карбапенеморезистентные) *Acinetobacter* spp. Тем не менее, данные для поддержки его клинического применения, в частности, для ВАП или бактериемии, вызванных этими возбудителями, по-прежнему ограничены [23].

Цель данной публикации — поделиться опытом клинического применения тигециклина при лечении MDRAB-инфекции (в частности, ВАП) у пациента с отягощённым анамнезом.

Клинический пример

Пациент К. 38 лет находился на стационарном лечении с 02.12.2015 г. по 04.01.2016 г. Изначально был доставлен бригадой скорой медицинской помощи с подозрением на панкреонекроз.

Поступил 02.12.2015 г. в отделение ОРИТ. При сборе анамнеза было выяснено, что пациента в течение последних 3 дней до госпитализации беспокоил кашель с трудноотделяемой мокротой, повышение температуры тела до 38,5°C, боли в правой половине грудной клетки при кашле и глубоком вдохе, выраженная слабость, профузный пот, гипотония, которая на момент обращения в клинику достигала 70/60 мм рт. ст.

Также из анамнеза известно, что пациент страдает хроническим панкреатитом, энцефалопатией сложного генеза: последствия тяжёлой ЧМТ (с 2007 г.), симптоматической эпилепсией. За две недели до госпитализации находился на больничном листе по поводу обострения хронического панкреатита. Вредные привычки: курит, злоупотребляет алкоголем. Факт злоупотребления алкоголем пациентом и родственниками скрывался, что затруднило выбор адекватной

стартовой терапии. В анализах крови при поступлении 02.12.2015 г. выявлена резкая лейкопения (лейкоциты — $1,4 \times 10^9/\text{л}$, норма — $4,0\text{--}9,0$), тромбоцитопения (тромбоциты — $24 \times 10^9/\text{л}$, норма — $180\text{--}320$), что трактовалась клиницистами как реакция системного воспалительного ответа (ССВО). В биохимическом анализе отмечалось снижение альбумина до $29,0 \text{ г/л}$ ($38,0\text{--}51,0$), общего белка $47,0 \text{ г/л}$ ($63,0\text{--}83,0$), были повышены и билирубины: общий — $44,6 \text{ мкмоль/л}$ ($3,4\text{--}17,1$), билирубин прямой — $32,0 \text{ мкмоль/л}$ ($0,0\text{--}3,4$), а также АЛТ — $94,2 \text{ Ед/л}$ ($10,0\text{--}40,0$), АСТ — $238,3 \text{ Ед/л}$ ($8,0\text{--}40,0$), что укладывалось в картину выраженного интоксикационного синдрома на фоне пневмонии, однако на тот момент времени нами был недооценен факт злоупотребления алкоголем, так как данные изменения картины крови могли быть следствием и длительной алкогольной интоксикации, которая и привела к такому резкому снижению лейкоцитов, тромбоцитов, снижению альбумина и белка, что в дальнейшем привело к тяжёлому и затяжному течению пневмонии.

На рентгенограмме органов грудной клетки в положении лежа от 02.12.15 г. определяется неравномерная альвеолярная инфильтрация частично в верхней доле, средней доле и частично в нижней доле правого лёгкого. Правое лёгкое уменьшено в объёме. Лёгочный рисунок прослеживается во всех отделах. Правый корень сливается с тенью инфильтрации, левый — структурный. Диафрагма обычно расположена. Плевральные синусы свободны. Сердце и аорта без особенностей.

В целом, рентген картина соответствовала проявлению пневмонии правого лёгкого с уменьшением его объёма. Была рекомендована КТ грудной клетки для уточнения изменений и исключения вторичной природы пневмонии.

Взят посев мокроты на выявление возбудителя с определением чувствительности.

Проведена консультация хирурга и УЗИ брюшной полости для исключения панкреонекроза.

Пациенту был установлен диагноз: Внебольничная двухсторонняя плевропневмония с преимущественным субтотальным поражением правого лёгкого с возможным абсцедированием в н/д справа. Двухсторонний плеврит. ДН III ст. Интоксикационный синдром.

Сопутствующие заболевания: Хронический панкреатит. Хронический гепатит. Энцефалопатия смешанного генеза, состояние после ЧМТ, симптоматическая эпилепсия.

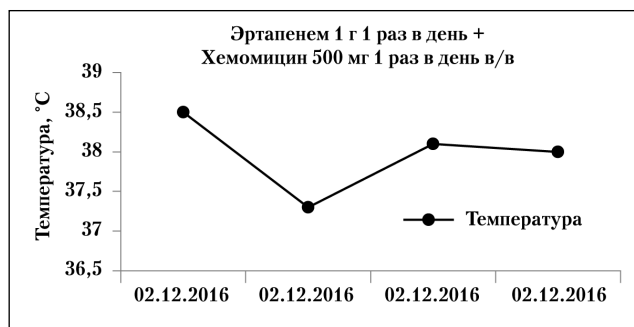


Рис. 1. Динамика температурной кривой

Учитывая степень тяжести пневмонии (CURB 65 — 3 балла) и объём поражения правого лёгкого, нарастающую клиническую симптоматику, больного было решено наблюдать в блоке интенсивной терапии, где была назначена эмпирическая антибиотикотерапия: эртапенем по 1 г 1 раз в день внутривенно + азитромицин по 500 мг 1 раз в день внутривенно (рис. 1).

На фоне начатой терапии 03.12.2015 г. состояние пациента не улучшалось, сохранялась дыхательная недостаточность и интоксикационный синдром.

03.12.2015 г. проведена компьютерная томограмма грудной клетки (КТ) с болюсным контрастированием, на которой выявлена картина диффузных инфильтративных изменений правого лёгкого — субтотальная пневмония, обтурация бронха S6 (слева слизью), с реактивными изменениями лёгочной ткани лимфаденопатия средостения (рис. 2).

На КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства от 03.12.15: гепатомегалия, диффузные изменения печени по типу жирового гепатоза. Атрофические изменения поджелудочной железы.

В анализах крови 03.12.2015 и 04.12.2015 сохраняется выраженная лейкопения до $1,2 \times 10^9/\text{л}$, с палочкоядерным сдвигом до 63%, тромбоцитопения до $23 \times 10^9/\text{л}$.

Биохимия крови 03.12.15 и 04.12.2015 без существенной динамики при сравнении с днём поступления.

На 4-е сутки — 06.12.2015 г., несмотря на проводимую терапию (эртапенем 1 г 1 раз в день + азитромицин 500 мг 1 раз в



Рис. 2. КТ грудной полости, мультиспиральная, болюсное контрастирование

день в/в, активные в отношении внебольничных возбудителей и атипичной микрофлоры), состояние пациента прогрессивно ухудшалось. Стало очевидно, что выбранная схема антибактериальной терапии не эффективна.

Схема проводимого лечения была пересмотрена. Назначены: меропенем 1 г 3 раза в день путём продлённых внутривенных инфузий по 2 ч в комбинации с моксифлоксацином 400 мг 1 раз в день внутривенно капельно. Введение в антибактериальную схему фторхинолонов было сделано с целью перекрытия возможных атипичных микроорганизмов, а с учётом тяжёлого течения пневмонии не исключалась и легионеллёзная инфекция, а респираторные фторхинолоны, как известно, обладают активностью в отношении *Legionella pneumophila*.

В тот же день в связи с нарастанием дыхательной недостаточности пациент был переведен на инвазивную поддержку дыхания в режим SIMV+ PS до 21.12.15 г.

На фоне терапии карбапенемом в комбинации с респираторным фторхинолоном сохранялись высокие цифры лихорадки (до 39,5), интоксикационный синдром, угнетение сознания.

07.12.2016 г. проведено контрольное исследование рентгенограммы лёгких и получено следующее заключение: на контрольной рентгенограмме грудной клетки в положении лежа и в условиях ИВЛ положительной рентгенологической динамики не отмечается. Сохраняется субтотальная альвеолярная инфильтрация правого лёгкого с уменьшением его объёма. Рентгеновская картина субтотальной пневмонии правого лёгкого без динамики.

На протяжении всего периода пребывания пациента в блоке реанимации, пациенту производились неоднократные бронхоскопии с санациями. При очередной санационной бронхоскопии от 08.12.2015 г. был эвакуирован вязкий слизистогнойный секрет тёмно-ржавого цвета, в значительном количестве около 300 мл и большие сгустки (удалены при санации). Произведена санация 80,0 мл 0,5% диоксида. Было сделано заключение, что вероятнее всего произошло дренирование абсцесса лёгкого в полость бронха. В бронхах отмечался двусторонний диффузный бронхит 2—3 степени интенсивности воспаления (рис. 3).

С 06.12.2015 г. по 09.12.2015 г. на фоне терапии — меропенем 1 г 3 раза в день внутривенно путём продлённых инфузий в комбинации с моксифлоксацином 400 мг 1 раз в день — состояние пациента оставалось без существенных изменений.

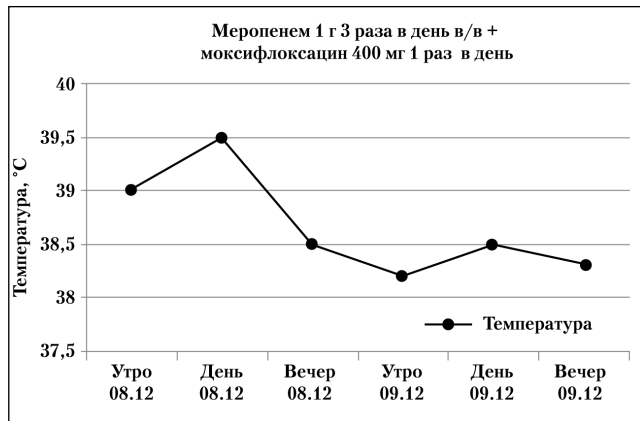


Рис. 3. Динамика температурной кривой с 08.12 по 09.12.15.

Результаты посева мокроты на флору и определения чувствительности (10.12.15 г.)

Антибиотик	Микроорганизмы	
	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>
Амикацин	S	R
Ципрофлоксацин	R	R
Меропенем	R	I
Ампициллин	R	R
Цефтазидим	I	R
Тетрациклин	R	S
Азлоциллин		R
Пиперациллин	R	R
Цефепим	R	R
Полимиксин	I	—

На контрольной КТ-грудной клетки от 09.12.15 г. — картина двусторонней пневмонии, с преимущественным субтотальным поражением правого лёгкого, на фоне которого нельзя исключить абсцедирования в заднебазальных отделах. Двусторонний плеврит с примесью высокобелкового компо-

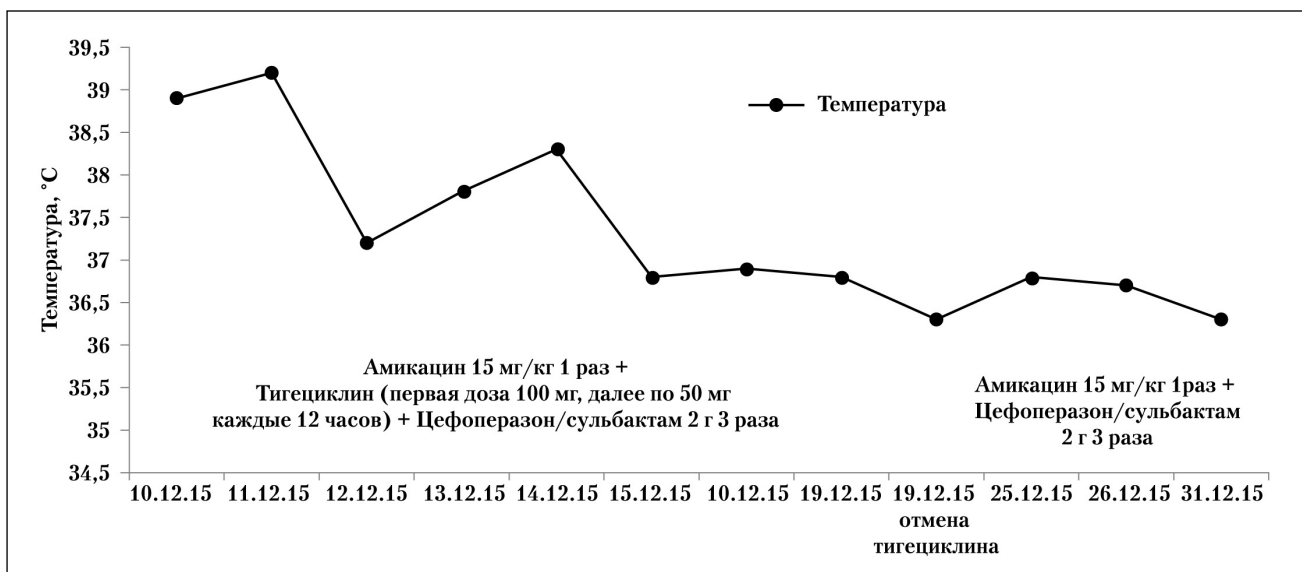


Рис. 4. Температурная кривая на 2-е сутки после назначения тигециклина.

нента (гной?кровь?). Увеличение количества жидкости в полости перикарда. Расширение камер сердца, в большей степени левых отделов. Признаки лёгочной гипертензии. Лимфаденопатия средостения. Выраженная отрицательная динамика процесса при сравнении с данными от 03.12.2015 г.

10.12.2015 г. получены результаты бактериологического посева мокроты и чувствительности к антибиотикам выделенных микроорганизмов (таблица).

Результаты исследования

Полученные результаты показали, что выделенные штаммы *P.aeurginosa* и *Acinetobacter* spp. были устойчивы к карбапенемам, фторхинолонам, цефалоспорином. Штаммы *P.aeurginosa* сохранили чувствительность к амикацину и цефа-

лоспорины III поколения цефтазидиму. Штаммы *Acinetobacter* spp. были чувствительны только к тетрациклину. Принимая во внимание принцип лечения при выделении *P.aeurginosa* с применением комбинированной терапии, с целью замедления выработки механизмов резистентности синегнойной палочки и преодоления уже имеющейся резистентности, а также сохраняющуюся природную чувствительность *Acinetobacter* spp. к сульбактаму и выявленную чувствительность к тетрациклину, по данным полученного посева, терапия была скорректирована следующим образом: цефоперазон/сульбактам по 2 г × 3 раза в день + амикацин 15 мг/кг однократно в сутки внутри-

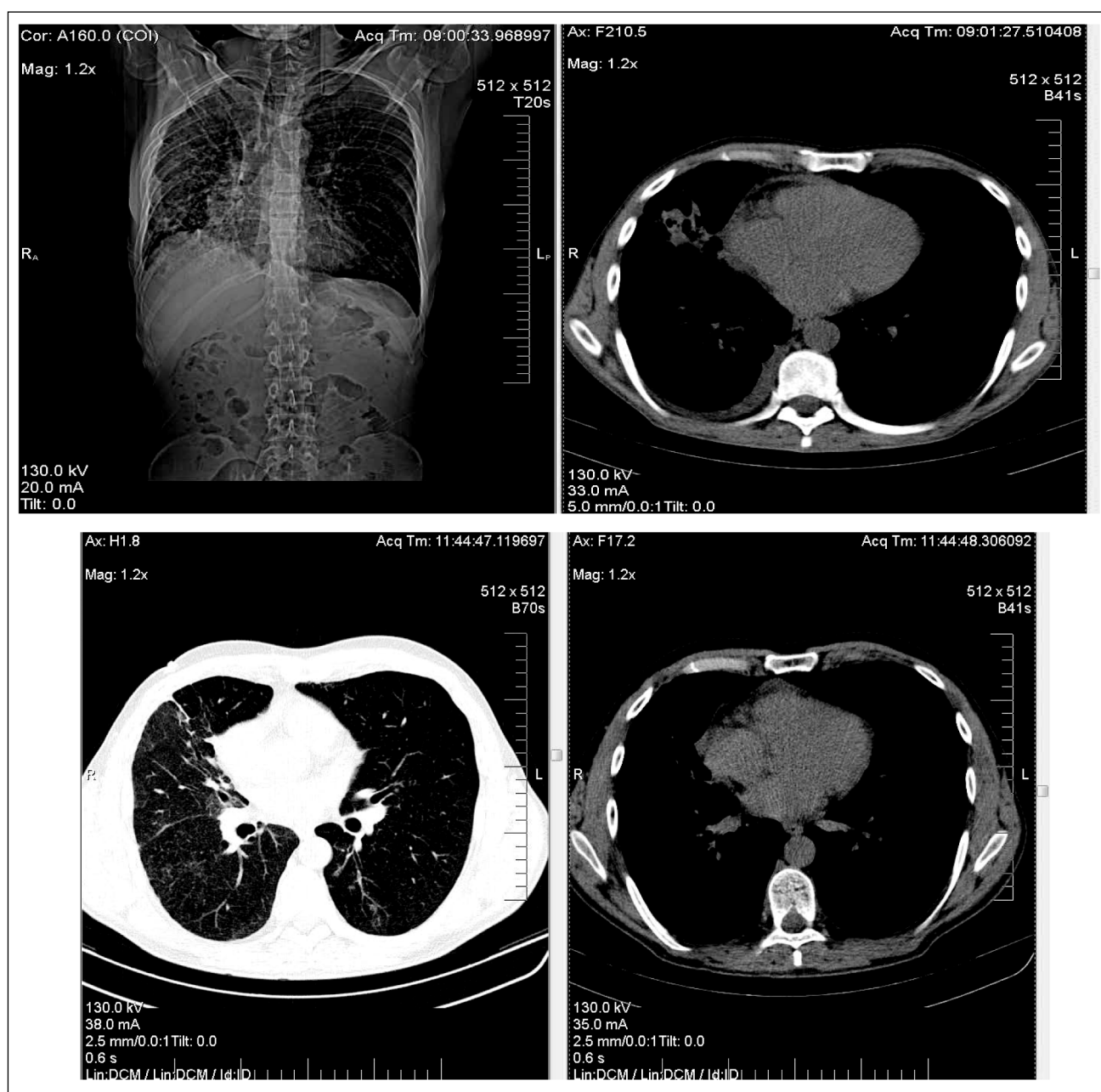


Рис. 5. Динамика воспалительного процесса.

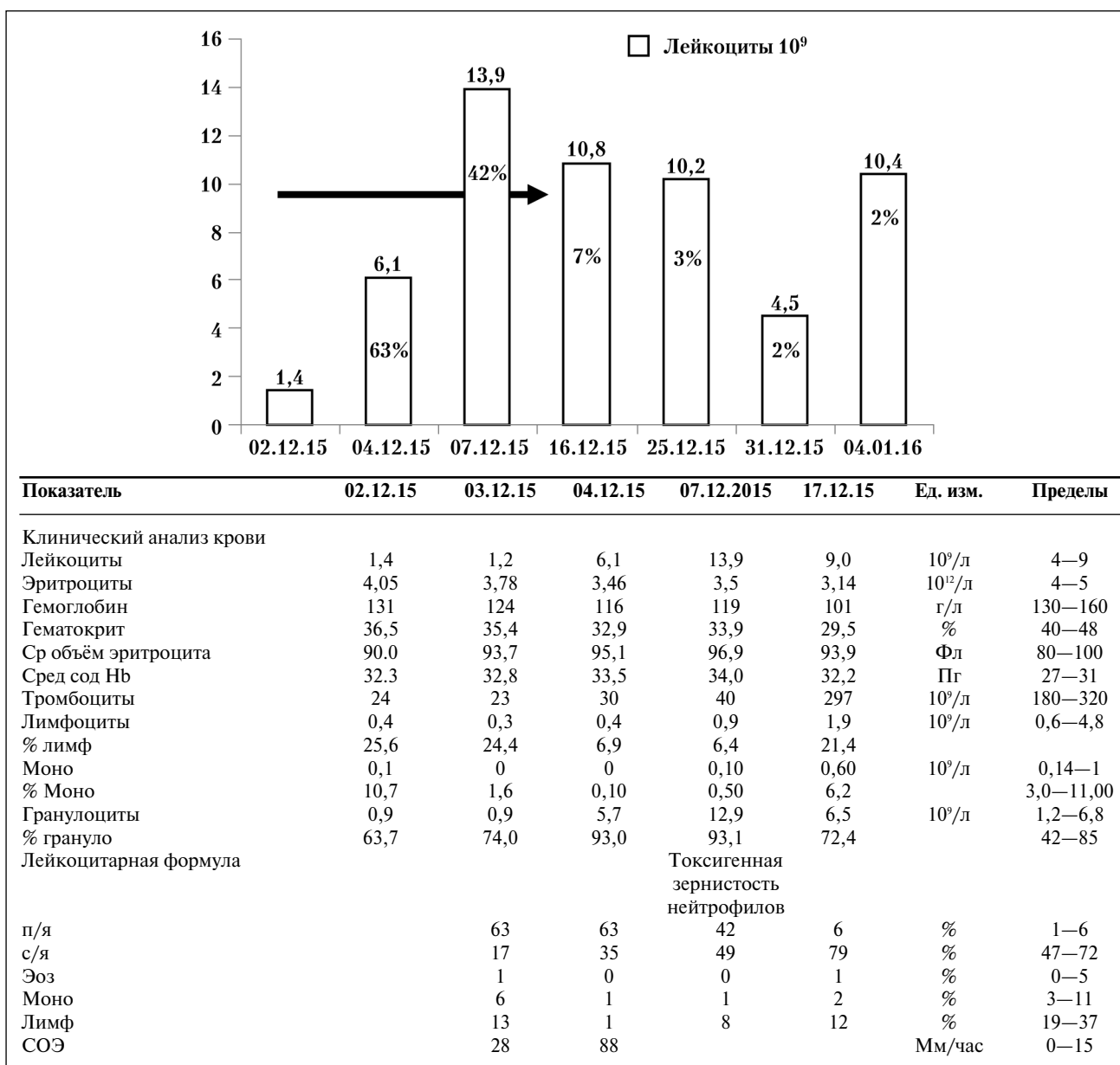


Рис. 6. Динамика показателей лейкоцитов и палочкоядерных гранулоцитов за время пребывания больного в стационаре

венно капельно, а с учётом чувствительности *Acinetobacter* spp. к тетрациклину было решено применить представителя нового класса антибактериальных препаратов родственного ряда — глицилциклинов тигециклин (первая доза 100 мг, далее по 50 мг каждые 12 ч). Последний проявляет активность в отношении мультирезистентных микроорганизмов, таких как MRSA, VRE, энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра, большинство видов *Acinetobacter* spp., кроме того обладает активностью в отношении внутриклеточных бактерий, и анаэробов. В результате такой тройной комбинации каждый из выделенных возбудителей был перекрыт спектром активности подобранных анти-

биотиков дважды: *P.aeurginosa* — амикацином + цефоперазоном/сульбактамом и *Acinetobacter* — цефоперазоном/сульбактамом + тигециклином.

На вторые сутки применения новой схемы лечения отмечена положительная динамика состояния пациента (рис. 4). Снижение температуры до 37°C. Пациент переведён на самостоятельное дыхание на 6-е сутки. Отмечается восстановление воздушности лёгких, по данным рентгенограммы и КТ, на 2-е сутки после назначения тигециклина (рис. 4).

Нормализовался уровень лейкоцитов крови, лейкоцитарная формула. Лечение трёхкомпонентной схемой пациент получал в течение 9 сут с последующей отменой тигециклина и переводом па-

пациента 19.12.2015 г. в терапевтическое отделение общего профиля.

На контрольной рентгенограмме от 14.12.2015 грудной клетки в положении сидя и в условиях ИВЛ отмечается некоторая положительная рентгенологическая динамика в виде постепенного восстановления воздушности лёгочной ткани в в/доле справа (рис. 5). На остальном протяжении сохраняется субтотальная альвеолярная инфильтрация правого лёгкого с уменьшением его объёма. Заключение: рентген картина субтотальной пневмонии правого лёгкого с небольшой положительной динамикой.

КТ грудной полости от 17.12.2015 г. — картина двусторонней пневмонии, с преимущественным субтотальным поражением правого лёгкого, двустороннего плеврита — положительная динамика. В анализах крови на этот момент происходит нормализация показателей белого ростка крови: лейкоциты — $9,0 \times 10^9/\text{л}$.

КТ грудной полости от 29.12.15: КТ — картина двусторонней пневмонии, с преимущественным субтотальным поражением правого лёгкого, с признаками формирования диффузного интерстициального фиброза правого лёгкого и ателектазом средней доли. Правосторонний плеврит, гидроперикард. Выраженная положительная динамика воспалительного процесса. Далее от 04.01.16: продолженная положительная динамика воспалительного процесса.

На фоне лечения достигнута положительная динамика: полностью регрессировала одышка, нет кашля, температура тела нормализовалась с 20.12.15 г., над лёгкими аускультативно дыхание жёсткое, проводится во все отделы, справа в нижнем отделе пневмосклеротические хрипы. ЧД 18 в мин (рис. 5). Гемодинамика стабильная. Пациент выписан 4.01.2016 г. с небольшим лейкоцитозом $10,4 \times 10^9/\text{л}$, без п/я сдвига «влево» и минимальными изменениями в биохимическом анализе крови, не связанными с явлениями пневмонии (рис. 6).

В дальнейшем при катamnестическом наблюдении пациент пришел на контрольный визит через

1,5 мес: явлений пневмонии нет, на R грамме — остаточные явления в виде фибрирования лёгочной ткани, общий анализ крови — без воспалительных изменений.

Заключение

Антибактериальная терапия нозокомиальной пневмонии, вызванной мультирезистентными штаммами, остаётся сложной проблемой. Обнадеживающими в клинических исследованиях является получение данных об оптимальной эффективности именно комбинированной терапии, включающей тигециклин и другие антибактериальные препараты, воздействующие на неферментирующие грамотрицательные бактерии.

Представленный клинический случай подтверждает высокую эффективность данной терапии при госпитальной ВАП, вызванной мультирезистентными штаммами *Acinetobacter baumannii* (MDRAB) и *Pseudomonas aeruginosa*. Одним из препаратов, который проявляет активность в отношении наиболее проблемного возбудителя — мультирезистентного *Acinetobacter* spp., является тигециклин. В качестве альтернативной схемы для лечения инфекции, вызванной вышеуказанной флорой, возможно использование комбинации цефоперазона/сульбактама с амикацином. Рассмотренная трёхкомпонентная схема АБТ окончательно не изучена, и некоторые вопросы остаются спорными, принимая во внимание малое количество наблюдений.

При накоплении достаточного количества материала предстоит правильно оценить возможность применения тигециклина при пневмониях и сохранения его в клинической практике как резервного препарата, использование которого нужно строго регламентировать с учётом чувствительности выделенной микрофлоры.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гельфанд Б.Р., Белоцерковский Б.З., Милукова И.А., Гельфанд Е.Б. Эпидемиология и нозологическая структура нозокомиальных инфекций в отделении реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара. Инфекции в хирургии. 2014; 4: 24—36. / Gelfand B.R., Belocerkovskij B.Z., Miljukova I.A., Gelfand E.B. Jepidemiologija i nozologicheskaja struktura nozokomial'nyh infekcij v otdelenii reanimacii i intensivnoj terapii mnogoprofil'nogo stacionara. Infekcii v hirurgii. 2014; 4: 24—36. [in Russian]
2. Sunenshine R.H., Wright M.O., Maragakis L.L., Harris A.D., Song X., Hebdon J. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter* infection mortality rate and length of hospitalization. Emerg Infect Dis 2007; 13: 97—103.
3. Wareham D.W., Bean D.C., Khanna P., Hennessy E.M., Krahe D., Ely A. et al. Bloodstream infection due to *Acinetobacter* spp. epidemiology, risk factors and impact of multidrug resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008; 27: 607—612.
4. Fagon J.Y., Chastre J., Hance A.J., Montravers P., Novara A., Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. Am J Med 1993; 94: 281—288.
5. Falagas M.E., Bliziotis I.A., Siempos I.I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii* infections in critically ill patients: a systematic review of matched cohort and case-control studies. Crit Care 2006; 10: R484.
6. Fagon J.Y., Chastre J., Hance A.J., Montravers P., Novara A., Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. Am J Med 1993; 94: 281—288.
7. Falagas M.E., Koletsis P.K., Bliziotis I.A. The diversity of definitions of multidrug-resistant (MDR) and pandrug-resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 2006; 55: Pt 12: 1619—162916.
8. Falagas M.E., Rafailidis P.I. Attributable mortality of *Acinetobacter baumannii*: no longer a controversial issue. Crit Care 2007; 11: 134.
9. Cisneros J.M., Reyes M.J., Pachón J., Becerril B., Caballero F.J., García-Garmendia J.L. et al. Bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical findings, and prognostic features. Clin Infect Dis 1996; 22: 1026—1032.
10. Gordon N.C., Wareham D.W. A review of clinical and microbiological outcomes following treatment of infections involving multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with tigecycline. J Antimicrob Chemother 2009; 63: 775—780.

11. Lee K., Yong D., Jeong S.H., Chong Y. Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: increasingly problematic nosocomial pathogens. *Yonsei Med J.* 2011; 52: 879—891.
12. Chin B.S., Han S.H., Choi S.H., Lee H.S., Jeong S.J., Choi H.K. et al. The characteristics of metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli isolated from sputum and urine: a single center experience in Korea. *Yonsei Med J* 2011; 52: 351—357.
13. Dalla-Costa L.M., Coelho J.M., Souza H.A., Castro M.E., Stier C.J., Bragagnolo K.L. et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3403—3406.
14. Lee K., Kim M.N., Kim J.S., Hong H.L., Kang J.O., Shin J.H. et al. Further increases in carbapenem-, amikacin-, and fluoroquinolone-resistant isolates of *Acinetobacter* spp. and *P.aeruginosa* in Korea: KONSAR study 2009. *Yonsei Med J* 2011; 52: 793—802.
15. Manuel R.J., Shin G.Y., Farrag N., Holliman R. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a London hospital. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 141—142.
16. Coelho J.M., Turtton J.F., Kaufmann M.E., Glover J., Woodford N., Warner M. et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3623—3627.
17. Turner P.J. MYSTIC Europe 2007: activity of meropenem and other broad-spectrum agents against nosocomial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 63: 217—222.
18. Rhomberg P.R., Jones R.N. Summary trends for the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program: a 10-year experience in the United States (1999—2008). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 65: 414—426.
19. Dizbay M., Altuncekic A., Sezer B.E., Ozdemir K., Arman D. Colistin and tigecycline susceptibility among multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from ventilator-associated pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32: 29—32.
20. Falagas M.E., Kasiakou S.K., Rafailidis P.I., Zouglakis G., Morfou P. Comparison of mortality of patients with *Acinetobacter baumannii* bacteraemia receiving appropriate and inappropriate empirical therapy. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 1251—1254.
21. Garnacho-Montero J., Garcia-Garmendia J.L., Barrero-Almodovar A., Jimenez-Jimenez F.J., Perez-Paredes C., Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31: 2742—2751.
22. Oh J.Y., Kim K.S., Jeong Y.W., Cho J.W., Park J.C., Lee J.C. Epidemiological typing and prevalence of integrons in multiresistant *Acinetobacter* strains. *APMIS* 2002; 110: 247—252.
23. Humphreys H., Towner K.J. Impact of *Acinetobacter* spp. in intensive care units in Great Britain and Ireland. *J Hosp Infect.* 1997; 37: 281—286.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Родоман Григорий Владимирович — д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Сумеди Илья Романович — к.м.н., заместитель главного врача по медчасти, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Зырянов Сергей Кенсаринович — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической и общей фармакологии РУДН, заместитель главного врача по терапии, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Ивжиц Марина Александровна — заведующая отделом клинической фармакологии, врач-клинический фармаколог, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», ассистент кафедры клинической и общей фармакологии РУДН Москва

Ромашов Олег Михайлович — к.м.н., врач-клинический фармаколог, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Александров Максим Игоревич — анестезиолог-реаниматолог, заведующий ОАРИТ ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Маркина Ольга Юрьевна — врач-терапевт, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Лукин Максим Андреевич — заведующий рентгенологическим отделением, кандидат медицинских наук, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Заиграев Иван Андреевич — врач-интерн, кафедра Госпитальной терапии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

Смирнова Марина Рэмовна — врач-анестезиолог реаниматолог высшей категории, ГБУЗ «ГКБ №24 ДЗМ г. Москвы», Москва

Несоответствие по эффективности пневмококковой вакцины в развитых и развивающихся странах: может ли вакцинация сократить разрыв?

Р. КОРНЕТСКИ¹, Д. ГРИНБЕРГ², О. ФАЛУП-ПЕКУРАРИУ³

¹ Факультет здравоохранения и медицины Университета им. Бен-Гуриона, Негев, Беэр-Шева, Израиль

² Отделение детских инфекционных болезней Университетского медицинского центра Сорока, Беэр-Шева, Израиль

³ Педиатрическое отделение Детской клинической больницы Медицинского факультета, Университета Трансильвании, Брашов, Румыния

Введение. *Streptococcus pneumoniae* вызывает серьёзные заболевания, включая пневмонию, менингит и бактериемию, смертность от которых особо велика в развивающихся странах. Цель настоящего исследования — проанализировать, будет ли снижение частоты инвазивной пневмококковой инфекции (ИПИ) и пневмонии в развитых и развивающихся странах близким после внедрения пневмококковой конъюгированной вакцины, а также выявить изменения в несоответствии показателей заболеваемости в этих странах. **Материал и методы.** Поиск литературы проведён с использованием базы данных PubMed и поисковой системы Академия Google. Основным критерием отбора было проведение сравнения заболеваемости ИПИ и пневмонией у детей до и после введения вакцины PCV7, PCV10 или PCV13. Глубокому анализу подвергали только те публикации, в которых был указан коэффициент заболеваемости ИПИ или пневмонией в совокупности с количественными данными. **Результаты.** В совокупности 22 статьи были полнотекстовыми оригинальными публикациями, а одна представляла собой обзорную статью. В течение трёх лет после внедрения PCV в США общая заболеваемость ИПИ снизилась с 98,7 случаев на 100000 до 20 случаев на 100000 детей младше 5 лет, аналогичное снижение было зафиксировано также в Европе, Канаде, Австралии и Израиле. В ЮАР заболеваемость ИПИ среди детей младше 2 лет снизилась от исходного момента времени до 2011 г. с 54,8 до 21,7 случая на 100000 населения и далее уменьшилась до 17,0 случаев на 100000 населения в 2012 г. (общее снижение — 69%). Коэффициент заболеваемости пневмонией у детей в возрасте <5 лет по оценкам составляет 0,29 случая на ребёнка-год в развивающихся странах и 0,05 случая на ребёнка-год в развитых. После внедрения вакцины PCV7 частота госпитализации по поводу пневмонии среди детей младше 5 лет в США уменьшилась с 1274/100000 до 723/100000, в Великобритании — с 1340/100000 детей до 1079/100000 детей. В Никарагуа коэффициент снижения частоты госпитализаций составил 0,67 (95% ДИ: 0,59—0,75) среди новорожденных и 0,74 (95% ДИ: 0,67—0,81) среди детей в возрасте 1 год, в Уругвае она снизилась с 1542/100000 до 1227/100000, а в ЮАР — с ~96/1000 в 2008—2009 гг. до 69,3/1000 (27,8%). **Заключение.** PCV эффективны в отношении уменьшения заболеваемости пневмонией и ИПИ как в развитых, так и в развивающихся странах. Несмотря на то что в развивающихся странах PCV ещё не внедрены, существует надежда, что при включении PCV в национальные программы иммунизации заболеваемость ИПИ, возможно, снизится до уровней развитых стран, что также приведёт к снижению уровня заболеваемости пневмонией. Для более точной оценки степени снижения заболеваемости ИПИ и пневмонией в результате вакцинации необходимо во всех странах, особенно в развивающихся, в которых внедрены PCV, провести мониторинговые исследования.

Ключевые слова: пневмококковые вакцины, дети, пневмония, инвазивная пневмококковая инфекция, заболеваемость.

Введение

Серьёзные заболевания, включая пневмонию, менингит, бактериемию, и такие более лёгкие, но распространённые заболевания, как средний отит, синусит и бронхит, обусловлены пневмококковой инфекцией. Возбудитель — *Streptococcus pneumoniae*, существующий в форме >90 серотипов, основным резервуаром которого являются грудные дети и дети младшего возраста. По оценкам ВОЗ, из 8,8 млн ежегодных смертей в мире среди детей младше 5 лет 476000 (333000 — 529000) случаев вызваны пневмококковыми инфекциями [1], при этом большинство смертей регистрируют в развивающихся странах Африки и Азии. Даже при том, что надлежащее медицинское обслужи-

вание является легкодоступным, инвазивные пневмококковые инфекции могут быстро привести к смерти. В развитых странах до 20% людей, заразившихся пневмококковым менингитом, умирает; однако в развивающихся странах смертность близка к 50% даже среди госпитализированных пациентов [2]. Например, в Гамбии 48% детей, заразившихся пневмококковым менингитом и попавших в больницу, не выживает [3].

Streptococcus pneumoniae является распространённой причиной внебольничной пневмонии (ВБП) [4]. Антибиотикотерапия и применение PCV-вакцин привели к значительному снижению смертности, связанной с ВБП; однако в странах, где доступ к антибиотикам и PCV является ограниченным, смертность от ВБП до сих пор остаётся высокой.

В 1977 г. была зарегистрирована пневмококковая вакцина, которая защищает от 14 разных штаммов, а в 1983 г. показания к применению расширены до 23 штаммов. Эта вакцина является

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: Давид Гринберг, ДМ. Отделение детских инфекционных болезней. Университетский медицинский центр Сорока. Беэр-Шева, Израиль. Эл. почта: dudi@bgu.ac.il. Тел.: 972-8-6400547. Факс: 972-8-6232334

полисахаридной и называется PPSV23. Однако она наиболее эффективна у взрослых и не приводит к непрерывной выработке иммунитета у детей младше двух лет. Отдельная вакцина для детей, которая называется PCV7, была зарегистрирована в 2000 г. PCV7 — это конъюгированная вакцина, её защитное действие расширили до 10 штаммов в 2009 г. и до 13 штаммов в 2010 г. (PCV10 и PCV13, соответственно).

Разработка вакцин критически важна для контроля заболеваемости пневмококковыми инфекциями, особенно после усиления резистентности *S.pneumoniae* к широко используемым антибиотикам вследствие их применения в течение более чем 30 лет. Пневмококковые вакцины включают 23-валентную полисахаридную вакцину и 7-, 10-, 11- и 13-валентные конъюгированные вакцины (PCV7, PCV10, PCV11, PCV13), при этом PCV7 постепенно выводится с рынка. Серотипы PCV7 охватывают 65–80% серотипов, ассоциированных с инвазивными пневмококковыми инфекциями у детей младшего возраста в развитых западных странах, а PCV10 и PCV13 обладают даже большим охватом.

Центр контроля и профилактики заболеваний (CDC) США сообщил о 90% уменьшении заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями (ИПИ), вызываемыми *S.pneumoniae* у детей младшего возраста после внедрения PCV7 [5]. Во многих странах применение пневмококковых конъюгированных вакцин в повседневной практике привело к резкому снижению заболеваемости ИПИ, а в некоторых местах ИПИ, вызываемые серотипами вакцины, практически исчезли, даже в тех возрастных группах, которые не являются основным объектом действия программ иммунизации (популяционный иммунитет) [6].

Применение вакцин. В США вакцина PCV7 была зарегистрирована в 2000 г., когда Управление по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) разрешило вакцину к применению у грудных детей и детей младшего возраста. Также в 2000 г. Консультативный комитет по практике иммунизации (ACIP) рекомендовал применение PCV7 в установленном порядке у детей в возрасте 2–23 мес и детей в возрасте 24–59 мес, которые находятся в группе повышенного риска пневмококковых инфекций (состояния с ослабленным иммунитетом и хронические заболевания) [7]. В 2007 г. ACIP пересмотрел свои рекомендации относительно применения вакцины в установленном порядке с целью включения всех детей в возрасте 2–59 мес [8].

В Европе последовали этому примеру, разрешив применение PCV7 уже в 2001 г. По состоянию на январь 2009 г. 24 (75%) из 32 государств-членов ЕС включили или приняли решение о

включении PCV7 в календари прививок детей [9]. Семнадцать стран осуществили программы всеобщей вакцинации, тогда как оставшиеся семь стран предложили использовать PCV7 только в группах риска. В феврале 2010 г. FDA разрешило к применению вакцину PCV13, которая в настоящее время заменила PCV7 в США. На данный момент PCV10 и PCV13 также зарегистрированы в Европейском Союзе и широко применяются по всей Европе [10].

Вследствие успешного применения PCV-вакцин ВОЗ рекомендует включить PCV в программы иммунизации детей по всему миру, особенно в странах с высокой детской смертностью (т.е. там, где смертность детей младше 5 лет составляет >50 смертей на 1000 рождённых) [11]. Однако более 50% государств-членов ВОЗ, включая страны с низким уровнем дохода и высоким бременем пневмококковых инфекций, только собираются включить PCV в национальные программы иммунизации. По состоянию на апрель 2013 г. внедрение программ вакцинации PCV осуществлено в 21 (60%) из 35 государств-членов в Северной, Центральной и Южной Америке, 11 (50%) из 22 государств-членов в Восточном регионе Средиземного моря, 26 (49%) из 53 государств-членов в Европе, 19 (41%) из 46 государств-членов в Африке, девять (33%) из 27 государств-членов в Западной части Тихого океана и 1 из 11 государств-членов в Юго-Восточной Азии [12]. Доступ к вакцинам в развивающихся странах продолжает расширяться при содействии Всемирного альянса по вакцинации и иммунизации (GAVI), который с 2010 г. внедрил PCV не менее чем в 32 странах [13].

Целью исследования было установить, будет ли снижение частоты ИПИ и пневмонии в развитых и развивающихся странах близким, а также выявить изменения в несоответствии показателей заболеваемости в этих странах.

Материал и методы

Поиск литературы провели с использованием базы данных PubMed и поисковой системы Академия Google. Основным критерием отбора было проведение в исследовании сравнения заболеваемости ИПИ и пневмонией у детей до и после введения вакцин PCV7, PCV10 или PCV13. Комбинации поисковых терминов, использованные при поиске по базе данных, включали инвазивную пневмококковую инфекцию, пневмонию, пневмококковую пневмонию, пневмококковую конъюгированную вакцину, коэффициент заболеваемости и развивающиеся страны. Рефераты этих статей проанализировали на предмет важности и наличия коэффициентов заболеваемости. Подробному анализу подвергали только те публикации, в которых был указан коэффициент заболеваемости ИПИ или пневмонией в сочетании с количественными данными. Если коэффициент заболеваемости не был нормирован на объём совокупности, статьи обычно исключали, кроме случаев, касающихся развивающихся стран, по которым имелось меньше данных. В конечном итоге, для полного анализа отобрали 23 статьи. Из 23 отобранных статей 22 статьи были полнотекстовыми оригинальными публика-

циями, а одна представляла собой обзорную статью. Пятнадцать включённых статей поступило из развитых стран, 8 статей — из развивающихся.

Результаты исследования

Несоответствие по заболеваемости ИПИ на исходном уровне. В 2000 г. по оценкам в мире произошло 14,5 млн эпизодов серьёзных пневмококковых инфекций. Пневмококковые инфекции привели примерно к 826000 смертей у детей в возрасте 1–59 мес, из которых 91000 наступило у ВИЧ-положительных детей, а 735000 — у ВИЧ-отрицательных. Из всех смертей у ВИЧ-отрицательных детей более 61% приходился на десять африканских и азиатских стран. Из этих данных по миру видно, что развивающиеся страны несут большее бремя заболеваний по сравнению с развитыми [14].

Оценка уровня заболеваемости пневмококковыми инфекциями в развивающихся странах является относительно сложной. Это обусловлено рядом факторов, включающих трудности, связанные с проведением обязательных лабораторных исследований и забора образцов, а также отсутствие данных по надзору за качеством в развивающихся странах. Тем не менее, некоторые данные доступны. До широкого распространения иммунизации с применением PCV7 между развивающимися и развитыми странами существовало значительное расхождение по годовой заболеваемости ИПИ. Например, средний годовой показатель заболеваемости ИПИ у детей в возрасте <2 лет в Европе составил 44,4/100000 в год, в США — 167/100000 [15, 16]. Для сравнения, годовой показатель заболеваемости ИПИ среди детей младше 2 лет в Африке варьировал от 60/100000 в ЮАР до начала эпидемии ВИЧ до 797/100000 в Мозамбике [17–19].

Несоответствие по заболеваемости пневмонией на исходном уровне. Детская пневмония является единственной основной причиной смертности у детей младше 5 лет. Заболеваемость в этой возрастной группе по оценкам составляет 0,29 случая на ребёнка-год в развивающихся странах и 0,05 случая на ребёнка-год в развитых. Это соответствует ежегодному общемировому количеству новых эпизодов, составляющему 156 млн, из которых 151 млн эпизодов происходит в развивающихся странах. Большинство случаев наблюдается в Индии (43 млн), Китае (21 млн) и Пакистане (10 млн), также высокими показателями характеризуются Бангладеш, Индонезия и Нигерия (по 6 млн каждая) [20]. Частота носительства в носоглотке в определённый момент времени также отличается и варьирует от 27% — в развитых странах до 85% — в развивающихся [11].

Изначально существующая ВИЧ-инфекция или первопричинные состояния, такие как серповидноклеточная анемия, могут повысить риск развития у ребёнка пневмококковой инфекции. По причине высокой распространённости ВИЧ-инфекции в развивающихся странах, а также серпо-

видноклеточной анемии в африканских странах южнее Сахары, дети в развивающихся странах находятся под угрозой значительно более высокого риска серьёзной пневмококковой инфекции [14, 17, 21]. Кроме того, отсутствие в развивающихся странах санитарной профилактики и здорового питания существенно увеличивает бремя заболевания. С. Reed и др. (2012 г.) разработали шкалу оценки степени тяжести заболевания у детей в ЮАР, госпитализированных с пневмонией, и показали, что гипоксия и недостаточное питание были наиболее сильными прогностическими факторами с точки зрения смертности у детей без ВИЧ [22].

Снижение заболеваемости ИПИ. Влияние PCV7 и PCV13 в развитых странах очень хорошо задокументировано (табл. 1). В течение трёх лет после внедрения в США общая заболеваемость ИПИ снизилась с 98,7 случая на 100000 детей младше пяти лет до немного более 20 случаев на 100000 детей в 2002 г. и с тех пор остаётся низкой [23]. В 2013 г. Т. Т. Muint и др. опубликовали подробный обзор влияния PCV7 на заболеваемость ИПИ, который включал 30 исследований из Австрии, Бельгии, Дании, Германии, Нидерландов, Норвегии, Испании, Англии, США, Канады и Австралии. В исследованиях, которые включали любых детей младше пяти лет, заболеваемость до вакцинации в среднем составляла 68,3/100000, тогда как после вакцинации PCV7 она составила 32,9/100000 (снижение на 52%) [24]. В Израиле заболеваемость ИПИ снизилась с 50,7/100000 перед вакцинацией до 29,2/100000 после вакцинации PCV7 и далее уменьшилась до 18,8/100000 детей младше пяти лет после внедрения PCV13 [25]. В Наварре (Испания) в июне 2001 г. появилась вакцина PCV7, в ноябре 2009 г. была внедрена 10-валентная вакцина (PCV10), а с июня 2010 г. PCV7 заменили 13-валентной вакциной (PCV13). После внедрения PCV7 за период 2001–2009 гг. заболеваемость ИПИ снизилась с 87 до 54 на 100000 детей младше пяти лет и далее уменьшилась до 19/100000 детей после внедрения PCV13 [26]. В Норвегии заболеваемость у детей младше двух лет уменьшилась с 77/100000 в 2005 г. до 20/100000 (снижение на 74%) — в 2010 г. после внедрения PCV7 и далее до 8,1/100000 — в 2012 г. после внедрения PCV13 [27]. В Англии и Уэльсе в 2008–2010 гг. заболеваемость составляла 22,2 (возраст <2 лет) и 7,8 (2–4 года) на 100000 детей, а в 2013 г., после внедрения PCV 13, снизилась до 12,1 (возраст <2 лет) и 4,1 (2–4 года) на 100000 [28]. После внедрения PCV13 в Канаде за период 2010–2012 гг. заболеваемость ИПИ среди детей в возрасте <5 лет уменьшилась с 18,0 до 14,2 случая на 100000 населения [29].

В развитых странах Азии также наблюдалось выраженное снижение заболеваемости ИПИ. На Тайване вакцина PCV7 была внедрена в 2005 г., однако её не включили в национальную программу

Таблица 1. Снижение заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями после внедрения PCV

Ссылка	Страна	Возраст, лет	Вакцина	Заболеваемость ИПИ		Темпы снижения от исходного уровня, %
				до вакцинации PCV	после вакцинации PCV	
Pilishvili и др. 2010 г. [23]	США	<5	PCV7	98,7/100000	20/100000	79,7
Myint и др. 2013 г. [24] ¹	Австрия, Бельгия, Дания, Германия, Нидерланды, Норвегия, Испания, Англия, США, Канада и Австралия	<5	PCV7	68,3/100000	32,9/100000	51,8
Ben-Shimol и др. 2014 г. [25]	Израиль	<5	PCV7	50,7/100000	29,2/100000	42,4
			PCV13		18,8/100000	62,9
Guevara и др. 2014 г. [26]	Испания	<5	PCV7	87/100000	54/100000	37,9
			PCV13		19/100000	78,2
Steens и др. 2013 г. [27]	Норвегия	<2	PCV7	77/100000	20/100000	74
			PCV13		8,1/100000	89,5
Waight и др. 2015 г. [28]	Англия и Уэльс	<2	PCV7 и 13	22,22/100000	12,03/100000	32,4
		2—4	PCV7 и 13	7,77/100000	4,08/100000	47,5
Demczuk и др. 2013 г. [29]	Канада	<5	PCV13	18	14/100000	22,2
Lai и др. 2014 г. [31]	Тайвань	<5	PCV7/13	9,8/10000	2,1/10000	78,6
Ishiwada и др. 2014 г. [32]	Япония	<5	PCV7	26,1	9,3/100000	64,4
Von Gottberg и др. 2014 г. [33]	ЮАР	<2	PCV7	54,8	21,7/100000	60,4
			PCV13		17,0/100000	69,0
Chacon-Cruz и др. 2014 г. [34]	Мексика	<15	PCV7	6 случаев	3 случая	50
			PCV13		2 случая	66,7

Примечание. ¹ среднее по перечисленным странам.

иммунизации, и свободный доступ к ней имели только дети с высоким риском. В конечном итоге, в 2013 г. PCV включили в национальную программу всеобщей вакцинации [30]. В исследовании небольшого масштаба с участием детей младше пяти лет, проведенном в медицинском центре на Тайване, годовая заболеваемость (на 10000 госпитализаций) ИПИ достоверно уменьшилась с 9,8 в 2000 г. до 2,1 в 2012 г. (снижение на 79%) [31]. В Японии PCV13 была внедрена в 2010 г., а в 2013 г. стала частью стандартной схемы в рамках национальной программы иммунизации. В исследовании совокупности испытуемых из Тиба (Япония), заболеваемость ИПИ (количество случаев/100000) среди детей младше пяти лет снизилась с 26,1 — в 2009 г. до 9,3 — в 2013 г. (снижение на 65%) [32].

В развивающихся странах данных надзора по ИПИ имеется меньше, так как внедрение PCV-вакцин пока находится на низком уровне и, следовательно, было проведено меньше исследований. Однако в странах, где PCV внедрена, уменьшение количества случаев ИПИ стало очевидным. В ЮАР в 2009 г. была внедрена вакцина PCV7, а в 2011 г. её заменили на PCV13. Заболеваемость ИПИ среди детей младше двух лет снизилась с 54,8 до 21,7 случая на 100000 в интервале от исходного уровня до 2011 г. и затем уменьшилась до 17,0 случаев на 100000 населения в 2012 г. (общее снижение — 69%) [33]. В небольшом исследовании, проведенном в Тихуаны (Мексика) в больнице общего типа, было установлено, что после внедрения в 2006 г. вакцины PCV7 в программу всеобщей иммуниза-

ции, общее количество стационарных случаев у детей младше 15 лет уменьшилось с 6 до 3. После замены PCV7 на PCV13 в мае 2012 г. количество случаев уменьшилось до 2 [34].

Снижение заболеваемости пневмонией. Пневмококковая пневмония — это самая распространенная пневмококковая инфекция. Внедрение PCV существенно уменьшило количество случаев пневмонии как в развитых, так и в развивающихся странах (табл. 2). В США после внедрения PCV7 частота госпитализации по поводу пневмонии уменьшилась с 1274/100000 до 723/100000 у детей младше двух лет и с 411 до 50 на 100000 у детей в возрасте 2—4 лет [35]. В Великобритании после внедрения PCV7 в 2006 г. заболеваемость у детей младше пяти лет снизилась с 33,8/10000 детей в 2001 г. до 27,4/10000 в 2009 г. [36]. В другом британском исследовании частота госпитализации по поводу бактериальной пневмонии уменьшилась с 1340/1000000 детей до вакцинации PCV7 (2005 г.) до 1079/1000000 детей (снижение на 19%) [37, 38]. В Израиле годовая заболеваемость (на 1000 населения) у детей младше пяти лет уменьшилась с 13,8 — в период до вакцинации PCV до 11,2 — в период вакцинации PCV7 и до 7,4 — в период вакцинации PCV13, чему соответствует снижение на 13 и 47%, соответственно [39]. В исследовании, проведенном в Кельце (Польша), в период, предшествовавший внедрению PCV7, средняя частота госпитализации по поводу пневмонии составила 41,48/1000 и 6,15/1000 у детей в возрасте менее 1 года и 2—4 го-

Таблица 2. Снижение заболеваемости пневмонией после внедрения PCV

Ссылка	Страна	Возраст, лет	Вакцина	Заболеваемость ИППИ		Темпы снижения от исходного уровня, %
				до вакцинации PCV	после вакцинации PCV	
Griffin и др. 2013 г. [35]	США	<2	PCV7	1274/100000	723/100000	43,2
		2—4	PCV7	411/100000	350/100000	14,8
Elemraid и др. [36]	Великобритания	<5	PCV7	338/100000	274/100000	18,9
Koshy и др. 2010 г. [37] ¹	Великобритания	<15	PCV7	134/100000	108/100000	19,4
Greenberg и др. 2015 г. [38]	Израиль	<5	PCV7	13,8/1000	11,2/1000	18,8
			PCV13		7,4/1000	46,4
Patrzalek и др. 2010 г. [39]	Польша	<1	PCV7	41,48/1000	13,51/1000	67,4
		2—4		6,15/1000	3,85/1000	37,4
Angoulvant и др. 2014 г. [40]	Франция	<2	PCV13	757 случаев	516 случаев	31,8
		2—5	PCV13	833	695	16,6
Lai и др. 2014 г. [31]	Тайвань	<5	PCV7/13	0,9/10000	0,6/10000	33,3
Ishiwada и др. [32]	Япония	<5	PCV7	24 случая	4 случая	83,3
Alfonso и др. 2013 г. [41]	Бразилия	<2	PCV10	—	—	26,5 ²
Abrão и др. 2015 г. [42]	Бразилия	<2	PCV10	—	—	40
Becker-Dreps и др. 2014 г. [43]	Никарагуа	<1	PCV13	7/100	5/100	28,5
		1—2		ребёнок-лет 2,8/100	ребёнок-лет 1,5/100	
		2—5		ребёнок-лет 0,5/100	ребёнок-лет	46,4
		0		ребёнок-лет 0,5/100		
Hortal и др. 2014 г. [44] ³	Уругвай	<5	PCV7/13	1542/100000	1,227/100000	20,4
Pérez и др. [45] ⁴	Уругвай	0—14	PCV7/13	879/10000	193/10000	78,0
Madhi и др. 2014 г. [46]	ЮАР	<5	PCV7/13	96/1000	69,3/1000	27,8

Примечание. ¹ только бактериальная пневмония; ² среднее по 3 городам в Бразилии, мониторируемых в этом исследовании; ³ только объединенные данные по пневмонии; ⁴ показатели выписки из больниц после внебольничной пневмонии.

да, соответственно. После внедрения показатели уменьшились до 13,51/1000 — у детей младше 1 года и до 3,85/1000 — у детей в возрасте 2—4 года [39]. Во французском исследовании было показано, что частота внебольничной пневмонии уменьшилась за три года на 31,8% — у детей младше 2 лет и на 16,7% — у детей в возрасте 2—5 лет по данным до и после вакцинации PCV13 [40]. На Тайване заболеваемость пневмонией снизилась с 0,9/10000 госпитализаций — в 2000 г. до 0,6 — в 2012 г. [31]. В исследовании, проведённом в Тиба (Япония), количество случаев пневмонии уменьшилось с 24 случаев — в 2008 г. до 4 случаев — в 2013 г. после внедрения PCV [32].

В развивающихся странах в результате применения PCV количество случаев пневмонии также уменьшилось. В Бразилии PCV10 включили в национальную программу иммунизации в 2010 г. Достоверное уменьшение частоты госпитализации по поводу пневмонии у детей наблюдалось в трёх регионах Бразилии, отличающихся по климатическим условиям и социально-экономическим характеристикам: Белу-Оризонте (28,7%), Куритиба (23,3%) и Ресифе (27,4%) [41]. Другое бразильское исследование, проведённое в учреждениях первичной медицинской помощи Гуаранезии и в больницах Гуаранезии и Гуашупе (штат Минас-Жерайс), на юге Бразилии, показало 40% уменьшение рас-

пространённости внебольничной пневмонии (ВБП) после внедрения пневмококковой конъюгированной вакцины [42]. Никарагуа стала первой развивающейся страной, которая в 2010 г. включила PCV13 в национальную программу иммунизации с использованием схемы вакцинации «3+0». Скорректированное отношение показателей заболеваемости по данным о госпитализации по поводу пневмонии в период вакцинации (2011—2012 гг.) и в период до вакцинации (2008—2010 гг.) составило 0,67 (95% ДИ: 0,59—0,75) у новорождённых и 0,74 (95% ДИ: 0,67—0,81) у детей в возрасте одного года [43]. Уругвай был первой латиноамериканской страной, включившей в 2008 г. в национальную программу иммунизации вакцину PCV7, которую в 2010 г. заменили на PCV13. Общий показатель госпитализации детей младше пяти лет по поводу пневмонии уменьшился с 1542/100000 до 1227/100000 [44]. В другом уругвайском исследовании показатель выписки после ВБП на 10000 детей в возрасте 0—14 лет в период до вакцинации PCV (2003—2007 гг.) составил 879 против 193 в 2012 г. (после внедрения PCV7/13 снижение на 78,1%) [45]. В ЮАР произошло уменьшение заболеваемости пневмонией с ~96/1000 — в 2008—2009 гг. до 69,3/1000 (27,8%) — в 2012 г. [46].

Устранение расхождений. Заболеваемость ИППИ после вакцинации в ЮАР снизилась до уровня,

аналогичного таковому в других развитых странах после внедрения PCV7 (27,5/100000 — развитые страны, 20,1/100000 — ЮАР), хотя это было продемонстрировано только в одном исследовании, проведённом в ЮАР. Темпы уменьшения количества случаев ИПИ/100000 детей/год также были немного больше в ЮАР (9,5 случая/100000/год) по сравнению с данными аналогичных исследований, проведённых в развитых странах — Испании и Израиле (6,4–6,8 случая/100000 в год), в которых также отслеживали снижение заболеваемости ИПИ до и после внедрения PCV7 и затем после её замены на PCV13. Однако в большинстве развивающихся стран слишком рано фиксировать эффекты, так как предварительно не было задано никакого исходного уровня, а вакцины были внедрены совсем недавно. Также может оказаться, что для надлежащего наблюдения замещения серотипов прошло слишком мало времени после внедрения PCV (особенно PCV13), и такое резкое снижение может быть лишь временным.

С точки зрения заболеваемости пневмонией, в развивающихся странах PCV оказалась не такой эффективной, как в развитых, однако она обладала некоторым эффектом. Степень снижения заболеваемости пневмонией у детей в развитых и развивающихся странах близка по величине. Однако абсолютный коэффициент заболеваемости в развивающихся странах до сих пор высок. Вероятно, это можно объяснить рядом следующих факторов:

- 1) использование разных вакцин, например PCV-10 в Бразилии и PCV7, а затем PCV13 в большинстве развитых стран;
- 2) в большинстве развитых стран используется схема вакцинации 2+1, тогда как в США используется схема 3+1, а в некоторых развивающихся странах — 3+0 и даже схема, соответствующая рекомендациям Европейской Фармакопеи;
- 3) различиями в охвате вакцинацией, в развивающихся странах доступ к вакцинам может быть затруднён;
- 4) факт существования пневмонии непневмококковой (вирусной) этиологии и вирусной этиологии, заболеваемость которыми в развивающихся

ся странах также выше, чем в развитых, и на которые не действует вакцинация PCV.

Кроме того, другие заболевания, такие как малярия, могут проявляться как пневмония.

Таким образом, использование различных методов диагностики пневмонии может сделать затруднительным сравнение степени снижения заболеваемости. Однако, если отдельно от всех случаев пневмонии рассмотреть только подтверждённые случаи пневмококковой пневмонии, можно наблюдать более близкие показатели снижения в развивающихся и развитых странах. Кроме того, развивающиеся страны могут приводить заниженные данные по случаям, так как многие популяции до сих пор удалены от цивилизации, поэтому частота пневмонии в действительности может быть выше.

Заключение

PCV эффективны в отношении снижения заболеваемости ИПИ как в развитых, так и в развивающихся странах, о чём свидетельствует сравнение результатов применения PCV в ЮАР и Мексике относительно развитых стран. Хотя в развивающихся странах внедрение PCV не осуществлено, есть надежда, что при включении PCV в национальные программы иммунизации заболеваемость ИПИ, возможно, снизится до уровня, наблюдаемого в развитых странах, что также приведёт к снижению заболеваемости пневмонией. Несмотря на то что заболеваемость пневмококковой пневмонией в развивающихся странах уменьшилась, пневмония другой этиологии более распространена в этих странах, поэтому необходимо провести дальнейшие исследования с целью мониторинга этих изменений, особенно в таких регионах. Для более точной оценки степени снижения заболеваемости ИПИ и пневмонией в результате вакцинации необходимо во всех странах, особенно в развивающихся, в которых внедрены PCV, провести больше мониторинговых исследований. Мониторинг также необходим для изучения возможного замещения серотипов и других микроорганизмов во всех странах после внедрения PCV.

ЛИТЕРАТУРА

1. Organization W.H. Estimated Hib and pneumococcal deaths for children under 5 years of age. 2008.
2. Organization W.H. Pneumococcal Vaccines: WHO position paper. Weekly Epidemiol Record 2003; 14: 110-119.
3. Goetghebuer T. et al. Outcome of meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b in children in The Gambia. Trop Med Intern Health 2000; 5: 3: 207-213.
4. Jain, S. et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among US children. New England J Med 2015; 372: 9: 835–845.
5. Centers for Disease, C. and Prevention. Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease in United States, 1998-2003. MMWR. Morbid Mortal Weekly Report. 2005; 54 36: 893.
6. American Academy of Pediatrics, Committee on Infections, D., Recommendations for the prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections in infants and children: use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23). Pediatrics 2010; 126: 1: 186.
7. Van Beneden C.A. et al. Preventing pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morbid Mortal Weekly Report: Recommendations and Reports 2000; 1–35.
8. Centers for Disease, C., Prevention, and P. Advisory Committee on Immunization, Updated Recommendation from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) for use of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) in children aged 24–59 months who are not completely vaccinated. MMWR. Morbid Mortal Weekly Report, 2008; 57: 13: 343.
9. De Carvalho G.H. et al. Use of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) in Europe, 2001-2007. Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin, 2009; 14: 12: 334-338.
10. Torres A. et al. Pneumococcal vaccination: what have we learnt so far and what can we expect in the future? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015; 34: 1: 19-31.

11. *Publication W.H.O.* Pneumococcal vaccines WHO position paper-2012-recommendations. *Vaccine* 2012; 30: 32: 4717–4718.
12. Centers for Disease C. and Prevention, Progress in introduction of pneumococcal conjugate vaccine-worldwide, 2000–2012. *MMWR. Morbid Mortal Weekly Report*, 2013; 62: 16: 308.
13. *Division U.S.* Pneumococcal Conjugate Vaccine: Current Supply & Demand Outlook. 2013.
14. *O'Brien K.L. et al.* Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *The Lancet* 2009; 374: 9693: 893–902.
15. *Isaacman D.J., McIntosh E.D., Reinert R.R.* Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates in young children in Europe: impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines. *Internat J Infect Dis* 2010. 14(3): p. e197–e209.
16. *Black S. et al.* Pneumococcal conjugate vaccine and pneumococcal common protein vaccines. Vaccines. 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 2008; 531–568.
17. *Roca A. et al.* Invasive pneumococcal disease in children < 5 years of age in rural Mozambique. *Trop Med Internat Health* 2006; 11: 9: 1422–1431.
18. *Karstaedt A.S., Khoosal M., Crewe-Brown H.H.* Pneumococcal bacteremia during a decade in children in Soweto, South Africa. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 5: 454–457.
19. *Cutts F.T. et al.* Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal disease in the Gambia: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 9465: 1139–1146.
20. *Rudan I. et al.* Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; 86: 5: 408–416B.
21. *Wong W.Y., Overturf G.D., Powars D.R.* Infection caused by *Streptococcus pneumoniae* in children with sickle cell disease: epidemiology, immunologic mechanisms, prophylaxis, and vaccination. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 5: 1124–1136.
22. *Reed C. et al.* Development of the respiratory index of severity in children (RISC) score among young children with respiratory infections in South Africa. *PLoS one* 2012; 7: 1: e27793.
23. *Pilishvili T. et al.* Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis* 2010; 201: 1: 32–41.
24. *Myint T.T. et al.* The impact of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease: a literature review. *Adv Ther* 2013; 30: 2: 127–151.
25. *Ben-Shimol S. et al.* Early impact of sequential introduction of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on IPD in Israeli children <5 years: an active prospective nationwide surveillance. *Vaccine* 2014; 32: 27: 3452–3459.
26. *Guevara M. et al.* Reduced incidence of invasive pneumococcal disease after introduction of the 13-valent conjugate vaccine in Navarre, Spain, 2001–2013. *Vaccine* 2014; 32: 22: 2553–2562.
27. *Steens A. et al.* Prompt effect of replacing the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine with the 13-valent vaccine on the epidemiology of invasive pneumococcal disease in Norway. *Vaccine* 2013; 31: 52: 6232–6238.
28. *Waight P.A. et al.* Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 5: 535–543.
29. *Demczuk W.H. et al.* Serotype distribution of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Canada after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine, 2010–2012. *Can J Microbiol* 2013; 59: 12: 778–788.
30. *Wang M.-C. et al.* Impact of pneumococcal conjugate vaccine on pediatric tympanostomy tube insertion in partial immunized population. *The Scientific World Journal*, 2015. 2015.
31. *Lai C.-C. et al.* Decline in the incidence of invasive pneumococcal disease at a medical center in Taiwan, 2000–2012. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 1: 76.
32. *Ishiwada N. et al.* The incidence of pediatric invasive *Haemophilus influenzae* and pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan before and after the introduction of conjugate vaccines. *Vaccine* 2014; 32: 42: 5425–5431.
33. *von Gottberg A. et al.* Effects of vaccination on invasive pneumococcal disease in South Africa. *New Engl J Med* 2014; 371: 20: 1889–1899.
34. *Chacon-Cruz E., Rivas-Landeros R.M., Volker-Soberanes M.L.* Early trends in invasive pneumococcal disease in children following the introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: results from eight years of active surveillance in a Mexican hospital. *Therapeut Advanc Vaccin* 2014. 2051013614547199.
35. *Griffin M.R. et al.* US hospitalizations for pneumonia after a decade of pneumococcal vaccination. *New Engl J Med* 2013; 369: 2: 155–163.
36. *Elemraid M.A. et al.* Impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on the incidence of childhood pneumonia. *Epidemiol Infect* 2013; 141: 08: 1697–1704.
37. *Koshy E. et al.* Impact of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccination (PCV7) programme on childhood hospital admissions for bacterial pneumonia and empyema in England: national time-trends study, 1997–2008. *Thorax* 2010; 65: 9: 770–774.
38. *Greenberg D. et al.* Impact of PCV7/PCV13 introduction on community-acquired alveolar pneumonia in children <5 years. *Vaccine* 2015.
39. *Patrzalek M., Albrecht P., Sobczynski M.* Significant decline in pneumonia admission rate after the introduction of routine 2+1 dose schedule heptavalent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) in children under 5 years of age in Kielce, Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010; 29: 7: 787–792.
40. *Angoulvant F. et al.* Early impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on community-acquired pneumonia in children. *Clin Infect Dis* 2014; 58: 7: 918–924.
41. *Afonso E.T. et al.* Effect of 10-valent pneumococcal vaccine on pneumonia among children, Brazil. *Emer Infect Dis* 2013; 19: 4: 589.
42. *Abrao W.M.O. et al.* Impact of the antipneumococcal conjugate vaccine on the occurrence of infectious respiratory diseases and hospitalization rates in children. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2015; 48: 1: 44–49.
43. *Becker-Dreps S. et al.* Changes in childhood pneumonia and infant mortality rates following introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Nicaragua. *Ped Infect Dis J* 2014; 33: 6: 637–642.
44. *Hortal M. et al.* Impact of pneumococcal conjugate vaccines on the incidence of pneumonia in hospitalized children after five years of its introduction in Uruguay. 2014.
45. *Pérez M.C. et al.* Changes in hospitalizations for pneumonia after universal vaccination with pneumococcal conjugate vaccines 7/13 valent and *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in a pediatric referral hospital in Uruguay. *Ped Infect Dis J*, 2014; 33: 7: 753–759.
46. *Madhi S.A., Bamford L., Ngcobo N.* Effectiveness of pneumococcal conjugate vaccine and rotavirus vaccine introduction into the South African public immunisation programme. *SAMJ: South Afric Med J* 2014. 104(3): p. 228–234.

Disparities in Effectiveness of Pneumococcal Vaccine in Industrialized and Developing Countries: Is Vaccination Closing the Gap?

RACHEL KORNETSKY¹, DAVID GREENBERG^{1,2}, OANA FALUP-PECURARIU³

¹ Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel,

² Pediatric Infectious Disease Unit, Soroka University Medical Center, Beer-Sheva, Israel

³ Department of Pediatrics, Children's Clinic Hospital, Faculty of Medicine, Transilvania University, Brasov, Romania

Background *Streptococcus pneumoniae* cause serious disease including pneumonia, meningitis and bacteremia and mortality is seen most in developing countries. The aim of the study was to determine if the reduction in IPD and pneumonia rates were similar in developed and developing countries after the introduction of the pneumococcal conjugated vaccine and to determine changes in the disparities of these diseases rates in these countries. **Methods.** Literature searches were conducted by using the PubMed database and Google scholar. The main criterion for selection was that the studies compare incidence of IPD or pneumonia in children pre and post PCV7, PCV10, or PCV13 vaccine introduction. Only published articles that described the incidence rate of IPD or pneumonia with quantitative data were fully reviewed in detail. **Results.** A total of 22 articles were full-text original publications and one was a review article. Within 3 years of PCV introduction in the United States, all-cause IPD dropped from 98.7/100,000 to 20/100,000 children <5 years of age and similar such reductions were also documented in Europe, Canada, Australia and Israel. In South Africa, rate of IPD incidence among children younger than 2 years of age declined from 54.8 to 21.7 cases per 100,000 from the baseline to 2011 and the further decreased to 17.0 cases per 100,000 person in 2012 (total reduction of 69%). The incidence rates of pneumonia in children <5 years were estimated to be 0.29 episodes per child-year in developing and 0.05 episodes per child-year in developed countries. After PCV7 introduction the rates of pneumonia hospitalizations in <5 years old decreased in the US from 1,274/100,000 to 723/100,000 in UK, from 1,340/100,000 children to 1,079/per 100,000 children. In Nicaragua reduction of rate ratio of 0.67 (95% CI: 0.59–0.75) among infants and 0.74 (95% CI: 0.67–0.81) among 1 year olds and Uruguay from 1,542/100,000 to 1,227/100,000 and in South Africa, from ~96/1,000 in 2008–2009 to 69.3/1,000 (27.8%). **Conclusions.** PCVs are effective in both industrialized and developing countries in reducing IPD and pneumonia. Although developing countries are behind in PCV introduction, there is hope that if PCV is introduced in national immunization programs, IPD can perhaps be reduced to that of levels in industrialized countries, also resulting in reduced levels of pneumonia incidences. More surveillance studies are needed in all countries, but especially in developing countries that have introduced PCV to more accurately determine IPD and pneumonia reduction as a result of vaccination.

Introduction

Serious disease including pneumonia, meningitis, bacteremia and milder but common illnesses such as otitis media, sinusitis and bronchitis are caused by pneumococcal infection. The causative agent *Streptococcus pneumoniae* includes >90 serotypes, and infants and young children are thought to be the main reservoir. Of the estimated 8.8 million global annual deaths among children <5 years of age, the WHO estimated that 476,000 (333,000–529,000) were caused by pneumococcal infections [1], with the majority of deaths occurring in developing countries in Africa and Asia. Even when good medical treatment is readily available invasive pneumococcal infections can prove to be rapidly fatal. In developed countries, up to 20% of people who contract pneumococcal meningitis die; however, in the developing world, mortality is closer to 50%, even among hospitalized patients [2]. For example, 48% of children who contracted pneumococcal meningitis and reached a hospital in Gambia did not survive [3].

Streptococcus pneumoniae is a common cause of community-acquired pneumonia (CAP)[4].

Antibiotic therapy and PCV vaccines have greatly reduced mortality caused by CAP; however in countries where access to antibiotics and PCV is limited, rate of mortality due to CAP is still high.

Pneumococcal vaccine that protected against 14 different strains was licensed in 1977, and expanded to protect against 23 strains in 1983. This vaccine is a polysaccharide vaccine called PPSV23. However, it is most effective in adults, and does not consistently generate immunity in children younger than two years old. A separate vaccine for children called PCV7 was licensed in 2000. PCV7 is a conjugate vaccine and was expanded to include protection against 10 strains in 2009 and 13 strains in 2010, (PCV 10 and PCV13 respectively).

Development of vaccines has been crucial to the control of pneumococcal disease, especially since resistance of *S.pneumoniae* to commonly used antibiotics has grown due to use for more than 30 years. Pneumococcal vaccines include a 23-valent polysaccharide vaccine and 7, 10, 11, and 13-valent conjugate vaccines (PCV7, PCV10, PCV11, PCV13), however PCV7 is gradually being removed from the market. PCV7 serotypes cover 65–80% of serotypes associated with invasive pneumococcal disease among young children in industrialized western countries, and PCV10 and PCV13 have even more coverage. The US

Corresponding author:

David Greenberg, MD. The Pediatric Infectious Disease Unit. Soroka University Medical Center. Beer-Sheva, Israel. E-mail: dudi@bgu.ac.il. Tel: 972-8-6400547. Fax: 972-8-6232334

CDC has reported up to 90% reduction of the incidence of invasive pneumococcal diseases (IPD) caused by *S.pneumoniae* in young children with the introduction of PCV7 [5]. In many countries routine use of pneumococcal conjugate vaccines has dramatically reduced the incidence of IPD and in some places IPD caused by vaccine serotypes has virtually disappeared, even in age groups not primarily targeted by the immunization program (herd immunity effect) [6].

Usage of Vaccine. In the United States PCV7 has been administered since 2000 when the Food and Drug Administration (FDA) licensed it for use among infants and young children. Also in 2000, Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) recommended routine use of PCV7 for all children aged 2–23 months and children aged 24–59 months who are at increased risk for pneumococcal disease (immunocompromising conditions or chronic illness) [7]. In 2007, the ACIP revised its recommendation for routine use to include all children aged 2–59 months [8].

Europe closely followed suit, licensing use of PCV7 shortly after in 2001. By January 2009, 24 (75%) of 32 participating EU countries had introduced or decided to introduce PCV7 in their childhood vaccination schedule [9]. Seventeen countries implemented universal vaccination programs, while the other seven offered PCV7 to risk groups only. In February, 2010, PCV13 was approved by the FDA and has now replaced PCV7 in the United States. PCV10 and PCV13 are now also approved in the European Union and are used widely across Europe [10].

Because of the success of PCV vaccines the WHO recommends the inclusion of PCVs in childhood immunization programs worldwide, and in particular, countries with high childhood mortality (i.e. under 5 year mortality rate of >50 deaths/1,000 births) [11]. However, over 50% of WHO member states, including countries with low income and high burden of pneumococcal disease, have yet to introduce PCV into national immunization programs. As of April 2013, introductions of PCV programs were made in 21 (60%) of 35 member states in the Americas Region, 11 (50%) of 22 member states in the Eastern Mediterranean Region, 26 (49%) of 53 member states in the European Region, 19 (41%) of 46 member states in the African Region, nine (33%) of 27 member states in the Western Pacific Region, and 1 of 11 member states in the South-East Asia Region [12]. Access to vaccine continues to be expanded in developing countries with the help of Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI), which has introduced PCV to at least 32 countries since 2010 [13].

The aim of the study was to determine if the reduction in IPD and pneumonia rates were similar in developed and developing countries and to determine changes in the disparities of the disease rates in these countries.

Methods

Literature searches were conducted by using the PubMed database and Google scholar. The main criterion for selection was that the studies compare incidence of IPD or pneumonia in children pre and post PCV7, PCV10, or PCV13 vaccine introduction. The search term combinations used to search the knowledge base included invasive pneumococcal disease, pneumonia, pneumococcal pneumonia, pneumococcal conjugate vaccine, incidence rate, and developing countries. Abstracts of these articles were reviewed for relevance and inclusion of incidence rates. Only published articles that described the incidence rate of IPD or pneumonia with quantitative data were fully reviewed in detail. Articles were usually excluded if incidence rates were not normalized to population size, except in cases of developing countries where less data was available. Finally, 23 articles were chosen to be reviewed in detail. Out of these 23 selected articles, 22 were full-text original publications and one was a review article. Fifteen articles were included from industrialized countries, and 8 articles from developing countries.

Results

Disparity of IPD in Baseline. In 2000, about 14.5 million episodes of serious pneumococcal disease were estimated to occur worldwide. Pneumococcal disease caused about 826,000 deaths in children aged 1–59 months, of which 91,000 were in HIV-positive and 735,000 in HIV-negative children. Of the deaths in HIV-negative children, over 61% occurred in ten African and Asian countries. As is apparent from this worldwide data, developing countries carry more burden of disease than industrialized countries [14].

Determining the incidence of pneumococcal disease in the developing world is relatively difficult. This is due to a number of factors including the difficulties involved in stringent laboratory testing and sample collection and the unavailability of quality surveillance data in developing countries. However some data is available. Before widespread immunization with PCV7, a large disparity in annual incidence of IPD in developing versus industrialized countries existed. For example, mean annual incidence of IPD in children aged <2 years was 44.4/100,000 per year in Europe and 167/100,000 in the United States [15, 16]. In comparison, the annual incidence of IPD in children <2 years in Africa ranged from 60/100,000 in South Africa prior to the HIV epidemic to 797/100,000 in Mozambique [17–19].

Disparity of pneumonia in Baseline. Childhood pneumonia is the leading single cause of mortality in children aged less than 5 years. The incidence in this age group is estimated to be 0.29 episodes per child-year in developing and 0.05 episodes per child-year in developed countries. This translates into about 156 million new episodes each year worldwide, of which 151 million episodes are in the developing world. Most cases occur in India (43 million), China (21 million) and Pakistan (10 million), with additional high numbers in Bangladesh, Indonesia and Nigeria (6 million each) [20]. Point prevalence of nasopharyngeal carriage also differ ranging from 27% in industrialized countries to 85% in developing countries [11].

Pre-existing infection of HIV or underlying conditions such as sickle cell anemia can increase a child's risk

Table 1. Reduction in Incidence of Invasive Pneumococcal Disease Pneumonia after Introduction of PCV

Article	country	Age (yrs)	Vaccine	IPD pre-PCV	IPD post PCV	Reduction Rate from baseline (%)
Pilishvili et al. 2010 [23]	United States	<5	PCV7	98.7/100000	20/100000	79.7
Myint et al. 2013 [24] ¹	Austria, Belgium, Denmark, Germany, Netherlands, Norway, Spain, England, United States, Canada, and Australia	<5	PCV7	68.3/100000	32.9/100000	51.8
Ben-Shimol et al. 2014 [25]	Israel	<5	PCV7	50.7/100000	29.2/100000	42.4
			PCV13		18.8/100000	62.9
Guevara et al. 2014 [26]	Spain	<5	PCV7	87/100000	54/100000	37.9
			PCV13		19/100000	78.2
Steens et al. 2013 [27]	Norway	<2	PCV7	77/100000	20/100000	74
			PCV13		8.1/100000	89.5
Waight et al. 2015 [28]	England and Wales	<2	PCV7 & 13	22.22/100000	12.03/100000	32.4
		2–4	PCV7 & 13	7.77/100000	4.08/100000	47.5
Demczuk et al. 2013 [29]	Canada	<5	PCV13	18	14/100000	22.2
Lai et al. 2014 [31]	Taiwan	<5	PCV7/13	9.8/10000	2.1/10000	78.6
Ishiwada et al. 2014 [32]	Japan	<5	PCV7	26.1	9.3/100000	64.4
Von Gottberg et al. 2014 [33]	South Africa	<2	PCV7	54.8	21.7/100000	60.4
			PCV13		17.0/100000	69.0
Chacon-Cruz et al. 2014 [34]	Mexico	<15	PCV7	6 cases	3 cases	50
			PCV13		2 cases	66.7

Note. ¹ average of the listed countries

for pneumococcal disease. Because of higher prevalence of HIV infection in developing countries as well as sickle cell anemia in sub-Saharan African countries, children in developing countries are at substantially increased risk of serious pneumococcal disease [14, 17, 21]. In addition, lack of sanitation and healthy nutrition in developing countries greatly increases burden of disease. Reed et al. (2012) developed an illness severity score in South African children hospitalized with pneumonia and showed that hypoxia and malnutrition were the strongest predictors for mortality in children without HIV [22].

Reduction in IPD Incidence. The impacts of PCV7 and PCV13 have been extremely well documented in industrialized countries. Within 3 years of introduction in the United States, all-cause IPD dropped from 98.7 cases per 100,000 children <5 years of age to just above 20 cases per 100,000 children in 2002, and has remained low since [23]. In 2013 an extensive review of the impacts of PCV7 on IPD that included 30 studies from Austria, Belgium, Denmark, Germany, Netherlands, Norway, Spain, England, United States, Canada, and Australia was published by Myint et al. (2013). In the studies that included all children <5 years, pre-vaccination incidence was on average 68.3/100,000 while post PCV7 it was 32.9/100,000 (reduction of 52%) [24]. In Israel, incidence of IPD decreased from 50.7/100,000 pre-vaccination to 29.2/100,000 post PCV7 vaccination and was further reduced to 18.8/100,000 children <5 after introduction of PCV13 [25]. In Navarre, Spain PCV7 became available in June 2001, the 10-valent vaccine (PCV10) was introduced in November 2009, and the PCV7 was

replaced by the 13-valent vaccine (PCV13) in June 2010. From the period of 2001–2009 IPD was reduced from 87 to 54 per 100,000 children <5 years post PCV7, and reduced to 19/100,000 children <5 post PCV13 [26]. In Norway the incidence in children <2 declined from 77/100,000 in 2005 to 20/100,000 (74% reduction) in 2010 (after PCV7) and further to 8.1/100 000 in 2012 (after PCV13) [27]. In England and Wales incidence was 22.2 (< 2yrs) and 7.8 (2–4 years) per 100,000 children in 2008–10, and was reduced to 12.1 (<2 yrs) and 4.1 (2–4 years) per 100,000 in 2013 after introduction of PCV 13 [28]. After the introduction of PCV13 in Canada, the incidence of IPD in children <5 years of age declined from 18.0 to 14.2 cases per 100,000 population in the period of 2010–2012 [29].

Developed Asian countries have also seen great reduction in IPD. In Taiwan, PCV7 was introduced in 2005, however it was not included into the national immunization program and was only free for high-risk children. Finally in 2013, PCV was included in a national universal vaccination program [30]. In a small scale study of children <5 years in a medical center in Taiwan the annual incidence (per 10,000 admissions) of IPD decreased significantly from 9.8 in 2000 to 2.1 in 2012 (reduction of 79%) [31]. In Japan PCV13 was introduced in 2010 and became part of the routine schedule of the national immunization program in 2013. In a study of a population from Chiba, Japan IPD incidence (cases/100,000) in children <5 was reduced from 26.1 in 2009 to 9.3 in 2013 (65% reduction)[32].

In developing countries less IPD surveillance data is available, since PCV vaccine introduction is still low

Table 2. Снижение заболеваемости пневмонией после внедрения PCV

Article	country	Age (yrs)	Vaccine	IPD pre-PCV	IPD post PCV	Reduction Rate from baseline (%)
Griffin et al. 2013 [35]	United States	<2	PCV7	1274/100000	723/100000	43.2
		2—4	PCV7	411/100000	350/100000	14.8
Elemraid et al. [36]	United Kingdom	<5	PCV7	338/100000	274/100000	18.9
Koshy et al. 2010 [37] ¹	United Kingdom	<15	PCV7	134/100000	108/100000	19.4
Greenberg et al. 2015 [38]	Israel	<5	PCV7	13.8/1000	11.2/1000	18.8
			PCV13		7.4/1000	46.4
Patrzalek et al. 2010 [39]	Poland	<1	PCV7	41.48/1000	13.51/1000	67.4
		2—4		6.15/1000	3.85/1000	37.4
Angoulvant et al. 2014 [40]	France	<2	PCV13	757 cases	516 cases	31.8
		2—5	PCV13	833	695	16.6
Lai et al. 2014 [31]	Taiwan	<5	PCV7/13	0.9/10000	0.6/10000	33.3
Ishiwada et al. [32]	Japan	<5	PCV7	24 cases	4 cases	83.3
Alfonso et al. 2013 [41]	Brazil	<2	PCV10	—	—	26.5 ²
Abrão et al. 2015 [42]	Brazil	<2	PCV10	—	—	40
Becker-Dreps et al. 2014 [43]	Nicaragua	<1	PCV13	7/100 child-yrs	5/100 child-yrs	28.5
				child-yrs	child-yrs	
		1—2		2.8/100 child-yrs	1.5/100 child-yrs	
		2—5		0.5/100 child-yrs		46.4
		0		0.5/100 child-yrs		
Hortal et al. 2014 [44] ³	Uruguay	<5	PCV7/13	1542/100000	1.227/100000	20.4
Pérez et al. [45] ⁴	Uruguay	0—14	PCV7/13	879/10000	193/10000	78.0
Madhi et al. 2014 [46]	South Africa	<5	PCV7/13	96/1000	69.3/1000	27.8

Note. ¹ bacterial pneumonia only; ² average of 3 cities in Brazil surveyed in the study; ³ consolidated pneumonia only; ⁴ Community Acquired Pneumonia hospital discharge rates

and thus less studies have been performed. However in countries where PCV has been introduced, reduction in cases of IPD has been obviously apparent. In South Africa, PCV7 was introduced in 2009 and was replaced by PCV13 in 2011. Rate of IPD incidence among children younger than 2 years of age declined from 54.8 to 21.7 cases per 100,000 from the baseline to 2011 and the further decreased to 17.0 cases per 100,000 person in 2012 (total reduction of 69%) [33]. In a small-scale study at Tijuana General Hospital in Mexico, it was found that after PCV7 was introduced in 2006 as part of the universal immunization program overall hospital cases in children under 15 years of age were reduced from 6 to 3. After PCV13 replaced PCV7 in May 2012 cases was further reduced to 2 [34].

Reduction in Pneumonia. Pneumococcal pneumonia is the most common form of pneumococcal disease. The introduction of PCV has greatly reduced the number of cases of pneumonia in both industrialized countries and developing countries. In the U.S after introduction of PCV7 rates of pneumonia hospitalizations decreased from 1.274/100.000 to 723/100.000 in children <2 years old and from 411 to 350 per 100,000 in 2—4 year olds [35]. In the UK, pneumonia incidence for children <5 years old was reduced from 33.8/10.000 children in 2001 to 27.4/10,000 in 2009 after PCV7 introduction in 2006 [36]. In another UK study, bacterial pneumonia admission rates pre-PCV7 (2005) dropped from 1.340/1.000.000 children to 1.079/per 1.000.000 children (19% reduction) [37, 38]. In Israel the annual incidences (per 1,000 inhabitants) in children <5 years old declined from 13.8 in the pre-PCV

period to 11.2 in the PCV7 period and 7.4 in the PCV13 period, representing a reduction of 13% and 47% respectively [39]. In a study from Kielce, Poland in the period preceding the implementation of PCV7, the average pneumonia admission rate was 41.48/1.000 and 6.15/1.000 for under 1 year and 2—4 year olds, respectively. After introduction rates fell to 13.51/1000 for under 1 year and 3.85/1000 for 2—4 years [39]. In a French study it was shown that community-acquired pneumonia was reduced by 31.8% for children less than 2 years and 16.7% for children 2—5 yrs pre vs. post PCV13 vaccination across in 3 years [40]. In Taiwan pneumonia incidence was reduced from 0.9/10,000 admissions in 2000 to 0.6 in 2012 [31]. In the study from Chiba, Japan, number of pneumonia cases was reduced from 24 total cases in 2008 to only 4 cases in 2013 after PCV introduction [32].

In developing countries cases of pneumonia have also been reduced by PCV. In Brazil PCV10 was introduced to the national immunization program in 2010. Significant declines in hospitalizations for pneumonia in children were seen in three regions of Brazil, differing in climatic and socioeconomic characteristics: Belo Horizonte (28.7%), Curitiba (23.3%), and Recife (27.4%)[41]. Another Brazilian study in the primary care system of Guaranésia and in the hospitals of Guaranésia and Guaxupé, State of Minas Gerais, in southern Brazil showed a 40% reduction in the prevalence of community-acquired pneumonia (CAP) after introducing the pneumococcal conjugate vaccine [42]. Nicaragua became the first developing nation to add PCV13 to its national immunization program using a

"3+0" dosing schedule in 2010. The adjusted incidence rate ratio for pneumonia hospitalization in the vaccine (2011–2012) versus pre-vaccine period (2008–2010) was 0.67 (95% CI: 0.59–0.75) among infants and 0.74 (95% CI: 0.67–0.81) among 1 year olds [43]. Uruguay was the first Latin American country to incorporate PCV7 into its National Immunization Program in March 2008, which was replaced by PCV13 in 2010. Reduction was from 1,542/100,000 to 1,227/100,000 for consolidated pneumonia hospitalizations for children <5 [44]. In another study in Uruguay, CAP discharges rates per 10,000 of children 0–14 years before PCV vaccination (2003–2007) period was 879 versus 193 in 2012 (post PCV7/13 implementation, 78.1% reduction) [45]. In South Africa, there was a decline in the incidence of pneumonia from ~96/1,000 in 2008–2009 to 69.3/1,000 (27.8%) by 2012 [46].

Closing the Gap . Although only demonstrated in one study from South Africa, IPD post vaccination was reduced to a similar rate in South Africa as in other industrialized countries after introduction of PCV7) (27.5/100,000 industrialized, 20.1/100,000 — South Africa). Also the rate of reduction in cases of IPD/100,000 children/year was slightly faster in South Africa (9.5cases/100,000/yr) when compared with similar studies from industrialized Spain and Israel (6.4–6.8cases/100,000/yr), which also surveyed reduction of IPD before and after introduction PCV7 and later after its replacement with PCV13. However, it is too early to detect the effects in most developing countries since no baseline has previously been established and vaccines have only very recently been introduced. It may also be too early after PCV introduction (especially PCV13) to properly observe effects of serotype replacement, and such drastic reductions may only be temporary.

For pneumonia incidence, PCV was not as effective in developing countries as it was in industrialized countries; however, it did have some effect. Reduction of pneumonia incidence in children both in industrialized countries, and in developing countries are in a similar magnitude. However the absolute incidence rates are still higher in developing countries. This can probably be attributed to several factors: 1) different vaccines being

used such as the PCV-10 in Brazil vs. PCV7 followed by PCV13 in most industrial countries, 2) Vaccine schedule in most industrialized countries is 2+1 while in the US a 3+1 schedule is being used and in some developing countries 3+0 and even schedule follow the EP guidelines is being used. 3) Vaccine coverage is different and probably access to vaccination in developing countries is more challenging, 4) the fact that pneumonia has non-pneumococcal bacterial etiologies and viral etiologies that also have higher incidence in developing countries than industrialized that are not affected by PCV vaccination. In addition, other pathogens such as malaria can present as pneumonia. Therefore, varying case definitions of pneumonia in different studies may make it difficult to compare reductions across studies. However, if only confirmed pneumococcal pneumonia cases were reviewed separately from all pneumonia, more equal reductions between developing and industrialized countries may have been observed. Also developing countries might be under reporting cases, since many populations are still remote, so pneumonia rates in reality could be even higher.

Conclusions

PCVs are effective in both industrialized and developing countries in reducing IPD incidence, as was shown by comparison of the impact of PCV in South Africa and Mexico to industrialized countries. Although developing countries are behind in PCV introduction, there is hope that if PCV is introduced in national immunization programs, IPD can perhaps be reduced to that of levels in industrialized countries, also resulting in reduced levels of pneumonia incidences. Although pneumonia is reduced in developing countries, other etiologies are more common in these countries so further studies should be conducted to monitor these changes especially in these regions. More surveillance studies are needed in all countries, but especially in developing countries that have introduced PCV to more accurately determine IPD and pneumonia reduction as a result of vaccination. Surveillance is also needed to investigate possible future serotype and other bacteria replacement post-PCV in all countries.

**СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ
АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ, ПО ДАННЫМ
СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЦЕЛОГО ГЕНОМА БАКТЕРИЙ.**

**BENCHMARKING OF METHODS FOR IDENTIFICATION
OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE GENES IN BACTERIAL
WHOLE GENOME DATA / P. T. L. C. CLAUSEN,
E. ZANKARI, F. M. AARESTRUP, O. LUND*//
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016;
71: 9: 2484—2488.**

При обследовании и клинической диагностике метод секвенирования нового поколения (NGS) может быть альтернативой тестированию фенотипической чувствительности. Современные методы биоинформатики могут давать ошибочные как положительные, так и отрицательные результаты. В основе нового метода, KmerResistance, лежит сравнение фрагментов последовательностей ДНК, полученных секвенированием целого генома (WGS), с имеющимися в базе данных генов устойчивости. Новый метод картирования был сопоставлен с двумя методами, используемыми в настоящее время для идентификации генов антибиотикоустойчивости на основе данных WGS. Для сравнения нового и двух известных методов: ResFinder и SRST2, использующих соответственно программы assembly/BLAST и BWA, были взяты два набора данных для 339 штаммов, охватывающих 5 видов и выделенных в клинике Оксфордского университета (Oxford University Hospitals NHS Trust) и на датских свинофермах. Прогнозируемую устойчивость сравнивали с фенотипами штаммов. При дальнейшей проверке чувствительности методами *in silico* количество повторно проанализированных образцов считываемых последовательностей было снижено до 1%. Наилучшие результаты идентификации генов устойчивости были получены при прямом картировании считываемых последовательностей. Это означает, что в процессе обобщения данных, информация может быть потеряна. При обработке «сырых» данных или содержащих только несколько считываний последовательностей метод KmerResistance был лучшим по сравнению с другими методами. Таким образом, картирование считываний превосходит методы, основанные на обобщенных данных, и новый метод KmerResistance, по-видимому, лучше других применяемых методов, особенно когда набор данных содержит немного считываний.

* Center for Biological Sequence Analysis, Department of Systems Biology, Technical University of Denmark, 2800 Kgs Lyngby, Denmark.

**ЦЕФТАЗИДИМ/АВИБАКТАМ КАК НОВЫЙ ВЫБОР
ПРИ ИНФЕКЦИЯХ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ
С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
УСТОЙЧИВОСТЬЮ.**

**SPOTLIGHT ON CEFTAZIDIME/AVIBACTAM:
A NEW OPTION FOR MDR GRAM-NEGATIVE INFECTIONS / M. FALCONE*, D. PATERSON //
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016;
71: 10: 2713—2722.**

За последнюю декаду увеличилось распространение инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями (ГОб) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Поскольку такие инфекции характеризуются высокими показателями заболеваемости и смертности, они представляют серьёзную угрозу глобальному здравоохранению. Предлагаемый новый препарат представляет комбинацию цефтазидима и нового ингибитора бета-лактамаз, авибактама, активного в отношении различных бета-лактамаз, продуцируемых ГОб с МЛУ. Авибактам подавляет бета-лактамазы классов А и С, в т.ч. расширенного спектра (БЛРС), AmpC и ферменты типа *Klebsiella pneumoniae* карбапенемазы (КРС). Комбинация цефтазидима с авибактамом расширяет спектр активности цефтазидима на МЛУ Enterobacteriaceae и штаммы *Pseudomonas aeruginosa*. Во II фазе клинических испытаний эффективность цефтазидим/авибактама у больных с осложнёнными инфекциями брюшной полости и мочевого тракта была сравнима с таковой, соответственно, меропенема и имипенем/циластатина. Фаза III клинических испытаний подтвердила эффективность цефтазидим/авибактама у больных с инфекциями, обусловленными МЛУ Enterobacteriaceae и *P. aeruginosa*. При оценке потенциала нового лекарства в отношении инфекций, вызванных МЛУ ГОб, обсуждаются также вопросы микробиологического контроля, *in vivo* модельные инфекции на животных и результаты анализа фармакокинетики/фармакодинамики при целевом применении.

* Department of Public Health and Infectious Diseases, 'Sapienza' University, Rome, Italy.

**АКТИВНОСТЬ ЦЕФТАЗИДИМ—АВИБАКТАМА
В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ И ИЗОГЕННЫХ
ЛАБОРАТОРНЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS
AERUGINOSA*, ОБЛАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНЫМИ
КОМБИНАЦИЯМИ САМЫХ ВАЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ
УСТОЙЧИВОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМАМ.**

**ACTIVITY OF CEFTAZIDIME—AVIBACTAM AGAINST
CLINICAL AND ISOGENIC LABORATORY**

PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATES EXPRESSING COMBINATIONS OF MOST RELEVANT β -LACTAM RESISTANCE MECHANISMS / G. TORRENS, G. CABOT*, A. A. OCAMPO-SOSA, M. C. CONEJO, L. ZAMORANO, F. NAVARRO, Á. PASCUAL, L. MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, A. OLIVER // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY OCTOBER 2016; 60: 10: 6407–6410.

Активность цефтазидим—авибактама сравнивали с активностью одного цефтазидима и меропенема в отношении 190 клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, полученных в ходе многоцентрового исследования инфекций кровотока. Добавление авибактама повышало чувствительность к цефтазидиму у всех штаммов коллекции (с 64,7 до 91,1%) и, особенно, в подгруппе штаммов с гиперпродукцией AmpC (с 10,9 до 76,1%) и множественной устойчивостью (с 27 до 77,8%). В отличие от МПК отдельно взятых цефтазидима и меропенема значения МПК комбинации цефтазидим—авибактам у 16 изогенных мутантов *P.aeruginosa* PAO1, характеризующихся множественными комбинациями важных механизмов устойчивости к бета-лактамам, оставались на уровне ≤ 4 мкг/мл.

* Servicio de Microbiología and Unidad de Investigación, Hospital Universitario Son Espases, Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdISPa), Palma de Mallorca, Spain

* Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), Seville, Spain

* Clinical Infectious Diseases Volume 63, Issue 6 Pp. 754-762.

СРАВНЕНИЕ ЦЕФТАЗИДИМ/АВИБАКТАМА С ДОРИПЕНЕМОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСЛОЖНЁННЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВОГО ТРАКТА, ВКЛЮЧАЯ ОСТРЫЙ ПИЕЛОНЕФРИТ: RECAPTURE, ФАЗА III ПРОГРАММЫ РАНДОМИЗИРОВАННЫХ ИСПЫТАНИЙ.

CEFTAZIDIME-AVIBACTAM VERSUS DORIPENEM FOR THE TREATMENT OF COMPLICATED URINARY TRACT INFECTIONS, INCLUDING ACUTE PYELONEPHRITIS: RECAPTURE, A PHASE 3 RANDOMIZED TRIAL PROGRAM / F. M. WAGENLEHNER*, J. D. SOBEL, P. NEWELL, J. ARMSTRONG, X. HUANG, G. G. STONE, K. YATES, L. B. GASINK // CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 2016; 63: 6: 754–762.

Глобальное распространение энтеробактерий, устойчивых к карбапенемам, подчёркивает острую необходимость снижения зависимости от использования карбапенемов. В фазе III программы RECAPTURE сравнивали эффективность и безопасность цефтазидим/авибактама и дорипенема у больных с осложнёнными инфекциями мочевого тракта (оИМТ), включая ост-

рый пиелонефрит. Госпитализированным взрослым больным с предполагаемым или микробиологически подтверждённым диагнозом оИМТ/пиелонефрит рандомизировано (1:1) назначали цефтазидим/авибактам 2000 мг / 500 мг каждые 8 ч или дорипенем 500 мг каждые 8 ч (доза соответствовала функции почек) с возможным переходом на пероральную форму лекарства после ≥ 5 дней приёма (общая продолжительность лечения до 10 дней или 14 дней при бактериемии). Из 1033 рандомизированных больных для первичной оценки эффективности были отобраны 393 и 417, получавших, соответственно, цефтазидим/авибактам и дорипенем. Исходно 19,6% возбудителей были нечувствительны к цефтазидиму. Цефтазидим/авибактам не уступал дорипенему, согласно следующим первичным критериям оценки FDA: 1) разрешение (устранение) симптомов на 5-й день по информации от больных (у 276 из 393, 70,2%, против 276 из 417, 66,2%; разница 4,0%, 95% ДИ от -2,39% до 10,42%), 2) отношение разрешение симптомов/микробиологическая эрадикация согласно тесту излечения (ТОС, European Medicines Agency primary endpoint) (у 280 из 393, 71,2% против 269 из 417, 64,5%; разница 6,7; 95% ДИ 3,0–13,12%). Микробиологическая эрадикация по ТОС наблюдалась у 304 из 393 (77,4%) в группе цефтазидим/авибактам против 29 из 417 (7,0%) в группе дорипенема (разница 6,4%; 95% ДИ 0,33–12,36%), что превышало показатель на 5%. Оба режима лечения продемонстрировали сходную эффективность в отношении не чувствительных к цефтазидиму возбудителей инфекции. Цефтазидим/авибактам и один цефтазидим имели сходные профили безопасности. Цефтазидим/авибактам был высокоэффективен при эмпирическом лечении оИМТ (в т.ч. острого пиелонефрита) и может представлять альтернативу карбапенемам в соответствующих ситуациях.

* Justus-Liebig-University, Clinic of Urology, Pediatric Urology and Andrology, Rudolf-Buchheim-Str 7, Giessen D-35385, Germany.

ФАЗА I ИССЛЕДОВАНИЯ, ОЦЕНИВАЮЩЕГО ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ, БЕЗОПАСНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ РАЗОВОЙ ДОЗЫ ЦЕФТАЗИДИМ/АВИБАКТАМА БОЛЬНЫМИ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО КЛИНИЧЕСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ.

PHASE I STUDY ASSESSING THE PHARMACOKINETIC PROFILE, SAFETY, AND TOLERABILITY OF A SINGLE DOSE OF CEFTAZIDIME-AVIBACTAM IN HOSPITALIZED PEDIATRIC PATIENTS / J. S. BRADLEY*, J. ARMSTRONG, A. ARRIETA, R. BISHAI, S. DAS, S. DELAIR, T. EDEKI,

W. C. HOLMES, J. LI, K. S. MOFFET, D. MUKUNDAN, N. PEREZ, J. R. ROMERO, D. SPEICHER, J. E. SULLIVAN, D. ZHOU // **ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY** OCTOBER 2016; 60: 10: 6252—6259.

Целью исследования было изучение фармакокинетики (ФК), безопасности и переносимости разовой дозы цефтазидима/авибактама больными педиатрического отделения. Фаза I многоцентрового открытого исследования фармакокинетики выполнена на госпитализированных с инфекцией и получающих систематическую антибиотикотерапию детях четырёх возрастных категорий: 1) от ≥ 12 до < 18 лет; 2) от ≥ 6 до < 12 лет; 3) от ≥ 2 до < 6 лет; 4) от ≥ 3 мес до < 2 лет. Больные получали разовую 2-часовую инфузию цефтазидима/авибактама: 1-я группа 2000—500 мг; 2-я — 2000—500 мг (≥ 40 кг) или 50—12,5 мг/кг (< 40 кг); 3-я и 4-я группы — 4,5—12,5 мг/кг массы тела. По результатам анализа отобранных проб крови, определяли характер ФК отдельно цефтазидима и авибактама. Для описания ФК цефтазидима и авибактама в разных возрастных группах использовали популяционное моделирование ФК. Оценивали также безопасность и переносимость препарата. Всего в исследовании участвовало 32 ребёнка. Такие показатели, как средняя кривая «концентрация—время» в плазме, средняя геометрическая максимальная концентрация ($C_{\max}$), область под кривой «концентрация—время» от 0 до бесконечности ($AUC_{0-\infty}$) были сходными для обоих лекарств во всех возрастных группах. У 6 больных были отмечены побочные явления слабой или умеренной интенсивности. Летальных исходов и тяжёлых побочных явлений не было. Характеристики ФК разовой дозы цефтазидима и авибактама были сравнимы между собой во всех 4 возрастных группах и схожи с таковыми наблюдаемыми ранее у взрослых больных. Не было обнаружено новых проявлений, затрагивающих безопасность. Данное исследование зарегистрировано в ClinicalTrials.gov под № NCT01893346.

* University of California, San Diego, California, USA.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АВИБАКТАМА С МЕТАЛЛО-БЕТА-ЛАКТАМАЗАМИ КЛАССА В.

INTERACTION OF AVIBACTAM WITH CLASS B METALLO- β -LACTAMASES/ M. I. ABBOUD, C. DAMBLON, J. BREM, N. SMARGIASSO, P. MERCURI, B. GILBERT, A. M. RYDZIK, T. D. W. CLARIDGE, C. J. SCHOFIELD*, J.-M. FRERE // **ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2016; 60: 10: 5655—5662.**

β -лактамазы представляют наиболее важный механизм устойчивости к беталактамным антибак-

териальным соединениям. Известны два класса бета-лактамаз: сериновые бета-лактамазы (СБЛ) и зависимые от цинка металло-бета-лактамазы (МБЛ). Авибактам, первый клинически релевантный ингибитор бета-лактамаз небеталактамной природы, обладает широким спектром действия в отношении СБЛ и используется в комбинации с цефалоспориновым антибиотиком, цефтазидимом. Если о взаимодействии авибактама с СБЛ существует много публикаций, то подобных сообщений относительно МБЛ немного. Изложены результаты биохимических и биофизических исследований связывания и взаимодействия авибактама с представителями 3 подсемейств МБЛ (В1, В2 и В3). Действие авибактама на МБЛ-опосредованную устойчивость патогенов было ограниченным или отсутствовало. Авибактам не подавлял МБЛ, и связь с большинством испытанных МБЛ была слабой; в некоторых случаях одна из N-СО связей авибактама подвергалась медленному гидролизу с последующей утратой CO_2 , что отличалось от наблюдаемого взаимодействия с СБЛ. На основании полученных результатов можно предполагать, что в процессе эволюции могут возникнуть МБЛ, более эффективно гидролизующие авибактам, поэтому весьма перспективной может быть разработка на основе диазабициклооктанового ядра авибактама ингибиторов двойного действия как в отношении и СБЛ, так и МБЛ.

* Department of Chemistry, University of Oxford, Oxford, United Kingdom.

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ ВАБОРБАКТАМА В КОМБИНАЦИИ С МЕРОПЕНЕМОМ НА ENTEROBACTERIACEAE, ОБРАЗУЮЩИЕ СЕРИНОВЫЕ КАРБАПЕНЕМАЗЫ.

EFFECT OF THE β -LACTAMASE INHIBITOR VABORBACTAM COMBINED WITH MEROPENEM AGAINST SERINE CARBAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERIACEAE / M. CASTANHEIRA*, P. R. RHOMBERG, R. K. FLAMM, R. N. JONES // **ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2016; 60: 9: 5454—5458.**

Распространение штаммов, образующих *Klebsiella pneumoniae* карбапенемазу (КРС), расширяется. Такие штаммы часто характеризуются множественной лекарственной устойчивостью, что ограничивает выбор терапевтических средств при вызванных ими инфекциях. Методом шахматной доски оценивали активность меропенема в комбинации с ингибитором сериновых бета-лактамаз ваборбактамом (ранее RPX7009) в отношении 315 образующих сериновую карбапенемазу штаммов

Enterobacteriaceae (CPE) в пределах концентраций ингибитора 0,5–32 мкг/мл. Один меропенем (МПК₅₀ и МПК₉₀, 16 и >64 мкг/мл, соответственно) подавлял только 2,2% штаммов при ≤1 мкг/мл (пороговая концентрация чувствительности, ПКЧ по CLSI) или 7,3% при ≤2 мкг/мл (ПКЧ по EUCAST). При ≤2 мкг/мл меропенема ваборбактам восстанавливал его активность в отношении CPE штаммов до 72,7–98,1%, а максимальное увеличение активности наблюдалось при фиксированной концентрации ингибитора ≥8 мкг/мл (до ≥96,5% штаммов). Комбинация меропенем—ваборбактам при фиксированной концентрации ингибитора 8 мкг/мл (МПК₅₀ ≤0,06 мкг/мл для всех микроорганизмов) подавляла 93,7% CPE штаммов, значения МПК меропенема возрастали при ≤1 мкг/мл. В случае штаммов, образующих металло-бета-лактамазы, значения МПК меропенем—ваборбактам возрастали (МПК, 16–>64 мкг/мл), наблюдалось снижение экспрессии OmpK37 и/или увеличение экспрессии системы выброса AcrAB-TolC (МПК 16 мкг/мл). Взятый в отдельности ваборбактам не обладал антибактериальной активностью (все значения МПК >64 мкг/мл). Комбинация меропенем—ваборбактам представляется перспективной для дальнейших разработок и может расширить выбор лекарственных средств при тяжёлых инфекциях, вызванных патогенами, образующими карбапенемазу.

* JMI Laboratories, North Liberty, Iowa, USA.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ МАКРОЛИДОВ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ, ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ И ИНТЕРФЕРОН(IFN)-УСИЛИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ I И III ТИПОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭПИТЕЛИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ.

IDENTIFICATION OF NOVEL MACROLIDES WITH ANTIBACTERIAL, ANTI-INFLAMMATORY AND TYPE I AND III IFN-AUGMENTING ACTIVITY IN AIRWAY EPITHELIUM / J. D. PORTER, J. WATSON, L. R. ROBERTS, S. K. GILL, H. GROVES, J. DHARIWAL, M. H. ALMOND, E. WONG, R. P. WALTON, L. H. JONES, J. TREGONING, I. KILTY, S. L. JOHNSTON, M. R. EDWARDS* //
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016; 71: 10: 2767–2781.

Обострения астмы и хронического обструктивного заболевания лёгких провоцируются риновирусами. Неконтролируемые воспалительные процессы, бактериальная нагрузка и сниженный противовирусный иммунитет являются важными факторами, обуславливающими тяжесть и продолжительность болезни. Макролиды, включая азитромицин, часто применяют при лечении вы-

ше названных заболеваний, но проявляемая ими эффективность варьирует. Ингаляционные кортикостероиды также используют при лечении, но их недостатком является неспецифичность действия. В идеале, альтернативное лечение должно подавлять воспаление, но быть щадящим по отношению к иммунитету. Было протестировано 225 новых макролидов на повышенную антириновирусную, противовоспалительную и антибактериальную в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий активности. Клетки бронхиального эпителия были взяты у 10 больных астмой, и на них было проверено влияние макролидов на размножение риновирусов. Таким же образом были протестированы 30 других структурно схожих макролидов. Mac5, производное олеандомицина, в сравнительном исследовании с азитромицином показал наивысшую индукцию (более чем в 5 раз, EC₅₀ = 5–11 μM) индуцируемого риновирусами интерферона IFNλ типа I, IFNλ1 типа III и IFNλ2/3 мРНК типа III, а также IFN-стимулируемых генов *viperin* и *MxA*, не влияя на IL-6 и IL-8 мРНК. Mac5 также подавлял размножение риновирусов на 48 ч, проявляя тем самым антивирусную активность. Антибактериальная активность Mac5 распространялась только на грамположительный *Streptococcus pneumoniae*; в отличие от азитромицина, он был неактивен в отношении грамотрицательной *Escherichia coli* (модельный микроорганизм) и респираторных патогенов: *Pseudomonas aeruginosa* и нетипируемой *Haemophilus influenzae*. В дальнейших исследованиях были идентифицированы нетоксичные производные Mac5 с противовоспалительными, антибактериальными и антивирусными свойствами. Таким образом, полученные данные подтверждают мысль о том, что механизм антивирусного действия макролидов ещё не до конца установлен. Также была доказана возможность получения макролидов с противовоспалительными, антибактериальными и антивирусными свойствами и продемонстрированы их удивительные многогранные возможности в зависимости от клинических задач.

* Airway Disease Infection Section, National Heart Lung Institute, Imperial College London, London, UK

* MRC & Asthma UK Centre for Allergic Mechanisms of Asthma, London, UK.

SOLITAIRE-IV: РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ДВОЙНОЕ СЛЕПОЕ МНОГОЦЕНТРОВОЕ СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ В/В — ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СОЛИТРОМИЦИНА И МОКСИФЛОКСАЦИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ.

SOLITAIRE-IV: A RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND, MULTICENTER STUDY COMPARING THE EFFICACY AND SAFETY OF INTRAVENOUS-TO-ORAL SOLITHROMYCIN TO INTRAVENOUS-TO-ORAL MOXIFLOXACIN FOR TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED BACTERIAL PNEUMONIA / T. M. FILE JR, B. REWERSKA, V. VUCINIĆ-MIHAILOVIĆ, J. ROQUE V. GONONG, A. F. DAS, K. KEEDY, D. TAYLOR, A. SHEETS, P. FERNANDES, D. OLDACH, B. D. JAMIESON*, FOR THE SOLITAIRE-IV PNEUMONIA TEAM // CLINICAL INFECTIOUS DISEASES 2016; 63: 8: 1007—1016.

Были выполнены 2 всеохватывающих испытания 3-й фазы разовых суточных доз двух лекарственных форм, в/в и пероральной, нового макролидного антибиотика солитромицина при лечении внебольничной бактериальной пневмонии (ВБП). Всего 863 взрослых пациента с ВБП II-IV класса (Pneumonia Outcomes Research Team [PORT] class II-IV) были рандомизированы 1:1 на группы, получавших в течение 7 дней разовую ежедневную дозу, равную 400 мг солитромицина или моксифлоксацина: в 1-й день в/в с последующим переходом на пероральный приём антибиотиков по клиническим показаниям. Первичной задачей было показать, что в популяции предварительно отобранных больных (intent-to-treat, ИТТ), оцениваемых через 3 дня после введения первой дозы, солитромицин не уступает моксифлоксацину в достижении ранних клинических откликов (РКО) (отклонения в пределах 10%). Вторая задача заключалась в демонстрации равных РКО (отклонения в пределах 10%) в ИТТ-популяции по микробиологическим показателям (микро-ИТТ) и краткосрочной оценке успешности лечения (КОУЛ) через 5—10 дней после его окончания. В ИТТ-популяции РКО были отмечены у 79,3% больных, получавших солитромицин, и 79,7% больных, получавших моксифлоксацин (разница —0,46; 95% ДИ от — 6,1 до 5,2). В микро- ИТТ популяции показатели РКО наблюдали у 80,3% (солитромицин) и 79,1% (моксифлоксацин) больных (разница 1,26; 95%ДИ от —8,1 до 10,6). В ИТТ-популяции по показателям КОУЛ положительно были оценены 84,6% (солитромицин) и 88,6% (моксифлоксацин) больных. Число случаев побочных явлений слабой и средней степени тяжести после инфузии было больше в группе, получавшей солитромицин. Остальные случаи побочных явлений были сравнимы в обеих популяциях. Таким образом, при использовании режима введения в/в — перорально солитромицин не уступал моксифлоксацину. В случае внебольничной бактериальной пневмонии возможен выбор между в/в и пероральным введением солитромицина.

* Cempira Inc, 6320 Quadrangle Dr, Ste 360, Chapel Hill, NC 27517.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ БЕТА-ЛАКТАМ+МАКРОЛИД ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ ЛЕТАЛЬНОЙ ПНЕВМОКОККОВОЙ ПНЕВМОНИИ У МЫШЕЙ.

EFFICACY OF β -LACTAM-PLUS-MACROLIDE COMBINATION THERAPY IN A MOUSE MODEL OF LETHAL PNEUMOCOCCAL PNEUMONIA / D. YOSHIOKA, C. KAJIWARA, Y. ISHII, K. UMEKI, K. HIRAMATSU, J.-ICHI KADOTA, K. TATEDA* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2016; 60: 10 6146—6154.

Внебольничная пневмония, основным возбудителем которой является *Streptococcus pneumoniae*, — обычное заболевание с высокими показателями заболеваемости и смертности. Несмотря на то, что терапия комбинацией «бета-лактамы+макролид» рекомендована несколькими руководствами, оценка клинической эффективности данной стратегии остаётся противоречивой. Было исследовано действие комбинированной бета-лактамы+макролидной терапии на летальную пневмококковую пневмонию у мышей, а также механизмы действия *in vitro* и *in vivo*. Определяли выживаемость, бактериальную нагрузку в лёгких и ответную реакцию на клеточном уровне у мышей с пневмонией, получавших цефтриаксон, азитромицин или их комбинацию. Хотя *in vitro* синергидного действия антибиотиков не наблюдалось, при комбинированной, цефтриаксон+азитромицин терапии значительно улучшались показатели выживаемости животных. Выброс нейтрофилов в лёгких был существенно ниже в группе, получавшей комбинированную терапию, чем в группе, леченной цефтриаксоном. Различий в бактериальной нагрузке в лёгких на 3-й день между группами, получавшими комбинированную терапию или один цефтриаксон, не было. Интересно, что анализ поверхностных клеточных маркёров в группе комбинированной терапии показал активацию предполагаемой иммунной контрольной лиганды CD86 и главного комплекса тканевой совместимости класса II нейтрофилов и CD1b-положительных CD1c-положительных (CD11b⁺ CD11c⁺) макрофагов и дендритных клеток, а также подавление иммунных контрольных рецепторов антигена 4, ассоциированного с цитотоксико-Т лимфоцитами и запрограммированной гибелью 1 Т хелперных и Т регуляторных клеток. Полученные данные показали, что повышенная выживаемость мышей при пневмококковой пневмонии в группе комбинированной терапии происходит благодаря модуляции иммунных контрольных (checkpoint) молекул, которые могут стать новым классом мишеней будущего исследования макролидов.

* Department of Microbiology and Infectious Diseases, Toho University School of Medicine, Otaku, Tokyo, Japan.

АКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМИКСИНА В С РАЗЛИЧНЫМИ АНТИБИОТИКАМИ В ОТНОШЕНИИ *ENTEROBACTER CLOACAE* С ЭКСТЕНСИВНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ И ПОНИЖЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ПОЛИМИКСИНУ В.

IN VITRO ACTIVITY OF POLYMYXIN B IN COMBINATION WITH VARIOUS ANTIBIOTICS AGAINST EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT *ENTEROBACTER CLOACAE* WITH DECREASED SUSCEPTIBILITY TO POLYMYXIN B / Y. CAI, T.-P. LIM, J. TEO, S. SASIKALA, W. LEE, Y. HONG, E. C. Y. CHAN, T. Y. TAN, T.-T. TAN, T. H. KOH, L. Y. HSU, A. L. KWA* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2016; 60: 9: 5238—5246.

Единственным терапевтическим выбором в отношении *Enterobacter cloacae* с экстенсивной лекарственной устойчивостью (XDR) может быть только комбинированная терапия. Было проведено исследование активности различных антибиотиков и их комбинаций с полимиксином В методом «time-kill» (ТК) в отношении 4-х относящихся к разным клонам XDR штаммов *E. cloacae* при $5 \log_{10}$ КОЕ/мл бактерий и максимально достижимых клинических концентрациях полимиксина В как одного, так и в комбинациях с одним из 10 различных антибиотиков. С 2 штаммами было проведено 240-часовое исследование на модели инфекции с диализными волокнами, имитирующее клинические режимы дозирования полимиксина В и тигециклина. Появление резистентности количественно определяли на среде, содержащей антибиотик ($3 \times \text{МПК}$). Определяли также биофитнес и стабильность резистентного фенотипа. Все XDR штаммы *E. cloacae* были устойчивы ко всем антибиотикам, кроме полимиксина В (МПК полимиксина В 1–4 мг/л). Все штаммы содержали металло-бета-лактамазу (2 штамма NDM-1, 2 — IMP-1). При обработке отдельно взятыми антибиотиками, по данным исследований ТК, на 24 ч наблюдали вторичный рост у всех штаммов, за исключением 2 штаммов после действия на них амикацином, 1 штамма после действия полимиксином В и 1 штамма после действия меропенемом. В ТК исследованиях комбинаций антибиотиков только пара полимиксин В-тигециклин оказывала на 24 ч бактерицидное действие на все 4 XDR штамма *E. cloacae*. На модельной инфекции ни тигециклин, ни полимиксин В, взятые по отдельности, не проявили бактерицидной активности, но при обработке комбинацией антибиотиков бактерицидный эф-

фект был установлен для двух штаммов, для одного он был стойким, у второго штамма был отмечен вторичный рост. Мутанты со стабильным фенотипом резистентности характеризовались пониженной скоростью роста *in vitro*. Комбинация полимиксина В с тигециклином представляется перспективной в отношении XDR штаммов *E. cloacae*, однако продолжительное и неадекватное применение такой комбинации может привести к развитию устойчивости.

* General Hospital, Department of Pharmacy, Singapore.

* National University of Singapore, Department of Pharmacy, Singapore.

* Duke-NUS Medical School, Emerging Infectious Diseases, Singapore.

ЗАКЛЮЧЁННЫЕ В ГЕЛЬ КЛЕТКИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ОБРАЗОВАНИЕМ БИОПЛЁНОК, ДЕМОНИСТРИРУЮТ РОСТ В ФОРМЕ ПЛОТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ, ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К КИСЛОРОДНОМУ ГОЛОДАНИЮ, ТОЛЕРАНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И ГЕТЕРОГЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ.

GEL-ENTRAPPED *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BACTERIA AS MODELS OF BIOFILM INFECTION EXHIBIT GROWTH IN DENSE AGGREGATES, OXYGEN LIMITATION, ANTIBIOTIC TOLERANCE, AND HETEROGENEOUS GENE EXPRESSION / B. PABST, B. PITTS, E. LAUCHNOR, P. S. STEWART* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY 2016; 60: 10: 6294—6301.

Разработана экспериментальная модель, имитирующая структуру и свойства *in vivo* инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок, наблюдаемых в лёгких и ранах кожи, но в которой отсутствует поверхность биоматериала. Такая структура была смоделирована с помощью заполнения полых стеклянных капилляров агарозным гелем, заражённым *Staphylococcus aureus*, и последующей инкубации гелевой плёнки в питательной среде в течение 30 ч. Конфокальное микроскопирование показало, что бактерии формируют дискретные скопления по всей гелевой матрице. Эти образования увеличиваются во времени в различной степени: в большей — ближе к поверхности, лучше снабжённой питанием и кислородом, и в меньшей — в глубине гелевой матрицы. Бактерии, заключённые в гель, в течение 24 ч росли медленно (специфическая скорость роста $0,06 \text{ ч}^{-1}$) и были существенно менее чувствительны к оксациллину, миноциклину и ципрофлоксацину, чем планктонные клетки. Из-

мерения с помощью микроэлектродов показали, что концентрация кислорода по мере углубления в гель снижается, и на глубине 500 мкм достигает менее 3% от содержания в воздухе. Была отмечена индукция репортёрного гена, зелёного флуоресцирующего белка лактат дегидрогеназы, отзывчивого на анаэробноз, в области геля с низкими концентрациями кислорода, что являлось подтверждением наличия состояния, биологически соответствующего гипоксии. Полученные результаты свидетельствуют, что гелевая модель биоплёнки обладает основными качествами инфекционной биоплёнки: образование плотных дискретных агрегаций, пониженная специфическая скорость роста, локальная гипоксия и толерантность к антибиотикам.

* Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozeman, Montana, USA

* Department of Chemical and Biological Engineering, Montana State University, Bozeman, Montana, USA.

**ОЦЕНКА АНТИБИОТИКОВ, АКТИВНЫХ
В ОТНОШЕНИИ МЕТИЦИЛЛИНОРЕЗИСТЕНТНОГО
STAPHYLOCOCCUS AUREUS, НА ОСНОВЕ
ИХ ДЕЙСТВИЯ НА ЗРЕЛУЮ БИОПЛЁНКУ.**

**EVALUATION OF ANTIBIOTICS ACTIVE AGAINST
METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS
BASED ON ACTIVITY IN AN ESTABLISHED BIOFILM /
D. G. MEEKER, K. E. BEENKEN, W. B. MILLS,
A. J. LOUGHRAN, H. J. SPENCER, W. B. LYNN,
M. S. SMELTZER* // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY 2016; 60: 10: 5688—5694.**

На моделях *in vitro* и *in vivo* катетер-ассоциированной биоплёнки сравнивали активность антибиотиков, эффективных в отношении метициллинорезистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA),

в специфических условиях зрелой биоплёнки. Как показали результаты, при испытании *in vitro* даптомицин и цефтаролин продемонстрировали сравнимые активности, превосходящие активность ванкомицина, телаванцина, оритаванцина, далбаванцина и тигециклина. Это наблюдалось при оценке их действия на зрелые биоплёнки, образованные USA300 метициллинорезистентным штаммом LAC и USA200 метициллиночувствительным штаммом UAMS-1. Как и ожидалось, оксациллин был активнее в отношении штамма UAMS-1, чем метициллинорезистентного LAC, но его активность была ниже активности даптомицина и цефтаролина даже в отношении UAMS-1. Среди гликопептидов наибольшей активностью обладал телаванцин, который был активнее оритаванцина и далбаванцина в отношении биоплёнок, образованных LAC, и был единственным гликопептидом, снижающим число жизнеспособных клеток до уровня ниже предела определения. Активности телаванцина и далбаванцина в отношении биоплёнок штамма UAMS-1 были сравнимы между собой и превосходили активность оритаванцина. При испытании на *in vivo* модели катетер-ассоциированной биоплёнки цефтаролин был единственным антибиотиком, превышающим активность ванкомицина. Результаты исследований показали, что при лечении *S. aureus*-инфекций, сопровождающихся образованием биоплёнок, помимо ванкомицина, следует рассматривать и другие антибиотики, особенно цефтаролин, применяя методы доставки антибиотика в матрицу биоплёнки, часто используемые для локальной обработки подобных инфекций.

* Department of Microbiology & Immunology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, Arkansas, USA.

Подготовлено Н. С. Бондаревой (Москва)

Указатель авторов и статей, опубликованных в журнале в 2016 году

- Абубакирова А.И. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Автономова А.В. см. Краснопольская Л.М. и др. 11—12 (16)
Агеевец В.А. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
Александров М.И. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (39)
Александрова Л.А. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)
Алиева К. Н., Струкова Е. Я., Голикова М. В., Портной Ю. А., Фирсов А. А. Зависимая от концентрации антибиотика селекция линезолидоустойчивых стафилококков в динамической системе *in vitro* 9—10 (28)
Алферова В.А. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Алябьева Н.М. см. Катосова Л.К. и др. 3—4 (23)
Алябьева Н.М. см. Крыжановская О.А. и др. 7—8 (22)
Андержанова А.А. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Анкирская А.С. см. Марченко Л.А. и др. 9—10 (44)
- Багин В.А. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Балабаньян В.Ю. см. Островский К.П. и др. 7—8 (15)
Балко А.Б. см. Гулий О.Д. и др. 1—2 (3)
Барканова О.Н. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Басин Е.Е. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Беланов С.С. см. Цветкова И.А. 11—12 (21)
Белобородов В.Б. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Белов Б. С., Тарасова Г. М. Инфекционный эндокардит: современные подходы к антибактериальной терапии 5—6 (43)
Белькова Ю. А., Рачина С. А., Козлов Р. С., Мищенко В. М., Павлюков Р. А., Абубакирова А. И., Бережанский Б. В., Елисеева Е. В., Зубарева Н. А., Карпов И. А., Копылова И. А., Палютин Ш. Х., Портнягина У. С., Прибыткова О. В., Самуйло Е. К. Потребление и затраты на системные антимикробные препараты в хирургических отделениях многопрофильных стационаров Российской Федерации и Республики Беларусь: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования 1—2 (15)
Бердникова Н.Г. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Бережанский Б.В. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Беседнова Н. Н., Ковалев Н. Н., Запорожец Т. С., Кузнецова Т. А., Гажда А. К. Головоногие моллюски — источники новых антимикробных субстанций 1—2 (32)
Беседнова Н.Н. см. Кузнецова Т.А. и др. 3—4 (14)
Беседнова Н.Н. см. Кузнецова Т.А. и др. 7—8 (10)
Беседнова Н.Я., Макаренко И.Д., Звягинцева Т.Н., Кузнецова Т. А., Запорожец Т. С. Ингибирующее действие полисахаридов морских гидробионтов на формирование биопленок 9—10 (64)
Бибикова М. В., Спиридонова И. А., Даниленко А. Я., Ким Ю. А., Корыстова А. Ф., Шапошникова В. В., Корыстов Ю. Н. Скрининг продуцентов ингибиторов 15-липноксигеназы среди микромицетов 7—8 (3)
Богущ Е.А. см. Богущ Т.А. и др. 3—4 (41)
Богущ Т. А., Полежаев Б. Б., Дудко Е. А., Богущ Е. А., Кирсанов В. Ю., Полоцкий Б. Е., Тюлядин С. А., Давыдов М. И. Новые данные о молекулярных мишенях тамоксифена, отличных от рецепторов эстрогенов, и их клиническая значимость 3—4 (41)
Бондаренко О.В. см. Смирнова И.П. и др. 3—4 (30)
Булгакова В.Г. см. Виноградова К.А. и др. 7—8 (33)
- Булгакова В.Г. см. Орлова Т.И. и др. 9—10 (52)
Бунин В.Д. см. Гулий О.Д. и др. 1—2 (3)
Бунин В.Д. см. Гулий О.Д. и др. 3—4 (3)
Бурцева Е.И. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
Бурцева Е.И. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
Бухман В.М. см. Краснопольская Л.М. и др. 11—12 (16)
- Васильева И.М. Кулько А.Б. и др. 9—10 (8)
Виноградова А.А. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
Виноградова К. А., Булакова В. Г., Полин А. Н. Стрептомицеты в свете концепции «многоклеточности» бактерий 7—8 (33)
Возняковская Е.В. см. Островский К.П. и др. 7—8 (15)
Волкова М.О. см. Цветкова И.А. 11—12 (21)
- Габриэлян Н.И. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Гаврилов М.М. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Гажда А.К. см. Беседнова Н.Н. и др. 1—2 (32)
Гайдукевич С.К. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)
Гельперина С.Э. см. Островский Е.В. и др. 7—8 (15)
Глухова А.А. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Голикова М.В. см. Алиева К.Н. и др. 9—10 (28)
Гомболевская Н.А. см. Марченко Л.А. и др. 9—10 (44)
Гончаров А.Е. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
Гостев В. В., Калиногорская О. С., Дмитренко О. А., Цветкова И. А., Сидоренко С. В. Молекулярные механизмы снижения чувствительности к цефтаролину метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* 9—10 (17)
Гостев В.В. см. Цветкова И.А. 11—12 (21)
Грибанова О.А. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
Гринберг Д. см. Корнетский Р. И др. 11—12 (56)
Гришина Н.А. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Гроппа Л.Г. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
Гулий О. И., Бунин В. Д., Ларионова О. С., Жничкова Е. Г., Балко А. Б., Игнатов О. В. Изменение электрофизических свойств клеток *Escherichia coli* при действии левомицетина и тетрациклина 1—2 (3)
Гулий О. П., Бунин В. Д., Игнатов О. В. Метод электрооптического анализа для регистрации воздействия антибиотиков на микробные клетки 3—4 (3)
Гучев И. А., Клочков О. И., Синопальников А. И. Профилактика вспышек внебольничной пневмонии полисахаридной пневмококковой вакциной: анализ перспектив применения для силовых структур России 1—2 (43)
Гучев И. А. Вакцинопрофилактика пневмококковых инфекций нижних дыхательных путей у взрослых без иммуносупрессии 7—8 (48)
- Давыдов М.И. см. Богущ Т.А. и др. 3—4 (41)
Даниленко А.Н. см. Бибикова М.В. и др. 7—8 (3)
Данчинова А.М. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Дарьина М.Г. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
Дзантиев Б.Б. см. Еремин С.А. и др. 9—10 (22)
Джавахан Б.Р. см. Краснопольская Л.М. и др. 11—12 (16)
Дмитренко О.А. см. Гостев В.В. и др. 9—10 (17)

Дмитриева И.Б. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Драбкина И.В. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Дудко Е.А. см. Богуш Т.А. и др. 3—4 (41)

Еганиян Г.А. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
Елисеева Е.В. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Елисеева Е.В. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Елистратова Н.А. см. Можокина Г.Н. 3—4 (19)
Елистратова Н.А. см. Можокина Г.Н. и др. 5—6 (3)
Елкина Т.Н. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
Елкина Т.Н. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
Еремин С. А., Хан О. Ю., Писарев В. В., Зверева Е. А., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Флуоресцентный поляризационный иммуноанализ для экспрессного контроля содержания антибиотиков: разработка и характеристика на примере хлорамфеникола 9—10 (22)
Ермакова С.П. см. Кузнецова Т.А. и др. 7—8 (10)
Ерофеева С.Б. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Ершова Т.А. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
Ефименко Т.А. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Ефременкова О. В., Габриэлян Н. П., Маланичева И. А., Ефименко Т. А., Терехова Л. П., Удалова В. В., Глухова А. А., Рогожин Е. А., Алферова В. А., Коришун В. А., Кубанова М. Х., Драбкина И. В., Крупенио Т. В. Антибиотическая активность пробиотического штамма *Bacillus subtilis* 534 в отношении клинических изолятов *Acinetobacter baumannii* 9—10 (3)
Ефременкова О.В. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)

Жердев А.В. см. Еремин С.А. и др. 9—10 (22)
Жничкова Е.Г. см. Гулий О.Д. и др. 1—2 (3)

Заиграев И.А. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (48)
Заплатников А.Л. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
Запорожец Т.С. см. Беседнова Н.Н. и др. 1—2 (32)
Запорожец Т.С. см. Кузнецова Т.А. и др. 3—4 (14)
Запорожец Т.С. см. Беседнова Н.Н. и др. 9—10 (64)
Зарецкая М.А. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)
Засухина Г.Д. Кулько А.Б. и др. 9—10 (8)
Зверева Е.А. см. Еремин С.А. и др. 9—10 (22)
Звягинцева Т.Н. см. Беседнова Н.Н. и др. 9—10 (64)
Зеленская В.В. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
Земляной А.Б. см. Кузнецова Т.А. и др. 3—4 (14)
Золотухин К.Н. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Зубарева Н.А. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Зуева Л.П. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
Зырянов С.К. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (48)

Ивжиц М.А. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (48)
Игнатов О.В. см. Гулий О.Д. и др. 1—2 (3)
Игнатов О.В. см. Гулий О.Д. и др. 3—4 (3)
Имбс Т.И. см. Кузнецова Т.А. и др. 7—8 (10)
Инютин А.С. см. Федосеев А.В. и др. 5—6 (21)
Исакова Е.Б. см. Принцевская С.С. и др. 11—12 (3)
Исакова Е.Б. см. Краснополянская Л.М. и др. 11—12 (16)

Калиногорская О.С. см. Гостев В.В. и др. 9—10 (17)
Калиногорская О.С. см. Цветкова И.А. 11—12 (21)
Каменева Т.Р. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)

Карасева О.В. см. Крыжановская О.А. и др. 7—8 (22)
Карпенко И.Л., Сорокоумова Г.М., Сумарукова И.Г., Гайдукевич С.К., Зарецкая М.А., Ефременкова О.В., Александрова Л.А. Получение липосомальных форм модифицированных пиримидиновых нуклеозидов и изучение их антибактериальных свойств 11—12 (9)
Карпов И.А. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Карташова О.Л. см. Сычева М.В. и др. 7—8 (27)
Катосова Л. К., Лазарева А. В., Хохлова Т. А., Пономаренко О. А., Алябьева Н. М. Распространение и механизмы устойчивости к макролидам *Streptococcus pyogenes*, выделенных у детей 3—4 (23)
Ким Ю.А. см. Бибикова М.В. и др. 7—8 (3)
Кирсанов В.Ю. см. Богуш Т.А. и др. 3—4 (41)
Кисиль О.В. см. Кулько А.Б. и др. 9—10 (8)
Ключков О.И. см. Гучев И.А. и др. 1—2 (43)
Ковалев Н.Н. см. Беседнова Н.Н. и др. 1—2 (32)
Ковалев Н.Н. см. Кузнецова Т.А. и др. 3—4 (14)
Ковеленов С.В. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Козлов Р.С. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Коломиец В.М. см. Рублева Н.В. и др. 1—2 (9)
Кондюрина Е. Г., Заплатников А. Л., Елкина Т. Н., Бурцева Е. И., Грибанова О. А., Пирожкова Н. И., Мингалимова Г. А., Тюленева И. О., Трушакова С. В., Мукашева Е. А. Многоплановая оценка схем терапии острых респираторных инфекций в условиях рутинной педиатрической практики 5—6 (8)
Кондюрина Е. Г., Тюленева И. С., Бурцева Е. И., Трушакова С. В., Мукашева Е. А., Виноградова А. А., Елкина Т. Н., Зеленская В. В. Динамика клинической картины острого обструктивного бронхита у детей на фоне противовирусной терапии 9—10 (33)
Копылова И.А. см. Белькова Ю.А. и др. 1—2 (15)
Коришун В.А. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Королев А.М. см. Принцевская С.С. 11—12 (3)
Корнетски Р., Гринберг Д., Фалуп-Пекуриу О. Не соответствие по эффективности пневмококковой вакцины в развитых и развивающихся странах: может ли вакцинация сократить разрыв? 11—12 (56)
Корсантия Б.М. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
Корыстов Ю.Н. см. Бибикова М.В. и др. 7—8 (3)
Корыстова А.Ф. см. Бибикова М.В. и др. 7—8 (3)
Котельникова Т.Е. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
Кочеткова Е.Я. см. Рублева Н.В. и др. 1—2 (9)
Краснополянская Л.М., Шуктуева М.И., Автономова А.В., Ярина М.С., Джавахян Б.Р., Исакова Е.Б., Бухман В.М. Протиовоопухолевые и антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов из мицелия базидиального гриба *Flammulina velutipes* 11—12 (16)
Кроливец Д.В. см. Федосеев А.В. и др. 5—6 (21)
Крупенио Т.В. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Крыжановская О. А., Лазарева А. В., Алябьева Н. М., Тепаев Р. Ф., Карасева О. В., Чеботарь И. В., Маянский Н. А. Устойчивость к антибиотикам и молекулярные механизмы резистентности у карбапенем-нечувствительных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в педиатрических ОРИТ г. Москвы 7—8 (22)
Крылова Н. В., Попов А. М., Леонова Г. Н. Антиоксиданты как потенциальные противовирусные препараты при флавивирусных инфекциях 5—6 (25)
Кубанова М.Х. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
Кузнецова Т.А. см. Беседнова Н.Н. и др. 1—2 (32)

Кузнецова Т. А., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Ковалев Н. Я., Усов В. В., Земляной А. Б. Биологически активные вещества из морских гидробионтов с антибактериальным действием в составе новых раневых покрытий 3—4 (14)

Кузнецова Т. А., Смолина Т. П., Беседнова Н. Н., Сильченко А. С., Имбс Т. П., Ермакова С. П. Влияние сульфатированных полисахаридов из бурой водоросли *Fucus evanescens* и продукта их ферментативной трансформации на функциональную активность клеток врождённого иммунитета 7—8 (10)

Кузнецова Т. А. см. Беседнова Н. Н. и др. 9—10 (64)
Кулько А. Б., Кисиль О. В., Садыкова В. С., Михайлов В. Ф., Васильева И. М., Шуленина Л. В., Засухина Г. Д., Рогожин Е. А. Исследование тионинных семян чёрного тмина (*Nigella sativa*), обладающих цитотоксической, регуляторной и антифунгальной активностью 9—10 (8)

Лазарева А. В. см. Катосова Л. К. и др. 3—4 (23)

Лазарева А. В. см. Крыжановская О. А. и др. 7—8 (22)

Лазарева И. В., Агеевец В. А., Ершова Т. А., Зуева Л. П., Гончаров А. Е., Дарыина М. Г., Светличная Ю. С., Сидоренко С. В. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации 11—12 (28)

Ларионова О. С. см. Гулий О. Д. и др. 1—2 (3)

Леонова Г. Н. см. Крылова Н. В. и др. 5—6 (25)

Лукин М. А. см. Родоман Г. В. и др. 11—12 (48)

Макаренкова И. Д. см. Беседнова Н. Н. и др. 9—10 (64)

Макарова О. В. см. Можокина Г. Н. и др. 5—6 (3)

Максименко О. О. см. Островский К. П. и др. 7—8 (15)

Маланичева И. А. см. Ефременкова О. В. и др. 9—10 (3)

Малышев Н. А. см. Фазылов В. Х. и др. 11—12 (39)

Маркина О. Ю. см. Родоман Г. В. и др. 11—12 (48)

Марковская Е. И. см. Щипелева И. А. 9—10 (74)

Марченко Л. А., Чернуха Г. Е., Якушевская О. В., Гомболевская Н. А., Муравьева В. В., Припутневич Т. В., Анкирская А. С. Клинические и микробиологические аспекты хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста 9—10 (44)

Маянский Н. А. см. Крыжановская О. А. и др. 7—8 (22)

Мелешина Ю. А. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Мингалимова Г. А. см. Кондюрина Е. Г. и др. 5—6 (8)

Мирчинк Е. П. см. Принцевская С. С. и др. 11—12 (3)

Михайлов В. Ф. см. Кулько А. Б. и др. 9—10 (8)

Михайлова Л. П. см. Можокина Г. Н. и др. 5—6 (3)

Мищенко В. М. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Можокина Г. Н., Елистратова Н. А. Экспериментальное обоснование применения таурина для профилактики нейротоксических реакций, вызванных изониазидом 3—4 (19)

Можокина Г. Н., Елистратова Н. А., Михайлова Л. П., Макарова О. В. О выборе модели лекарственного поражения печени для изучения новых гепатопротекторов в эксперименте 5—6 (3)

Молостова Т. Н. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Мукашева Е. А. см. Кондюрина Е. Г. и др. 5—6 (8)

Мукашева Е. А. см. Кондюрина Е. Г. и др. 9—10 (33)

Муравьева В. В. см. Марченко Л. А. и др. 9—10 (44)

Насер Н. Р. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Никифоров С. В. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Николаева Т. А. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Новожилова Е. А. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Овчинникова О. Е. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Орлова Т. П., Булгакова В. Г., Полин А. Н. Вторичные метаболиты морских микроорганизмов. II. Морские грибы и места их обитания 9—10 (52)

Осипова Н. С. см. Островский К. П. и др. 7—8 (15)

Островский К. П., Переверзева Э. Р., Трещалин И. Д., Осипова Н. С., Трещалин М. И., Возняковская Е. В., Балабаньян В. Ю., Максименко О. О., Гельперина С. Э. Токсикологическое исследование внутривенной формы рифапентина 7—8 (15)

Павлюков Р. А. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Палютин Ш. Х. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Палютин Ш. Х. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Переверзева Э. Р. см. Островский К. П. и др. 7—8 (15)

Петровская Е. В. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Пирожкова Н. И. см. Кондюрина Е. Г. и др. 5—6 (8)

Писарев В. В. см. Еремин С. А. и др. 9—10 (22)

Полежаев Б. Б. см. Богуш Т. А. и др. 3—4 (41)

Полин А. Н. см. Виноградова К. А. и др. 7—8 (33)

Полин А. Н. см. Орлова Т. И. и др. 9—10 (52)

Полоцкий Б. Е. см. Богуш Т. А. и др. 3—4 (41)

Понамаренко О. А. см. Катосова Л. К. и др. 3—4 (23)

Попов А. М. см. Крылова Н. В. и др. 5—6 (25)

Портной Ю. А. см. Алиева К. Н. и др. 9—10 (28)

Портнягина У. С. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Портнягина У. С. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Прибыткова О. В. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Прибыткова О. В. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Принцевская С. С., Королев А. М., Исакова Е. Б., Мирчинк Е. П., Тевяшова А. Н. Гибридные антибиотики на основе азитромицина и гликопептидов — синтез и антибактериальная активность 11—12 (3)

Припутневич Т. В. см. Марченко Л. А. и др. 9—10 (44)

Рачина С. А. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Решетников О. В. см. Хрянин А. А. 3—4 (35)

Рог А. А. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Рогожин Е. А. см. Ефременкова О. В. и др. 9—10 (3)

Рогожин Е. А. Кулько А. Б. и др. 9—10 (8)

Родоман Г. В., Сумеди И. Р., Зырянов С. К., Ивжиц М. А., Ромашов О. М., Александров М. И., Маркина О. Ю., Лукин М. А., Заиграев И. А., Смирнова М. Р. Успешное применение тигециклина в комбинированной терапии вентилятор-ассоциированной госпитальной пневмонии: клинический случай 11—12 (48)

Ромашов О. М. см. Родоман Г. В. и др. 11—12 (48)

Рублева Н. В., Коломиец В. М., Кочеткова Е. Я. Лечебно-реабилитационные мероприятия у больных туберкулезом лёгких с разной приверженностью к лечению 1—2 (9)

Руднов В. А. см. Яковлев С. В. и др. 5—6 (32)

Садыкова В. С. Кулько А. Б. и др. 9—10 (8)

Самуйло Е. К. см. Белькова Ю. А. и др. 1—2 (15)

Сафронов Ал.А. см. Сычева М.В. и др. 7—8 (27)
 Светличная Ю.С. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
 Семкина О.А. см. Смирнова И.П. и др. 3—4 (30)
 Сидоренко С.В. см. Гостев В.В. и др. 9—10 (17)
 Сидоренко С.В. см. Цветкова И.А. 11—12 (21)
 Сидоренко С.В. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
 Силина Е.В. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
 Сильченко А.С. см. Кузнецова Т.А. и др. 7—8 (10)
 Синопальников А.И. см. Гучев И.А. и др. 1—2 (43)
 Ситников И.Г. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
 Сифоров Р.В. см. Федосеев А.В. и др. 5—6 (21)
 Смирнова И. П., Семкина О. А., Бондаренко О. В. Использование растительных экстрактов в создании лекарственных средств разнотипной терапевтической направленности 3—4 (30)
 Смирнова М.П. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (48)
 Смолина Т.П. см. Кузнецова Т.А. и др. 7—8 (10)
 Спиридонова И.А. см. Бибикина М.В. и др. 7—8 (3)
 Сорокоумова Г.М. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)
 Струкова Е.Н. см. Алиева К.Н. и др. 9—10 (28)
 Суворова М.П. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
 Сумарокова И.Г. см. Карпенко И.Л. и др. 11—12 (9)
 Сумеди И.Р. см. Родоман Г.В. и др. 11—12 (48)
 Сычева М. В., Карташова О. Л., Щепитова Н. Е., Сафронов Ал. А. Антибиотикорезистентность бактерий рода *Enterococcus*, выделенных из организма человека в норме и при патологии 7—8 (27)

Тарасова Г.М. см. Белов Б.С. 5—6 (43)
 Тевяшова А.Н. см. Принцевская С.С. и др. 11—12 (3)
 Тепаев Р.Ф. см. Крыжановская О.А. и др. 7—8 (22)
 Терехова Л.П. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
 Токарева И.Я. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
 Трапезникова Б.В. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
 Трещалин И.Д. см. Островский К.П. и др. 7—8 (15)
 Трещалин М.И. см. Островский К.П. и др. 7—8 (15)
 Трушакова С.В. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
 Трушакова С.В. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
 Тюленева И.О. см. Кондюрина Е.Г. и др. 9—10 (33)
 Тюленина И.А. см. Кондюрина Е.Г. и др. 5—6 (8)
 Тюляндин С.А. см. Богуш Т.А. и др. 3—4 (41)

Удалова В.В. см. Ефременкова О.В. и др. 9—10 (3)
 Усков А.Н. см. Лазарева И.В. и др. 11—12 (28)
 Усов В.В. см. Кузнецова Т.А. и др. 3—4 (14)

Фазылов В.Х., Ситников И.Г., Малышев Н.А., Силина Е.В., Шевченко С.Б., Еганян Г.А., Корсантия Б.М., Гроппа Л.Г. Влияние противовирусной терапии на частоту развития бактериальных осложнений и назначения антибактериальных препаратов для системного использования у пациентов с ОРВИ и грип-

пом (результаты когортного международного наблюдательного исследования) 11—12 (39)
 Фалуп-Пекурариу О. см. Корнетски Р. и др. 11—12 (56)
 Федосеев А. В., Сифоров Р. В., Инютин А. С., Чекушин А. А., Кроливец Д. В. Особенности микробного пейзажа раневой поверхности у больных с синдромом диабетической стопы 5—6 (21)
 Фирсов А.А. см. Алиева К.Н. и др. 9—10 (28)

Хан О.Ю. см. Еремин С.А. и др. 9—10 (22)
 Хохлова Т.А. см. Катосова Л.К. и др. 3—4 (23)
 Хрянин А. А., Решетников О. В. Интерферон-гамма: горизонты терапии 3—4 (35)

Цветкова И.А. см. Гостев В.В. и др. 9—10 (17)
 Цветкова И.А., Волкова М.О., Калиногорская О.С., Беланов С.С., Гостев В.В., Сидоренко С.В. SNP-полиморфизм в геномах изолятов *Streptococcus pneumoniae* CC320, устойчивых к бета-лактамам антибиотикам 11—12 (21)

Чеботарь И.В. см. Крыжановская О.А. и др. 7—8 (22)
 Чекушин А.А. см. Федосеев А.В. и др. 5—6 (21)
 Чернуха Г.Е. см. Марченко Л.А. и др. 9—10 (44)

Шалаяпина О.В. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
 Шапошникова В.В. см. Бибикина М.В. и др. 7—8 (3)
 Шевченко С.Б. см. Фазылов В.Х. и др. 11—12 (39)
 Шляпников С.А. см. Яковлев С.В. и др. 5—6 (32)
 Шуленина Л.В. Кулько А.Б. и др. 9—10 (8)
 Шуктуева М. И. см. Краснопольская Л. М. и др. 11—12 (16)

Щепитова Н.Е. см. Сычева М.В. и др. 7—8 (27)
 Щипелева И. А., Марковская Е. И. Антибактериальная терапия чумы. Исторический срез и взгляд в будущее 9—10 (74)

Яковлев С. В., Суворова М. П., Белобородов В. Б., Басин Е. Е., Елисеева Е. В., Ковеленов С. В., Портнягина У. С., Рог А. А., Руднов В. А., Барканова О. Н. и члены исследовательской группы ЭРГИНИ. Распространённость и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭРГИНИ 5—6 (32)
 Якушевская О.В. см. Марченко Л.А. и др. 9—10 (44)
 Ярина М.С. см. Краснопольская Л.М. и др. 11—12 (16)

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

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

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

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

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

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

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

6. Таблицы должны быть пронумерованы, **иметь название**, заголовки граф точно соответствовать их содержанию, а цифры в таблицах — цифрам в тексте. Необщепринятые сокращения в графах не допускаются. На каждую таблицу в тексте статьи должны быть **сноски**.

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

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

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

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

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

12. В журнале используются **международные непатентованные названия** (МНН) препаратов. Торговые (патентованные) названия, под которыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся в разделе «Материал и методы», с указанием фирмы- изгото-

вителя и их международным непатентованным названием.

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

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

15. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.

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

17. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

кагоцел®
противовирусное средство

Работает

даже при запоздалом лечении!



Кагоцел® – выбор специалистов!¹

№1

СРЕДИ
ПРЕПАРАТОВ
ОТ ПРОСТУДЫ
И ГРИППА²

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

Современный противовирусный препарат для взрослых и детей с 3 лет

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

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

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

Информация предназначена для медицинских и фармацевтических работников.

