

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 65



5-6'2020

Научно-практический журнал



Завицефта: новая комбинация цефтазидима и авибактама с широким спектром активности в отношении резистентных грамотрицательных патогенов



Показана для лечения у взрослых:¹

- осложненных интраабдоминальных инфекций
- осложненных инфекций мочевых путей, включая пиелонефрит
- нозокомиальной пневмонии (включая НП_{ИВЛ})
- инфекций, вызванных аэробными грамотрицательными микроорганизмами, у пациентов с ограниченным выбором антибактериальной терапии

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Завицефта®

МНН: цефтазидим+[авибактам]

Фармакологические свойства: авибактам является ингибитором бета-лактамаз не бета-лактамной структуры. Он ингибирует бета-лактамазы классов А и С и некоторые бета-лактамазы класса D по Ambler, включая бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), КРС и ОХА-48 карбапенемы, а также ферменты AmpC. Авибактам не ингибирует бета-лактамазы класса В (металло-бета-лактамазы) и не способен ингибировать многие бета-лактамазы класса D. Авибактам не обладает клинически значимой антибактериальной активностью in vitro. Цефтазидим – антибиотик широкого спектра действия класса цефалоспоринов, активность которого в отношении многих значимых грамотрицательных и грамположительных патогенных бактерий показана in vitro. Цефтазидим нарушает синтез пептидогликана клеточной стенки бактерий в результате взаимодействия с пенициллинсвязывающими белками (ПСВ), что приводит к разрушению клеточной стенки и гибели бактерий.

Показания к применению: лечение следующих инфекций у взрослых пациентов:

- осложненные интраабдоминальные инфекции;
- осложненные инфекции мочевыводящих путей, включая пиелонефрит;
- госпитальная пневмония, включая пневмонию, ассоциированную с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ);
- инфекции, вызванные аэробными грамотрицательными микроорганизмами у пациентов с ограниченным выбором антибактериальной терапии.

Противопоказания:

- Гиперчувствительность к авибактаму, цефтазидиму или натрия карбонату (вспомогательному веществу, входящему в состав препарата).
- Гиперчувствительность к цефалоспорином.
- Тяжелые реакции гиперчувствительности немедленного типа (например, анафилактическая реакция) на любое другое антибактериальное средство, имеющее бета-лактамную структуру (например, пенициллины, монобактамы или карбапенемы).

• Детский и подростковый возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не установлены)

С осторожностью: пациенты с нежелательными реакциями гиперчувствительности на другие препараты, имеющие бета-лактамную структуру

Способ применения и дозы: содержимое одного флакона препарата Завицефта (2000 мг цефтазидима + 500 мг авибактама) вводится внутривенно в виде инфузии объемом 100 мл с постоянной скоростью в течение 120 минут каждые 8 часов, если оцениваемый КК ≥ 51 мл/мин.

Рекомендуется следующая продолжительность терапии:

- осложненные интраабдоминальные инфекции – 5-14 суток;
- осложненные инфекции мочевыводящих путей, включая пиелонефрит – 5-10 суток;
- госпитальная пневмония, включая пневмонию, ассоциированную с ИВЛ – 7-14 суток;
- инфекции, вызванные аэробными грамотрицательными микроорганизмами, у пациентов с ограниченным выбором антибактериальной терапии – продолжительность терапии зависит от тяжести инфекции, возбудителя, клинического и бактериологического ответа на лечение.

Применение у особых групп пациентов:

Коррекция дозы не требуется у пациентов с печеночной недостаточностью, и у пожилых пациентов (≥ 65 лет) с КК > 50 мл/мин

Почечная недостаточность: Рекомендуемый режим дозирования препарата Завицефта у пациентов с оцениваемым КК ≤ 50 мл/мин*:

Оцениваемый КК (мл/мин)	Режим дозирования	Частота введения	Длительность инфузии
31-50	1000 мг + 250 мг	каждые 8 часов	2 часа
16-30	750 мг + 187,5 мг	каждые 12 часов	2 часа
6-15	750 мг + 187,5 мг	каждые 24 часа	2 часа
Терминальная стадия почечной недостаточности, включая пациентов на гемодиализе*	750 мг + 187,5 мг	каждые 48 часов	2 часа

* КК рассчитывался по формуле Кокрофта-Гаулта.

** Цефтазидим и авибактам выводятся при гемодиализе. В дни проведения гемодиализа препарат следует вводить после окончания сеанса.

Побочное действие: очень часто: положительная прямая проба Кумбса; часто: кандидоз (включая вульвовагинальный кандидоз и кандидоз ротовой полости), эозинофилия, тромбоцитоз, головная боль, головокружение, диарея, боль в животе, тошнота, рвота, повышение активности трансаминаз, повышение активности щелочной фосфатазы, повышение активности лактатдегидрогеназы, макулопапулярная сыпь, крапивница, тромбоз в месте инфузии, флебит в месте инфузии, повышение температуры тела.

Передозировка: Передозировка может приводить к неврологическим нарушениям, обусловленным цефтазидимом, которые включают энцефалопатию, судороги и кому. Концентрацию цефтазидима в сыворотке крови можно снизить с помощью гемодиализа или перитонеального диализа.

Взаимодействие с другими лекарственными средствами: авибактам и цефтазидим в клинически значимом диапазоне экспозиции не ингибируют основные транспортеры в почках и печени, поэтому вероятность возникновения лекарственного взаимодействия с помощью этих механизмов считается низкой. Применение цефалоспоринов в высоких дозах в комбинации с нефротоксичными лекарственными препаратами, такими как аминогликозиды или мощные диуретики, может привести к нарушению функции почек.

Особые указания: как и при применении всех бета-лактамов антибиотиков, возможно развитие серьезных реакций повышенной чувствительности. Важно помнить о возможности развития антибиотикоассоциированного колита и псевдомембранозного колита у пациентов с диареей во время терапии препаратом Завицефта или после ее окончания.

Условия отпуска: по рецепту.

Форма выпуска: Порошок для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузий, 2000 мг + 500 мг, в прозрачных стеклянных флаконах вместимостью 20 мл

Перед назначением препарата ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению.

Регистрационный номер: ЛП-004289 от 15.05.2017



ООО «Пфайзер Инновации»:

123112, Москва, Пресненская наб., д.10,

БЦ «Башня на Набережной» (блок С)

тел.: + 7 (495) 287-50-00, факс: +7 (495) 287-53-00

1. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Завицефта® ЛП 004289

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.
ГНИЦА

Тел.: 8-925-472-30-38

E-mail: journalgnca@yandex.ru

Зав. редакцией Л. Б. Смирнова

Корректор: Е. А. Крыкова

Сайт: www.jantchem.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-925-472-30-38

E-mail: gncajournal@yandex.ru

Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Издательство
ОКИ

Подписка через объединённый
каталог «Пресса России»
или через «Агентство «Книга-Сервис»:
подписной индекс — Е71404

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

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: 2020

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 65

5—6'2020

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

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

Зам. главного редактора

Чл.-корр. РАН, профессор, д. б. н. Фирсов А. А.

Зам. главного редактора
профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. А.

Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.

Чл.-корр. РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.

Профессор, д. м. н. Клишко Н. Н.

Профессор, д. м. н. Колбин А. С.

Профессор, д. м. н. Кочеровец В. И.

Академик РАН, профессор, д. м. н. Лобзин Ю. В.

Профессор, д. х. н. Олсуфьева Е. Н.

Д. б. н. Переверзева Э. Р.

Д. м. н. Припутневич Т. В.

Профессор, д. м. н. Руднов В. А.

Д. б. н. Садыкова В. С.

Д. х. н. Тевяшова А. Н.

Профессор, д. х. н. Тишков В. Н.

Чл.-корр. РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.

Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.

Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.

Научные редакторы

К. м. н. Кузнецова С. М.

К. б. н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.

Бибикова М. В.

Васильев А. Н.

Волжанин В. М.

Дмитриева Н. В.

Захарова Ю. А.

Зуева А. П.

Клясова Г. А.

Ленёва И. А.

Митрохин С. Д.

Сычев Д. А.

Тец В. В.

Ших Е. В.

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

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

Оригинальные статьи

Original Papers

Хильченко С. Р., Запорожец Т. С., Звягинцева Т. Н.,
Шевченко Н. М., Беседнова Н. Н.
Роль сульфатных групп в фукоидане из *Fucus evanescens*
в стимуляции продукции провоспалительных цитокинов
клетками периферической крови человека *in vitro*
Кононова Л. И., Пьянков И. А., Смоляк А. А.,
Шкляев Ю. В., Коробов В. П.
Синергидное действие катионного пептида хоминина
и нового дезинфектанта на основе изохинолина
на образование биоплёнок
полирезистентных стафилококков
Селянская Н. А., Головин С. Н.
Изучение антибактериальной активности производного
фенилуксусной кислоты в отношении возбудителя холеры

3 *Khil'chenko S. R., Zaporozhets T. S., Zvyagintseva T. N.,
Shevchenko N. M., Besednova N. N.*
The Role of Sulfates in Fucoidan Extracted from
Fucus evanescens in Proinflammatory Cytokines Production
by Human Peripheral Blood Cells *in vitro*
11 *Kononova L. I., Pyankov I. A., Smolyak A. A.,
Shklyayev Yu. V., Korobov V. P.*
Synergistic Effect of the Cationic Peptide Hominin
and a New Disinfectant Based on Isoquinoline
on Formation of Biofilms in Multidrug-Resistant
Staphylococci
19 *Selyanskaya N. A., Golovin S. N.*
Study of the Antibacterial Activity of Phenylacetic Acid
Derivative Against the Causative Agent of Cholera

В помощь практикующему врачу

Guidelines for Practitioners

Соколова В. И., Сычев Д. А., Васильева Е. И.,
Бабарина М. Б., Заволовская Л. И.
Анализ микробного пейзажа в очаге инфекции
и эффективность антибиотико- и иммунотерапии
у больных с диабетической стопой
Логвина Л. Л., Байрам Д. Н., Камбачокова З. А.,
Шаваева Ф. В., Крышкокалова З. С., Сарбашева М. М.,
Карданова М. Х., Иосипчук К. О.
Патогенетическая терапия больных
рецидивирующим генитальным герпесом
Тарасова Г. М., Белов Б. С., Черкасова М. В., Соловьев С. К.,
Асеева Е. А., Решетняк Т. М., Попкова Т. В., Кошелева Н. М.
Иммуногенность, переносимость
и клиническая эффективность 23-валентной
полисахаридной пневмококковой вакцины
у больных системной красной волчанкой

25 *Sokolova V. I., Sychev D. A., Vasilieva E. I.,
Babarina M. B., Zavolovskaya L. I.*
Analysis of the Microbial Landscape of Infection Site
and the Effectiveness of Antibiotic and Immunotherapy
in Patients with Diabetic Foot
30 *Logvina L. L., Bayram D. N., Kambachokova Z. A.,
Shavaeva F. V., Krymshokalova Z. S., Sarbasheva M. M.,
Kardanova M. Kh., Iosipchuk K. O.*
Pathogenetic Therapy of Patients
with Recurrent Genital Herpes
35 *Tarasova G. M., Belov B. S., Cherkasova M. V., Soloviev S. K.,
Aseeva E. A., Reshetnyak T. M., Popkova T. V., Kosheleva N. M.*
Immunogenicity, Tolerability, and Clinical
Effectiveness of 23-Valent Polysaccharide
Pneumococcal Vaccine in Patients
with Systemic Lupus Erythematosus

Обзоры

Reviews

Яковлев С. В., Суворова М. П., Быков А. О.
Инфекции, вызванные карбапенеморезистентными
энтеробактериями: эпидемиология, клиническое значение
и возможности оптимизации антибактериальной терапии
Хрянин А. А.
Биоплёнки микроорганизмов:
современные представления
Можокина Г. Н., Самойлова А. Г.
Нейротоксические побочные эффекты антимикробных
и противотуберкулёзных препаратов

41 *Yakovlev S. V., Suvorova M. P., Bykov A. O.*
Infections Caused by Carbapenem-Resistant
Enterobacterales: Epidemiology, Clinical Significance,
and Possibilities for Antibiotic Therapy Optimization
70 *Khryanin A. A.*
Microbial Biofilms:
Modern Concepts
78 *Mozhokina G. N., Samoilova A. G.*
Neurotoxic Side Effects of Antimicrobial
and Anti-Tuberculosis Drugs

* 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.

Роль сульфатных групп в фукоидане из *Fucus evanescens* в стимуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками периферической крови человека *in vitro*

*С. Р. ХИЛЬЧЕНКО¹, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ², Т. Н. ЗВЯГИНЦЕВА³, Н. М. ШЕВЧЕНКО³, Н. Н. БЕСЕДНОВА²

¹ Любекский институт экспериментальной дерматологии, Любек, Германия

² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова, Владивосток

³ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток

The Role of Sulfates in Fucoidan Extracted from *Fucus evanescens* in Proinflammatory Cytokines Production by Human Peripheral Blood Cells *in vitro*

*S. R. KHIL'CHENKO¹, T. S. ZAPOROZHETS², T. N. ZVYAGINTSEVA³, N. M. SHEVCHENKO³, N. N. BESEDNOV²

¹ Lübeck Institute of Experimental Dermatology, Lübeck, Germany

² Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

³ G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok

Фукоиданы, сульфатированные полисахариды бурых водорослей (*Phaeophyceae*), обладают широким спектром биологической активности. Молекулярная структура фукоиданов и оценка роли структурных элементов в проявлении их биологических свойств до настоящего времени остаются предметом активного изучения и уточнения. В работе представлены результаты изучения роли сульфатных и ацетильных групп в фукоидане из бурой водоросли *Fucus evanescens* в модуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками гепаринизированной нефракционированной периферической крови человека (КПКЧ). **Материал и методы.** КПКЧ инкубировали с нативным фукоиданом и его дезацетилированными и частично десульфатированными производными (100 мкг/мл). Концентрацию цитокинов в супернатантах определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем. **Результаты.** Инкубирование КПКЧ с нативным фукоиданом приводило к повышению концентрации IL-6, TNF- α , IL-8 в супернатантах. Частичное удаление сульфатных групп у нативного фукоидана отменяло, либо уменьшало стимулирующий эффект в отношении продукции цитокинов IL-6, TNF- α , но не хемокина IL-8. Действие дезацетилированного фукоидана было сопоставимо с действием нативного полисахарида. Нативный полисахарид и его химически модифицированные производные не оказывали влияния на продукцию IFN- γ и IL-10. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о значении сульфатных групп в реализации цитокин-индуцирующих свойств фукоидана из бурой водоросли *F. evanescens*.

Ключевые слова: фукоиданы, связь структуры и функции, *Fucus evanescens*, цитокины.

Fucoidans, sulfated polysaccharides extracted from brown algae (*Phaeophyceae*), have a wide spectrum of bioactivity. Studies of molecular structures of fucoidans and deciphering of molecular elements' impact on their biological activities are at their active stage. The article shows the role of sulfates and acetyl groups in fucoidan isolated from *Fucus evanescens* in proinflammatory cytokines production by human heparinized unfractionated peripheral blood cells. **Material and Methods.** The cells were incubated with native fucoidan (N) and its deacetylated (deA), partially desulfated (deS), and both deacetylated and partially desulfated (deAdeS) derivatives (100 μ g/mL). Cytokine concentrations were determined in cell supernatants by ELISA in a 'sandwich' modification with commercial kits. **Results.** Incubation with N fucoidan led to an increase of IL-6, TNF- α , IL-8 levels in supernatants. Partial removal of sulfate groups cancelled or decreased stimulating effect for IL-6, TNF- α , cytokines, but not for IL-8. deAc fucoidan action was comparable with N polysaccharide. Native polysaccharide and its chemically modified derivatives did not change IFN- γ and IL-10 cytokine production. **Conclusion.** The obtained results suggest that sulfates have a significant role in cytokine-producing properties of fucoidan extracted from brown algae *F. evanescens*.

Keywords: fucoidans, structure-activity relationship, *Fucus evanescens*, cytokines.

Введение

Фукоиданы представляют собой класс сложных сульфатированных полисахаридов, экстрагируемых из клеточных стенок бурых водорослей

(*Phaeophyceae*) [1]. Эти биогликаны проявляют антикоагулянтные, ангиогенные, противовирусные, антибактериальные, антиоксидантные, противоопухолевые и др. биологические активности [2–4].

Фукоиданы являются основными компонентами биологически активных добавок [5], их используют для конструирования бионесителей [6, 7]. Терапевтические свойства фукоиданов могут

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: Любекский институт экспериментальной дерматологии, Германия, 23562, Любек, Ратцебургер алли, 160. E-mail: stanislav.khilchenko@uksh.de

конкурировать с лекарственными средствами [8] и уже тестировались в клинических испытаниях [9]. Исследования по определению фукоидана в периферической крови и моче человека после применения *per os* демонстрируют возможность измерения содержания полисахарида в разных биологических жидкостях [10].

Однако, несмотря на очевидный прогресс, лекарственных препаратов на основе фукоиданов до сих пор нет. Одной из основных причин, помимо трудностей в стандартизации процесса получения (и как следствие — невоспроизводимости химического состава) полисахаридов, является недостаточность теоретических знаний о влиянии конкретных параметров структуры фукоиданов на их биологические свойства. В этой связи исследование влияния элементов структуры фукоиданов на биологическую активность является логически обоснованным этапом на пути создания лекарственных препаратов на их основе.

Цель исследования — изучение роли сульфатных и ацетильных групп фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* в стимуляции продукции провоспалительных цитокинов клетками периферической крови человека *in vitro*.

Материал и методы

Экстракция нативного фукоидана. Талломы бурой водоросли *F. evanescens* были собраны на литорали о. Итуруп (Курильские острова, Россия). Выделение фукоиданов проводили холодной экстракцией, как описывалось ранее [11]. Свежие или глубокой заморозки талломы (≈ 3 кг) последовательно обрабатывали смесью метанола, хлороформа и воды в соотношении 4:2:1. Высушенные обезжиренные водоросли экстрагировали 0,1 М раствором соляной кислоты (в соотношении 1:20) в течение 2 ч при 60°C, экстракцию проводили дважды. Затем экстракты объединяли, нейтрализовали, концентрировали под вакуумом, диализовали против дистиллированной воды и лиофильно высушивали. Получали фракцию, содержащую водорастворимые полисахариды. Полисахариды подвергали гидрофобной хроматографии на колонке с Полихромом-1 (политетрафторэтилен, 65×7 см). Фракцию полисахаридов, содержащую фукоиданы, элюировали водой до исчезновения положительной реакции на углеводы (по фенол-сернокислотному методу), концентрировали до 1/5 объема ультрафильтрацией (мембрана Millipore, 3 кДа), осаждали 4 объемами водного раствора 80% этанола, осадок сушили при комнатной температуре. Полученный препарат использовали для дальнейшего разделения.

Ионообменная хроматография. Фракции фукоиданов разделяли с помощью ионообменной хроматографии. Растворы полисахаридов в 0,1 М NaCl наносили на колонку Macro PreP DEAE (Bio-Rad, 3×21 см) и уравнивали буфером 0,1 М NaCl. Колонку промывали в градиенте 0,1 М NaCl — 2 М NaCl до исчезновения положительной реакции на углеводы

(по фенол-сернокислотному методу). Элюаты концентрировали ультрафильтрацией (1 кДа), диализовали против воды и лиофильно высушивали.

Дезацетилирование фукоиданов. Дезацетилированный препарат (deA) фукоидана получали обработкой нативного препарата (N) 12% водным раствором аммиака в течение 14 ч при 37°C [12].

Десульфатирование фукоиданов. Частично десульфатированный препарат (deS) получали путём сольволитического десульфатирования нативного фукоидана [13]. Дезацетилированный и частично десульфатированный (deAdeS) препарат получали десульфатированием дезацетилированного образца.

Структура нативного фукоидана. Фукоидан из *F. evanescens* построен из повторяющихся дисахаридных блоков: $[\rightarrow 3)-\alpha\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow 4)-\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow)]$ и $[\rightarrow 3)-\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow 4)-\alpha\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)-(1\rightarrow)]$. Эти блоки располагаются хаотично [14].

Анализ моносахаридного состава фукоиданов. Содержание нейтральных углеводов определяли фенол-сернокислотным методом, используя в качестве стандарта фукозу [15]; содержание сульфатов определяли турбидиметрическим методом после гидролиза фукоиданов в растворе 2 N HCl [16]. Моносахаридный состав определяли высокоэффективной жидкостной хроматографией (углеводный анализатор LC-5001, Biotronic; колонка Durrum DA-X8-11, 385×3,2 мм) после гидролиза 2 М TFA (6 ч., 100°C). Обнаружение проводили бицинхонинатным методом; интегрирующая система Shimadzu C-R2 AX. В качестве стандартов использовали рамнозу, маннозу, фукозу, галактозу, ксилозу и глюкозу. Моносахаридный состав приведён в табл. 1.

Определение молекулярной массы. Для определения мол. м. фукоиданов применяли гель-проникающую хроматографию. Препараты фукоиданов наносили на колонки Sephadex G-50 (1×100 см, 15 мл/ч) и Sepharose CL-4B (1×100 см, 15 мл/ч). Декстраны с мол. м. 6, 40 и 70 кДа использовали в качестве стандартов. Установлено, что мол. м. препаратов фукоиданов находятся в диапазоне 150–500 кДа [11].

Определение содержания эндотоксина в препаратах фукоиданов с использованием лизата амёбоцитов *Lymulus polyphemus*. С целью контроля образцов фукоиданов на предмет бактериальной контаминации проводили эндотоксиновый тест качественным методом «гель-тромб», согласно инструкции производителя (Lonza, Gel Clot LAL Pyrogen™, кат. № N283-06). Отрицательный контроль и стоковые растворы препаратов фукоиданов проверяли в монопликатах с постановкой ряда последовательных двукратных разведений контрольного стандартного эндотоксина (CSE), приготовленного с учётом заявленной чувствительности LAL-реагента (лизат амёбоцитов *L. polyphemus*, 0,125 ЕЭ/мл). При образовании твёрдого геля результат считали положительным. Результаты тестирования препаратов фукоиданов на предмет присутствия бактериальных эндотоксинов приведены в табл. 2. В отрицательном контроле (LAL-реагент, восстановленный в апиогенной дистиллированной воде, LRW) и в тестируемых образцах (стоковые растворы фукоиданов (в 1×PBS, 10 мг/мл) с добавлением LAL-реагента гелеобразования не происходило. Результаты тестирования свидетельствуют о том, что возможное присутствие эндотоксина в исследованных препаратах составляет $\leq 0,0625$ ЕЭ/мл, что позволяет судить о собственных эффектах фукоиданов.

Таблица 1. Моносахаридный состав и содержание сульфатов в препаратах фукоидана из *F. evanescens*

Образец фукоидана	Аббре-виатура	SO ₃ Na, моль %	Моносахариды*, нормализованный моль %			
			Fuc	Man	Gal	Xyl
Нативный	N	29,5±2,5	85,0±1,4	2,5±1,7	9,0±3,6	3,5±0,8
Частично десульфатированный	deS	19,8±1,8	84,5±1,6	2,8±1,1	6,7±2,5	6,0±2,2
Дезацетилированный	deA	28,0±1,2	81,7±1,5	3,0±1,2	10,7±1,8	4,6±0,9
Дезацетилированный и частично десульфатированный	deAdeS	19,5±1,6	85,3±1,7	2,4±1,1	6,6±2,1	5,7±1,5

Примечание. * — определены методом ВЭЖХ после кислотного гидролиза.

Таблица 2. Результаты тестирования образцов фукоиданов на предмет бактериальной контаминации в эндотоксиновом тесте

Образец	Разведение				
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Положительный контроль: LRW + LAL + CSE (1 ЭЕ/мл)	+	+	+	—	—
Отрицательный контроль: LRW + LAL	—	—	—	—	—
Раствор препарата фукоидана (10 мг/мл) + LAL:					
N	—	—	—	—	—
deS	—	—	—	—	—
deA	—	—	—	—	—
deAdeS	—	—	—	—	—

Примечание. + (–): наличие (отсутствие) гелеобразования.

Таблица 3. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокинов (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*

Цитокин	ctrl а	N б	deS в	deA г	deAdeS д
IL-6	38,8 (13,6; 105,9)	797,5 (457,9; 1044,1) а р<0,0001	366,2 (135,4; 468,1) а р<0,0001 б р=0,0152	834,5 (503,7; 1104,3) а р<0,0001 в р=0,0035	203,0 (81,5; 331,6) а р=0,0022 б р=0,0002 г р<0,0001
TNF-α	14,1 (10,6; 19,1)	42,2 (35,8; 72,1) а р<0,0001	21,1 (14,8; 30,2) б р=0,0069	37,6 (30,5; 50,6) а р=0,0002 в р=0,0385	16,2 (12,7; 26,3) б р=0,0007 г р=0,0030
IL-10	4,4 (4,0; 7,1)	6,7 (5,2; 8,5)	5,0 (4,2; 8,4)	5,7 (4,5; 8,2)	4,7 (4,3; 6,8)
IFN-γ	18,3 (17,6; 63,6)	21,8 (20,0; 46,9)	22,6 (20,4; 63,2)	23,4 (19,2; 62,7)	24,0 (17,8; 66,3)
IL-8	82,3 (53,8; 128,5)	293,8 (172,2; 480,0) а р<0,0001	569,3 (416,8; 654,4) а р<0,0001 б р=0,0087	329,7 (207,8; 628,3) а р<0,0001	241,4 (195,0; 430,1) а р=0,0001 в р=0,0014

Примечание. Указаны статистически значимые различия в попарных сравнениях между контрольной группой (а) и группой нативного (б), deS (в), deA (г), deAdeS (д) препаратов фукоидана.

Доноры. Образцы периферической крови (≈9 мл) были получены от клинически здоровых доноров-добровольцев (обоих полов, 26–49 лет) после получения подписанного информированного согласия.

Культивирование КПКЧ. Клетки гепаринизированной нефракционированной периферической крови человека (КПКЧ) инкубировали без или с добавлением нативного фукоидана или его модифицированных аналогов в конечной концентрации 100 мкг/мл в культуральной среде (RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 0,01 М HEPES, 200 мМ L-глутамин, 50 мМ β-меркаптоэтанол, 100 мкг/мл гентамицина) в течение 24 ч при 37 °C во влажной атмосфере 5% CO₂ и 95% O₂ (CO₂-инкубатор, Sanyo).

Иммуноферментный анализ. Концентрации TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-8, IL-10 в супернатантах культивированных КПКЧ определяли с помощью иммуноферментного анализа в дубликатах, используя коммерческие ИФА-наборы «Тест системы иммуноферментные для определения уровней цитокинов человека» (ООО «Цитокин», кат. № 010, 012, 006, 007, 008), согласно рекомендациям производителя. Оптические плотности регистрировали при λ=450 нм на фотометре Multiscan RC и анализировали в ПО Transmitt 1.4 (LabSystems). Пределы диагностической чувствительности составляли 1 пг/мл для TNF-α, 20 — для IFN-γ, 5 — для IL-6 и IL-10, 9,75 — для IL-8.

Статистический анализ. Для сравнения экспериментальных групп по непрерывным количественным зависимым переменным величинам с распределениями частот, отличными от нормального, применяли обобщенные

смешанные линейные модели. Для апостериорных множественных попарных сравнений использовали критерий Тьюки–Крамера. Во всех случаях использовали двусторонние статистические критерии, уровни значимости α для которых принимали равными 0,05. Расчёты выполняли в программном обеспечении SAS® University Edition 2.8 9.4 M6 (модуль SAS/STAT 15.1) с помощью процедуры PROC GLIMMIX с указанием: (1) типа ковариационно-вариационной матрицы

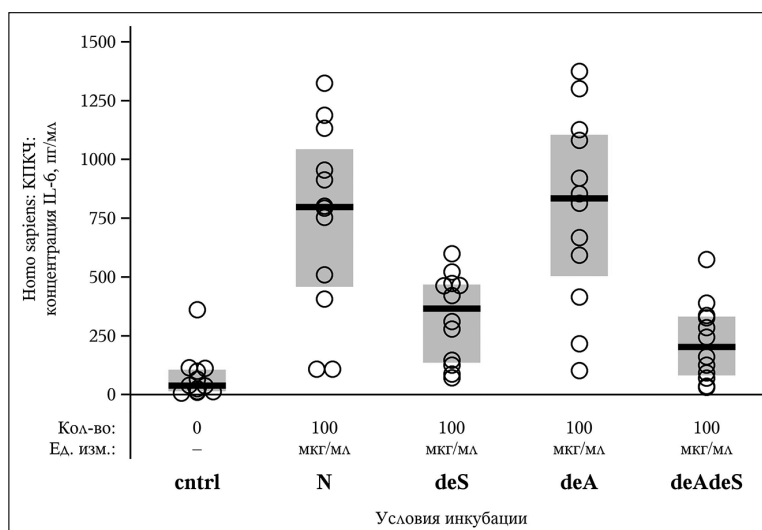


Рис. 1. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокина IL-6 (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

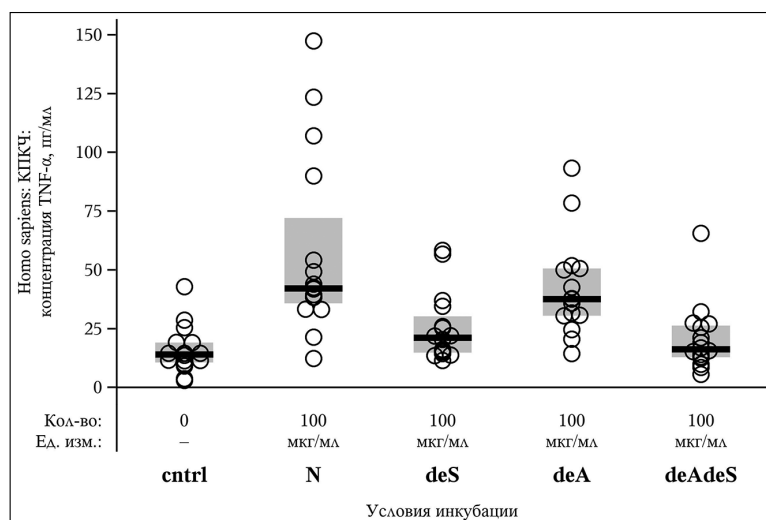


Рис. 2. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию цитокина TNF- α (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

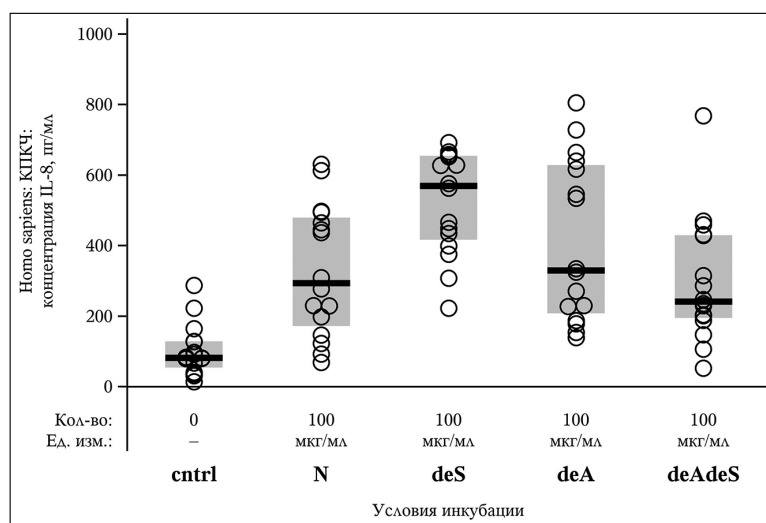


Рис. 3. Влияние нативного фукоидана из *F. evanescens* и его частично десульфатированных и дезацетилированных производных на продукцию хемокина IL-8 (Ме (Q1; Q3) пг/мл) КПКЧ *in vitro*.

CSH, учитывающей константную корреляцию остатков значений повторных измерений изучаемого признака и гетерогенность межгрупповых дисперсий, выбор которой делали на основе минимальных значений информационных критериев (Акаике, Шварца и др.), реализованных в процедуре PROC MIXED [17], (2) логарифмически нормального типа распределения остатков значений изучаемого признака (концентрации аналита), принимая во внимание значение статистики $\chi^2_{\text{обобщ.}}/v$ для каждого варианта модели, и использования поправки Кенварда–Рогера [18] для расчёта корректных F -критериев. Графические построения были выполнены с помощью процедуры PROC SGPLOT. На рисунках данные представлены в виде индивидуальных значений (○) и описательных статистик: медиан (—) и межквартильных интервалов (□). Объём выборок в экспериментальных группах составлял 12–16 наблюдений. В табл. 1 данные представлены в виде $M \pm m$.

Результаты исследования

IL-6. Анализ полученных экспериментальных данных выявил статистически значимое ($F(4; 25,1) = 24,40$; $p < 0,0001$) увеличение концентрации IL-6 в супернатантах КПКЧ при инкубировании с нативным фукоиданом, а также с его производными по сравнению с уровнем спонтанной продукции этого цитокина (табл. 3, рис. 1). Медианные значения концентраций IL-6 в культуре КПКЧ при их стимуляции десульфатированными фукоиданами составляли $\approx 45\%$ (366,2 (135,4; 468,1) пг/мл) для deS и $\approx 25\%$ (203,0 (81,5; 331,6) пг/мл) для deAdeS по отношению к концентрациям этого интерлейкина в супернатантах клеток, инкубированных с нативным или deA полисахаридом. Различия в действии deS и deAdeS полисахаридов на продукцию IL-6 в сравнении с контрольной группой оказались статистически незначимыми.

TNF- α . Инкубация КПКЧ с нативным (42,2 (35,8; 72,1) пг/мл) либо с deA (37,6 (30,5; 50,6) пг/мл) фукоиданами статистически значимо ($F(4; 30,5) = 11,39$; $p < 0,0001$) увеличивала концентрацию TNF- α по сравнению с контрольными значениями (14,1 (10,6; 19,1) пг/мл) (табл. 3, рис. 2). При внесении в среду культивирования частично десульфатированных препаратов фукоиданов концентрация цитокина статистически значимо не отличалась от контрольных значений.

IL-10, IFN- γ . Продукция IL-10 ($F(4; 34,7) = 1,51$; $p = 0,2213$) и IFN- γ ($F(4; 42,8) = 1,12$; $p = 0,3590$) КПКЧ после суточной инкубации ни с нативным фукоиданом, ни с его химическими модифицированными дериватами статистически значимо не отличалась от значений показателя концентрации в контроле (табл. 3).

IL-8. Концентрация хемокина IL-8 в супернатантах КПКЧ после 24 ч инкубации со всеми исследуемыми препаратами фукоиданов статистически значимо увеличивалась ($F(4; 30,8) = 22,64$; $p < 0,0001$) (табл. 3, рис. 3), максимальные медианные значения концентрации IL-8 были достигнуты в группе deS препарата.

Обсуждение

Фукоиданы представляют собой класс природных биогликанов с многообещающими свойствами терапевтического спектра. Однако, несмотря на успехи в области изучения этих нетоксичных [19–21] полисахаридов, известные из ли-

тературы примеры их оппозитных биологических свойств (фибринолитических [22] и проагрегантных [23], про- и антиангиогенных [24], про- [25] и антиоксидантных [26], про- [27] и противовоспалительных [28]), а также сведения о противоречивом действии этих полисахаридов на функцию почек [29, 30] показывают, что изучение биологической активности фукоиданов должно рассматриваться в контексте архитектуры молекулы

Однако химические структуры фукоиданов трудны в расшифровке. За исключением одного известного авторам примера [31] для этого класса полисахаридов характерно общее правило: бурые водоросли синтезируют фукоиданы со сложной структурой в отличие от сульфатированных фукоиданов морских беспозвоночных, структуры которых имеют повторяющиеся регулярные фрагменты [32]. Известно, что молекулярная структура фукоиданов крайне сложна за счёт различного соотношения фукозы и минорных компонентов (галактозы, глюкозы, маннозы, ксилозы, рамнозы, уроновых кислот), соединённых $\alpha(1\rightarrow3)$ - или $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, присутствием сайтов ацетилирования и сульфатирования, разбросанных по остову полисахарида, наличием линейных и разветвлённых участков, а также большими мол. м. [33–35]. В свою очередь, перечисленные структурные характеристики являются результатом влияния различных факторов: вид водоросли-продуцента, глубина и ареал её произрастания [36, 37], стадия онтогенеза [38]. Таковы естественные причины структурного разнообразия фукоиданов. С другой стороны, биотехнологические этапы (методика экстракции [39] и очистки [40]) приводят к тому, что получаемые препараты не в полной мере отражают уникальность молекулярной структуры нативного полисахарида и в известной степени обладают химическим составом, характерным для процесса экстракции. Все вышеперечисленные причины делают процесс стандартизации экстракции фукоиданов сложной задачей [41].

Функциональная активность фукоиданов тестируется на самых разнообразных экспериментальных системах. Особый интерес представляют исследования, посвящённые изучению влияния структурных особенностей молекул фукоиданов на иммунную систему, из которых можно сделать вывод, что хотя не все фукоиданы обладают одинаковой амплитудой активности [42], они проявляют плейотропные эффекты: ингибируют компоненты комплемента [43], диapedез лейкоцитов [44], стимулируют созревание дендритных клеток [45], активность натуральных киллеров [46]. Известно, что фукоиданы проявляют иммуномодулирующие свойства [47]. Например, фукоидан из *F. evanescens* может снижать повышенные уровни TNF- α , IL-1 и IL-6 [48].

В данном исследовании мы попытались проследить изменения в цитокин-индуцирующей активности фукоидана из *F. evanescens* в зависимости от структурных характеристик его молекулы, изучая активность нативного полисахарида и его модифицированных производных. В наших экспериментах было выявлено увеличение концентраций TNF- α и IL-6 в суточных культурах КПКЧ под действием препарата нативного фукоидана (см. табл. 3, рис. 1, 2). Ранее мы показали, что в культурах дендритных и макрофагальных клеток, культивируемых из костномозговых предшественников мышей, этот полисахарид повышал концентрацию провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α [49]. Полученные результаты согласуются с работой J. O. Jin и соавт., которые обнаружили, что в присутствии фукоидана из *Undaria pinnatifida* нейтрофилы человека усиливали продукцию провоспалительных цитокинов, TNF- α и IL-6 [27]. Подобные результаты были получены и в отношении фукоидана из *F. vesiculosus* [50], который повышал продукцию TNF- α , IL-6 и IL-12 CD8 α^+ дендритными клетками селезёнки мышей. В исследовании [51] показано, что фукоидан (в отличие от маннана и ксилотрипозана) из *Ascophyllum nodosum* увеличивал продукцию TNF- α , IL-6 и IL-1 β в культуре КПКЧ спустя сутки инкубации, что также согласуется с нашими результатами. В работе [52] было продемонстрировано, что экстракт с повышенным содержанием фукоиданов из *Sargassum wightii*, использованный в качестве кормовой добавки, повышал резистентность *Pangasianodon hypophthalmus* к *Aeromonas hydrophila*, что сопровождалось повышением числа лейкоцитов, фагоцитарной активности и экспрессии гена IFN- γ . В нашем исследовании изменение продукции IFN- γ в культуре КПКЧ обнаружено не было.

Повышение продукции хемокина IL-8 в присутствии препарата нативного фукоидана в культуре КПКЧ в наших экспериментах (табл. 3, рис. 3) также характеризует этот полисахарид как провоспалительный агент. Аналогичный эффект на уровень IL-8 был выявлен и для фукоидана из *A. nodosum* [51] и *U. pinnatifida* [27].

С другой стороны, в литературе имеются сведения об обратном, ингибирующем, действии фукоиданов на цитокиновую сеть. Например, авторы работы [53] выявили супрессорную активность фукоидана из *F. vesiculosus* в отношении TNF- α , IL-1 β , и MCP-1 в культуре клеток микроглии BV2, стимулированных LPS. В исследовании [54] сообщается, что препарат фукоидана из этой водоросли ингибировал повышение уровня провоспалительных TNF- α и IFN- β , инициированное конканавалином А, и увеличивал концентрацию противовоспалительного IL-10 в плазме крови мышей. В наших экспериментах измене-

ния продукции IL-10 в культуре КПКЧ обнаружено не было (см. табл. 3).

Мы полагаем, что сведения о разнонаправленной иммуномодулирующей активности препаратов фукоиданов могут быть объяснены различными качественными и количественными характеристиками препаратов полисахаридов, выделенных из разных биологических видов, различными методиками экстракции и очистки, а также особенностями применяемых экспериментальных систем.

Для установления структурно-функциональных ассоциаций фукоиданов в настоящее время ведётся активное изучение влияния структурных элементов молекулы на биологические активности фукоиданов — мол. м., минорных компонентов углеводной цепи, гликозидных связей [55], степени сульфатирования и ацетилирования [49], а также искусственно привнесённых [56, 57] функциональных групп. Понимание роли структурных элементов молекул фукоиданов поможет диссоциировать терапевтические эффекты от потенциальных побочных или снизить их выраженность. Например, манипулируя содержанием сульфогрупп в полисахаридных цепях фукоиданов можно избавиться от антикоагулянтного эффекта, но сохранить цитостатический, что было показано в отношении фукоидана из *A.nodosum* [58].

Роль сульфатных групп в биологической активности фукоиданов изучается давно. Например, известно, что степень сульфатирования молекул фукоиданов имеет большое значение для проявления антипаразитарных [59], ангиотропных [60], антипролиферативных [61] и противоопухолевых [62] свойств. С другой стороны, опираясь на заключение авторов работы [63] можно сделать вывод о том, что сульфогруппы необходимы, но недостаточны, для проявления антикомплементарной активности фукоиданов. По мнению С. Boisson-Vidal и соавт. [64] именно регулярность расположения сульфатных групп в молекуле фукоидана из *A.nodosum* ответственна за антитромботическую активность этого полисахарида. Аналогичные свидетельства о влиянии не суммарного отрицательного заряда, а распределения сайтов сульфатирования вдоль молекулярного остова были найдены и для других сульфатированных полисахаридов [65]. В то же время установить роль сульфогрупп порой и вовсе не удаётся. Так, в работе [66] авторы не нашли связи между антикоагулянтной активностью фукоиданов из *Laminaria saccharina* и *F.distichus* и содержанием сульфатов.

В настоящей работе мы обнаружили, что способность к продукции TNF- α и IL-6 в супернатантах КПКЧ зависела от содержания сульфатов в модифицированных фукоиданах — частично десульфатированные препараты (deS и deAdeS)

обладали сниженной стимулирующей активностью или не имели её вовсе (см. табл. 3, рис. 1, 2). В то же время профиль концентраций IL-8 (см. табл. 3, рис. 3) отличался от TNF- α и IL-6 — производные полисахариды со сниженной степенью сульфатирования повышали уровень хемокина, причём deS препарат оказался самым активным. Мы полагаем, что в силу нарушения комплексообразования фукоидана с IL-8 [67] в связи с частичным десульфатированием и, как следствие, снижением суммарного отрицательного заряда deS возрастает чувствительность аналитической системы, что, в свою очередь, определяет разницу в детекции концентрации аналита между экспериментальными группами. В случае с deAdeS препаратом, возможно, снижение комплексообразующей активности полисахарида нивелировалось конформационными изменениями молекулы. Не исключено различное влияние исследованных полисахаридов на продукцию хемокина на уровне мРНК: ингибирующее влияние на продукцию мРНК был обнаружено у фукоидана из *L.japonica* [68], а также у фукоидана из *Costaria costata* и в отношении матриксной металлопротеиназы 1 и её мРНК [69]. Динамика продукции хемокина также может быть отражением особенностей кинетики его секреции. Например, в работе [70] было показано, что спонтанная секреция IL-8 мононуклеарными клетками периферической крови человека в контрольной группе уже спустя 4 ч инкубации достигала концентраций в супернатанте клеток, стимулированных LPS.

Изучению роли других функциональных групп на биоактивность фукоиданов в доступной авторам литературе отводится скромное место [35]. Например, J. Wang и соавт. [56] показали, что дополнительно ацетилированный препарат фукоидана из *L.japonica* проявляет высокую антиоксидантную активность в отношении гидроксильных и дифенил-пикрилгидразильных радикалов. Наоборот, дезацетилирование фукоидана из *Cladosiphon okamuranus* приводило к $\approx 50\%$ снижению продукции NO в культуре макрофагов линии RAW 264.7 [57]. В наших экспериментах удаление ацетильных групп не оказало действия на продукцию исследованных цитокинов КПКЧ *in vitro* — действие дезацетилированных производных не отличалось от полисахарида с нативной структурой (см. табл. 3).

Таким образом, результаты проведённых экспериментов свидетельствуют, во-первых, о преимущественном провоспалительном действии нативного фукоидана из *F.evanescentis*, во-вторых, о важной роли сульфатных, но не ацетильных групп в молекуле полисахарида в проявлении иммуностимулирующей активности. В этой связи предполагается, что ацетильные остатки, обладающие гидрофобными свойствами,

могут быть удалены для повышения растворимости и снижения мол. м. или могут служить сайтами для присоединения других функциональных групп. Ярким примером подобной модификации полисахаридов является хитозан, который в отличие от своего гомолога хитина, из-за отсутствия ацетильных групп обладает хорошей растворимостью в водных растворах [71].

ЛИТЕРАТУРА

- Berteau O., Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 2003; 13: 6: 29R–40R.
- Morya V.K., Kim J., Kim E.-K. Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93: 1: 71–82.
- Besednova N.N., Zaporozhets T.S., Somova L.M., Kuznetsova T.A. Review: prospects for the use of extracts and polysaccharides from marine algae to prevent and treat the diseases caused by *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2015; 20: 2: 89–97.
- Беседнова Н.Н., Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Звягинцева Т.Н. Морские бурые водоросли — источник новых фармацевтических субстанций антибактериальной направленности. Антибиотики и химиотер. — 2015. — Т. 60. — № 3–4. — С. 31–41. / Besednova N.N., Kuznetsova T.A., Zaporozhets T.S., Zvyaginceva T.N. Morskie burye vodorosli — istochnik novykh farmacevticheskikh substancij antibakterial'noj napravlenosti. Antibiotiki i Khimioter 2015; 60: 3–4: 31–41. [in Russian]
- Sagawa T.I.H., Kato I. Fucoidan as functional foodstuff. Structure and biological potency. *Japan J Phycol (Sorui)* 2003; 51: 19–25.
- Sezer A.D., Akbuğa J. Fucosphere — new microsphere carriers for peptide and protein delivery: preparation and *in vitro* characterization. *J Microencaps* 2006; 23: 5: 513–522.
- Manivasagan P., Hoang G., Santha Moorthy M., Mondal S., Minh Doan V.H., Kim H. et al. Chitosan/fucoidan multilayer coating of gold nanorods as highly efficient near-infrared photothermal agents for cancer therapy. *Carbohydr Polym* 2019; 211: 360–369.
- Millet J., Jouault S.C., Mauray S., Theveniaux J., Sternberg C., Vidal C.B. et al. Antithrombotic and anticoagulant activities of a low molecular weight fucoidan by the subcutaneous route. *Thromb Haemost* 1999; 81: 3: 391–395.
- Irhimeh M.R., Fitton J.H., Lowenthal R.M. Pilot clinical study to evaluate the anticoagulant activity of fucoidan. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009; 20: 7: 607–610.
- Tokita Y., Nakajima K., Mochida H., Iha M., Nagamine T. Development of a fucoidan-specific antibody and measurement of fucoidan in serum and urine by sandwich ELISA. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74: 2: 350–357.
- Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Popivnich I.B., Isakov V.V., Scobun A.S., Sundukova E.V. et al. A new procedure for the separation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds. *Carbohydr Res* 1999; 322: 1–2: 32–39.
- Chizhov A.O., Dell A., Morris H.R., Haslam S.M., McDowell R.A., Shashkov A.S. et al. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydr Res* 1999; 320: 1–2: 108–119.
- Usov A.I. Structural analysis of red seaweed galactans of agar and carrageenan groups. *Food Hydrocoll* 1998; 12: 301–308.
- Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Malyarenko O.S., Zaporozhets T.S. et al. Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: structure and biological activity. *Frontiers in Marine Science* 2016; 3: 129: 1–9.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 1956; 28: 3: 350–356.
- Dodgson K.S. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymatic and non-enzymatic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. *Biochem J* 1961; 78: 2: 312–319.
- Kincaid C. Guidelines for Selecting the Covariance Structure in Mixed Model Analysis. В кн.: Proceedings of the 30th annual SAS Users Group conference; 10–13.04.2005; Philadelphia, Pennsylvania. C. 1–8.
- Littell R.C., Milliken G.A., Stroup W.W., Wolfinger R.D., Schabenberger O. SAS® for Mixed Models. 2nd — Cary, NC: SAS Institute Inc., 2006.
- Citkowska A., Szekalska M., Winnicka K. Possibilities of fucoidan utilization in the development of pharmaceutical dosage forms. *Mar Drugs* 2019; 17: 8: 458.
- Hwang P.-A., Yan M.-D., Lin H.-T.V., Li K.-L., Lin Y.-C. Toxicological Evaluation of Low Molecular Weight Fucoidan *in vitro* and *in vivo*. *Mar Drugs* 2016; 14: 7: 121.
- Обобщение эмпирического опыта исследования связи биологических свойств фукоидана с элементами структуры способствует лучшему пониманию механизмов, лежащих в основе его действия и создаёт предпосылки для разработки активной фармацевтической субстанции и/или лекарственного препарата, приемлемых для использования по целевому назначению.
- Bittkau K.S., Dörschmann P., Blümel M., Tasdemir D., Roeder J., Klettner A. et al. Comparison of the effects of fucoidans on the cell viability of tumor and non-tumor cell lines. *Mar Drugs* 2019; 17: 8: 441.
- Soeda S., Sakaguchi S., Shimeno H., Nagamatsu A. Fibrinolytic and Anticoagulant Activities of Highly Sulfated Fucoidan. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 8: 1853–1858.
- Dürig J., Bruhn T., Zurborn K.-H., Gutensohn K., Bruhn H.D., Béress L. Anticoagulant fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus* induce platelet activation *in vitro*. *Thromb Res* 1997; 85: 6: 479–491.
- Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Ushakova N.A., Usov A.I., Kiselevskiy M.V., Nifantiev N.E. Fucoidans: pro- or antiangiogenic agents? *Glycobiology* 2014; 24: 12: 1265–1274.
- Do H., Kang N.-S., Pyo S., Billiar T.R., Sohn E.-H. Differential regulation by fucoidan of IFN- γ -induced NO production in glial cells and macrophages. *J Cell Biochem* 2010; 111: 5: 1337–1345.
- Omar H.E.-D.M., Saad Eldien H.M., Badary M.S., Al-Khatib B.Y., AbdElgaffar S.K. The immunomodulating and antioxidant activity of fucoidan on the splenic tissue of rats treated with cyclosporine A. *The Journal of Basic & Applied Zoology* 2013; 66: 5: 243–254.
- Jin J.O., Yu Q. Fucoidan delays apoptosis and induces pro-inflammatory cytokine production in human neutrophils. *Int J Biol Macromol* 2015; 73: 65–71.
- Lean Q.Y., Eri R.D., Fitton J.H., Patel R.P., Gueven N. Fucoidan extracts ameliorate acute colitis. *PLoS One* 2015; 10: 6: e0128453.
- Goor Y., Goor O., Wollman Y., Chernichovski T., Schwartz D., Cabili S. et al. Fucoidin, an inhibitor of leukocyte adhesion, exacerbates acute ischemic renal failure and stimulates nitric oxide synthesis. *Scand J Urol Nephrol* 2006; 40: 57–62.
- Zhang Q., Li N., Zhao T., Qi H., Xu Z., Li Z. Fucoidan inhibits the development of proteinuria in active Heymann nephritis. *Phytother Res* 2005; 19: 1: 50–53.
- Bilan M.I., Grachev A.A., Ustyuzhanina N.E., Shashkov A.S., Nifantiev N.E., Usov A.I. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L. *Carbohydr Res* 2004; 339: 3: 511–517.
- Pomin V.H., Mourão P.A. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans. *Glycobiology* 2008; 18: 12: 1016–1027.
- Van Weelden G., Bobiński M., Okla K., Van Weelden W.J., Romano A., Pijnenborg J.M.A. Fucoidan structure and activity in relation to anticancer mechanisms. *Mar Drugs* 2019; 17: 1: 32.
- Ale M.T., Meyer A.S. Fucoidans from brown seaweeds: an update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC Advances* 2013; 3: 22: 8131–8141.
- Хильченко С.Р., Запорожец Т.С., Звягинцева Т.Н., Шевченко Н.М., Беседнова Н.Н. Фукоиданы бурых водорослей: влияние элементов молекулярной архитектуры на функциональную активность. Антибиотики и химиотер. — 2018. — Т. 63. — № 9–10. — С. 69–79. / Hil'chenko, S.R., Zaporozhets, T.S., Zvyaginceva, T.N., Shevchenko, N.M., Besednova, N.N. Fukoidany buryh vodoroslej: vliyanie jelementov molekulyarnoj arhitektury na funktsional'nuju aktivnost'. Antibiotiki i Khimioter 2018; 63: 9–10: 69–79. [in Russian]
- Preepreme S., Hayashi K., Lee J.B., Sankawa U., Hayashi T. A novel antivirally active fucan sulfate derived from an edible brown alga, *Sargassum horneri*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2001; 49: 4: 484–485.
- Black W.A.P. The seasonal variation in the combined L-fucose content of the common British *Laminariaceae* and *Fucaceae*. *J Sci Food Agric* 1954; 5: 9: 445–448.
- Skriptsova A., Shevchenko N., Zvyagintseva T., Imbs T. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta). *J Appl Phycol* 2010; 22: 1: 79–86.
- Yang C., Chung D., Shin I.-S., Lee H., Kim J., Lee Y. et al. Effects of molecular weight and hydrolysis conditions on anticancer activity of fucoidans from sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *Int J Biol Macromol* 2008; 43: 5: 433–437.
- Nishino T., Nishioka C., Ura H., Nagumo T. Isolation and partial characterization of a novel amino sugar-containing fucan sulfate from commercial *Fucus vesiculosus* fucoidan. *Carbohydr Res* 1994; 255: 213–224.
- Zayed A., Ulber R. Fucoidan production: approval key challenges and opportunities. *Carbohydr Polym* 2019; 211: 289–297.

42. Zhang W., Oda T., Yu Q., Jin J.O. Fucoidan from *Macrocystis pyrifera* has powerful immune-modulatory effects compared to three other fucoidans. *Mar Drugs* 2015; 13: 3: 1084–1104.
43. Tissot B., Montdargenta B., Chevolut L., Varenne A., Descroix S., Gareil P. et al. Interaction of fucoidan with the proteins of the complement classical pathway. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1651: 5–16.
44. Zhang X.W., Liu Q., Thorlacius H. Inhibition of selectin function and leukocyte rolling protects against dextran sodium sulfate-induced murine colitis. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 3: 270–275.
45. Макаренко И.Д., Ермакова С.П., Ахматова Н.К., Имбс Т.И., Семенова И.Б., Хотимченко М.Ю. и соавт. Фукоидан из бурой водоросли *Fucus evanescens*: иммунофенотипические и морфологические изменения дендритных клеток-эффекторов врожденного иммунитета. *Тихоокеан мед жур.* — 2018. — № 4. — С. 75–78. / Makarenkova, I.D., Ermakova, S.P., Ahmatova, N.K., Imbs T.I., Semenova I.B., Hotimchenko M.Ju. i soavt. Fucoidan iz buroj vodorosli *Fucus evanescens*: immunofenotipicheskie i morfologicheskie izmeneniya dendritnyh kletok-jeffektorov vrozhdennogo immuniteta. *Tihookean med zhur* 2018; 4: 75–78. [in Russian]
46. Miyazaki Y., Nakamizo M., Tsuji H., Kirino T., Saito Y., Kawahara K. et al. Enhancement of NK cell activity and Th1 immunity in healthy subjects by orally administered fucoidan mix. *The Journal of Immunology* 2012; 188: 1 Supplement: 162.35–35.
47. Kuznetsova T.A. Fucoidan extracted from *fucus evanescens* brown algae corrects immunity and hemostasis disorders in experimental endotoxemia. *Bull Exp Biol Med* 2009; 147: 1: 66–69.
48. Choi E.M., Kim A.J., Kim Y.O., Hwang J.K. Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan *in vitro*. *J Med Food* 2005; 8: 4: 446–453.
49. Khil'chenko S.R., Zaporozhets T.S., Shevchenko N.M., Zvyagintseva T.N., Vogel U., Seeburger P. et al. Immunostimulatory activity of fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens*: role of sulfates and acetates. *J Carbohydr Chem* 2011; 30: 4–6: 291–305.
50. Jin J.-O., Zhang W., Du J.-Y., Wong K.-W., Oda T., Yu Q. Fucoidan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses. *PLoS One* 2014; 9: 6: e99396.
51. Gill S.K., Islam N., Shaw I., Ribeiro A., Bradley B., Brien T.O. et al. Immunomodulatory effects of natural polysaccharides assessed in human whole blood culture and THP-1 cells show greater sensitivity of whole blood culture. *Int Immunopharmacol* 2016; 36: 315–323.
52. Prabu D.L., Sahu N.P., Pal A.K., Dasgupta S., Narendra A. Immunomodulation and interferon gamma gene expression in sutchi cat fish, *Pangasianodon hypophthalmus*: effect of dietary fucoidan rich seaweed extract (FRSE) on pre and post challenge period. *Aquacult Res* 2016; 47: 1: 199–218.
53. Park H.Y., Han M.H., Park C., Jin C.-Y., Kim G.-Y., Choi I.-W. et al. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- κ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 8: 1745–1752.
54. Saito A., Yoneda M., Yokohama S., Okada M., Haneda M., Nakamura K. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. *Hepatology Research* 2006; 35: 3: 190–198.
55. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L. et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* 2007; 17: 5: 541–552.
56. Wang J., Liu L., Zhang Q., Zhang Z., Qi H., Li P. Synthesized oversulfated, acetylated and benzoylated derivatives of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity *in vitro*. *Food Chem* 2009; 114: 4: 1285–1290.
57. Teruya T., Tatemoto H., Konishi T., Tako M. Structural characteristics and *in vitro* macrophage activation of acetyl fucoidan from *Cladosiphon okamuranus*. *Glycoconj J* 2009; 26: 8: 1019–1028.
58. Haroun-Bouhedja F., Ellouali M., Sinquin C., Boisson-Vidal C. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. *Thromb Res* 2000; 100: 5: 453–459.
59. Maruyama H., Tanaka M., Hashimoto M., Inoue M., Sasahara T. The suppressive effect of *Mekabu fucoidan* on an attachment of *Cryptosporidium parvum* oocysts to the intestinal epithelial cells in neonatal mice. *Life Sci* 2007; 80: 8: 775–781.
60. Koyanagi S., Tanigawa N., Nakagawa H., Soeda S., Shimeno H. Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 2: 173–179.
61. Teruya T., Konishi T., Uechi S., Tamaki H., Tako M. Anti-proliferative activity of oversulfated fucoidan from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus* Tokida in U937 cells. *Int J Biol Macromol* 2007; 41: 3: 221–226.
62. Park J.-S., Kim A., Kim E.-H., Suh H.-S., WonChul C. Increased anticancer activity by the sulfated fucoidan from Korean brown seaweeds. *Journal of the Korean Chemical Society* 2002; 46: 2: 151–156.
63. Blondin C., Chaubet F., Nardella A., Sinquin C., Jozefonvicz J. Relationships between chemical characteristics and anticomplementary activity of fucans. *Biomaterials* 1996; 17: 6: 597–603.
64. Boisson-Vidal C., Chaubet F., Chevolut L., Sinquin C., Theveniaux J., Millet J. et al. Relationship between antithrombotic activities of fucans and their structure. *Drug Dev Res* 2000; 51: 4: 216–224.
65. Cao S., He X., Qin L., He M., Yang Y., Liu Z. et al. Anticoagulant and antithrombotic properties *in vitro* and *in vivo* of a novel sulfated polysaccharide from marine green alga *Monostroma nitidum*. *Mar Drugs* 2019; 17: 4.
66. Ushakova N., Morozovich G., Ustyuzhanina N., Bilan M., Usov A., Nifantiev N. et al. Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae. *Biochem (Mosc) Suppl Ser B Biomed Chem* 2008; 3: 1: 77–83.
67. Liewert I., Ehrig K., Alban S. Effects of fucoidans and heparin on reactions of neutrophils induced by IL-8 and C5a. *Carbohydr Polym* 2017; 165: 462–469.
68. Mizuno M., Nishitani Y., Hashimoto T. Different suppressive effects of fucoidan and lentinan on IL-8 mRNA expression in *in vitro* gut inflammation. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73: 10: 2324–2325.
69. Moon H.J., Park K.S., Ku M.J., Lee M.S., Jeong S.H., Imbs T.I. et al. Effect of *Costaria costata* Fucoidan on Expression of Matrix Metalloproteinase-1 Promoter, mRNA, and Protein. *J Nat Prod* 2009; 72: 10: 1731–1734.
70. Kumolosisi E., Salim E., Jantan I., Ahmad W. Kinetics of intracellular, extracellular and production of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 2014; 13: 4: 536–543.
71. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science* 2006; 31: 7: 603–632.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хильченко Станислав Русланович — научный сотрудник, Любекский институт экспериментальной дерматологии, Любек, Германия

Запорожец Татьяна Станиславовна — д. м. н., заместитель директора по научной работе, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова), Владивосток

Звягинцева Татьяна Николаевна — д. х. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), Владивосток

Шевченко Наталья Михайловна — к. х. н., старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), Владивосток

Беседнова Наталия Николаевна — д. м. н., академик РАН, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова), Владивосток

Синергидное действие катионного пептида хоминина и нового дезинфектанта на основе изохинолина на образование биоплёнок полирезистентных стафилококков

*Л. И. КОНОНОВА¹, И. А. ПЬЯНКОВ², А. А. СМОЛЯК³, Ю. В. ШКЛЯЕВ³, В. П. КОРОБОВ^{1,2}

¹ «Институт экологии и генетики микроорганизмов» — филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь

² Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь

³ «Институт технической химии» — филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь

Synergistic Effect of the Cationic Peptide Hominin and a New Disinfectant Based on Isoquinoline on Formation of Biofilms in Multidrug-Resistant Staphylococci

*L. I. KONONOVA¹, I. A. PYANKOV², A. A. SMOLYAK³, YU. V. SHKLYAEV³, V. P. KOROBOV^{1,2}

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm

² Perm National Research Polytechnic University, Perm

³ Institute of Technical Chemistry, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm

Растущая угроза распространения образующих биоплёнки госпитальных штаммов коагулазонегативных стафилококков, резистентных к антибиотикам, определяет необходимость экстренного поиска новых эффективных антибактериальных соединений, а также разработки методов совместного использования традиционных и альтернативных антибиотиков. В статье представлены результаты исследования совместного действия препарата «СА» — нового синтетического производного алкалоида изохинолина и низкомолекулярного катионного пептида семейства лантибиотиков хоминина, ингибирующего развитие биоплёнок бактерий клинического штамма *Staphylococcus haemolyticus* и его ванкомициноустойчивого варианта. Обнаружено, что комбинации этих соединений обладают синергидным эффектом, подавляющим формирование плёнок обоих исследованных штаммов стафилококков при сниженных концентрациях этих антибактериальных соединений.

Ключевые слова: стафилококки; адгезия; биоплёнки; дезинфектанты; изохинолин; хоминин; минимальная концентрация, ингибирующая развитие биоплёнок; синергизм.

The growing threat of proliferation of biofilm-forming hospital strains of coagulase-negative staphylococci resistant to antibiotics determines the need for an urgent search for new effective antibacterial compounds, as well as the development of methods for the combined use of traditional and alternative antibiotics. The article presents the results of a study of the combined effect of the drug «SA» — a new synthetic derivative of the alkaloid isoquinoline and a low-molecular-weight cationic peptide of the lantibiotic family hominin, which inhibits the development of bacterial biofilms of the clinical strain of *Staphylococcus haemolyticus* and its vancomycin-resistant isolates. It was found that combinations of these compounds have a synergistic effect that suppresses the formation of biofilms of both studied strains of staphylococci at reduced concentrations of these antibacterial compounds.

Keywords: staphylococci, adhesion, biofilms, disinfectants, isoquinoline, hominin, minimal biofilm inhibitory concentration, synergism.

Бактерии рода *Staphylococcus* — перманентные симбионты человека и животных, являются важными компонентами их кожных покровов и слизистых оболочек. Известно, что сапрофитные бактерии сравнительно редко вызывают развитие патогенных процессов [1]. Однако, ввиду достаточно высокой устойчивости условно-патогенных микроорганизмов к агрессивным факторам окружающей среды, в том числе и к антибактериальным препаратам, бактерии этой группы заслуживают особого внимания, что определяет необходимость постоянного сбора клиническими лабораториями информации о состоянии уровня антибиотикорезистентности в конкретных лечебных стационарах. Имеющиеся данные указывают на то, что коагула-

зонегативные стафилококки (КНС) являются одной из главных причин возникновения клинически значимых инфекций. Прежде всего, это связано с выраженной способностью микроорганизмов этих видов формировать биоплёнки [2]. Так, при изучении наличия КНС на объектах внутренней среды больничных стационаров (воздуха, пола, стен и медицинского оборудования) по количеству образующих биоплёнки штаммов лидируют бактерии видов *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus* [3], которые при попадании в организм пациентов с ослабленным иммунитетом могут вызывать их тотальное инфицирование с развитием выраженных болезненных состояний.

Известно, что бактерии в составе биоплёнок менее уязвимы к действию антибактериальных препаратов и факторов иммунной системы человека [4]. Устойчивость бактерий в биоплёнках к лекарственным факторам, возможно, связана с

© Коллектив авторов, 2020

Адрес для корреспонденции: 614081, Пермь, ул. Голева, 13. ПФИЦ УрО РАН

уменьшением свободной части их поверхностей за счёт формирования межклеточных контактов с образованием элементов единой генетической системы в виде плазмид и появлением персистеров — субпопуляций бактериальных клеток, которые, находясь в дормантном состоянии, характеризуются пониженной чувствительностью к воздействию различных стрессорных факторов, в том числе, антибиотиков. Внеклеточный матрикс плёнок, состоящий из синтезируемых клеточными элементами полимеров, по-видимому, также способен связывать или инактивировать используемые для терапии антибиотики. Таким образом, формирование биоплёнок обеспечивает бактериям физиологическую и функциональную стабильность и является основой конкурентного выживания их в оккупированной экологической нише [5].

Для предупреждения бактериальной колонизации медицинских учреждений проводится регулярная обработка их внутренних поверхностей различными дезинфицирующими и антисептическими средствами. В качестве новых дезинфектантов могут быть использованы неизвестные ранее производные природного алкалоида изохинолина [6–8]. Так, ранее нами было установлено подавление развития планктонных культур полирезистентных клинических изолятов стафилококков препаратом «СА» — ((2,3,5,6-Тетрагидрооксазоло[2,3-а] изохинолин-4-иум-2-ил) метил) ртуть (II) хлоридом (рис. 1) [9].

Исследованиями последних лет показано, что в качестве альтернативы традиционным антибиотикам в подавлении развития бактерий рода *Staphylococcus* могут быть использованы низкомолекулярные катионные пептиды семейства лантибиотиков варнерин [10] и хоминин [11]. В экспериментах *in vitro* была также выявлена антистафилококковая активность субингибиторных концентраций препарата «СА» при совместном использовании его с этими пептидами, а также с антибиотиками ванкомицином, даптомицином и хлорамфениколом [9]. В связи с тем, что многие широко используемые дезинфицирующие средства являются токсичными соединениями, комбинационный подход открывает реальные возможности снижения их негативного действия на макроорганизмы.

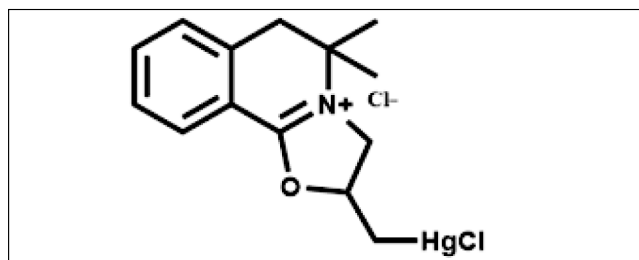


Рис. 1. Структура ((2,3,5,6-Тетрагидрооксазоло [2,3-а] изохинолин-4-иум-2-ил) метил) ртуть (II) хлорида.

Цель работы — изучение чувствительности адгезионных и биоплёнокообразующих способностей полирезистентных коагулазонегативных стафилококков к действию нового химического производного изохинолина — препарата «СА» в кооперации с низкомолекулярным катионным пептидом семейства лантибиотиков хоминином.

Материал и методы

В работе использованы бактериальные штаммы коагулазонегативных стафилококков: клинический изолят *S. haemolyticus* 18, а также полученный лабораторной селекцией его производный штамм *S. haemolyticus* 18₃₃, обладающий средним уровнем устойчивости к ванкомицину [9].

Для определения спектра антибактериальной активности препарата «СА» был использован достаточно широкий ряд грамположительных бактерий (*Staphylococcus epidermidis* GISK 33 и его ванкомициноустойчивый вариант *S. epidermidis* GISK 33 Van^r [12], *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* NCIBM 8884, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Mycobacterium smegmatis* GISK 607, *Mycobacterium avium* GISK 168) и штаммы грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* ATCC 25922 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603).

Бактерии культивировали в колбах на среде LB, содержащей (в г/л): триптон («Panreac», Испания) — 10, дрожжевой экстракт («Becton, Dickinson and Company», США) — 5, KCl («Вектон», Россия) — 6,4, pH 7,2, на орбитальном шейкере Certomat IS («Sartorius», Германия) при 150 об./мин и температуре 37°C. За динамикой развития бактериальных культур следили по изменению их оптической плотности при 600 нм, используя спектрофотометр PD-303 («APEL», Япония) и кюветы с длиной оптического пути 1 см.

Для характеристики чувствительности бактерий изучаемых штаммов к антибиотикам использовали метод диффузии с дисков («НИЦФ», Россия) по стандартной процедуре [13]. Минимальные ингибиторные концентрации (МИК) пептида и препарата «СА» для изучаемых штаммов определяли методом двукратных серийных разведений в бульоне [14]. Титрование проводили в 96-луночных полистироловых планшетах («Медполимер», Россия) с использованием питательной среды LB (без KCl). Инокулянты бактерий готовили из суточных агаровых культур, суспендируя их в питательном бульоне до оптической плотности ~0,2 (10⁸ КОЕ/мл) при 600 нм, и вносили в лунки планшетов до конечной концентрации 10⁵ КОЕ/мл. Культивирование проводили при 37°C в течение 24 ч. Минимальные концентрации тестируемых соединений, при которых в лунках отсутствовал рост бактерий, принимали как МИК.

Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) препарата «СА» выявляли методом Flash microbiocide [15].

Степень гидрофобности поверхностей бактериальных клеток определяли ВАТН-тестом в двухфазной системе с гексадеканом [16].

Для характеристики адгезионной активности бактерий изучаемых штаммов их клеточные суспензии, приготовленные из свежих агаровых культур и содержащие 10⁷ КОЕ/мл, вносили в объёме 2 мл в полистироловые чашки Петри (диаметр 40 мм, «Медполимер», Россия) и инкубировали без перемешивания в течение 30 мин при 37°C. После окончания инкубации планктонные клетки осторожно удаляли аспирацией, а адгезированные на донной поверхности чашек бактерии трижды осторожно промывали 10 мМ фосфатным буфером, pH 7,2, в течение 2 мин окрашивали генцианвиолетом (0,1%), отмывали от красителя деионизованной водой, высушивали на воздухе и определяли их численность на микровизоре μVizo-103 («Ломо», Россия), просматривая 10 полей зрения при увеличении ×1250. Влияние препарата «СА» на адгезию бактерий к полистиролу оценивали, внося суспензии клеток в чашки Петри после предварительного высушивания в них растворов препарата «СА» различной концентрации.

В качестве сред культивирования при изучении биоплёнок образующих способностей изучаемых штаммов использовали питательные среды LB и LB с добавлением 0,25% глюкозы, а также коммерческую среду TSB («Sigma-Aldrich», США), содержащую в своем составе глюкозу в той же концентрации. В качестве инокулятов служили 18 ч (ночные) жидкие бактериальные культуры после доведения концентрации клеток в них питательным бульоном до 10^6 КОЕ/мл. Формирование бактериальных плёнок проводили в 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетах («Медполимер», Россия) при 37°C в течение 48 ч в статических условиях. После окончания культивирования планктонные клетки удаляли аспирацией, лунки планшетов осторожно двукратно промывали 10 мМ фосфатным буфером, pH 7,2. Сформировавшиеся биоплёнки фиксировали этанолом (20 мин), а затем высушивали при 37°C в течение 1 ч, после чего окрашивали 0,1% генцианвиолетом в течение 30 мин при комнатной температуре. Избыток красителя отмывали проточной водой и биоплёнки высушивали при комнатной температуре. Сорбированный биоплёнками краситель экстрагировали этанолом и его количество определяли измерением оптической плотности полученных спиртовых экстрактов на микропланшетном спектрофотометре Benchmark Plus («Bio-Rad», США) при 570 нм.

Для определения минимальных концентраций хоминина и препарата «СА», ингибирующих формирование биоплёнок (БИК) штаммами *S.haemolyticus* 18 и *S.haemolyticus* 18₃₃, проводили титрование исследуемых соединений в среде LB без KCl с глюкозой до конечных концентраций хоминина в пределах 655,37–0,64, а препарата «СА» — 83,33–0,01 мкг/мл. Инокулирование, культивирование и оценку ингибирования плёнок образования проводили, как указано выше. За БИК принимали те минимальные концентрации хоминина и препарата «СА», при которых окрашивание генцианвиолетом было равным окрашиванию этим красителем лунок планшетов после инкубации в них стерильной питательной среды (отрицательный контроль).

Совместное действие препарата «СА» и хоминина на развитие биоплёнок бактерий исследуемых штаммов определяли с помощью метода «шахматной доски» [17], используя комбинации двукратных серийных разведений препарата «СА» с двукратными серийными разведениями хоминина. Диапазон концентраций каждого соединения в комбинациях соответствовал $< 1/32 - > 4 \times$ БИК.

Критериями оценки эффектов комбинаций «СА» и хоминина служили индекс фракционной ингибиторной концентрации для биоплёнки (ФБИК) и изоболографический анализ. Индекс ФБИК рассчитывали по формуле:

Индекс ФБИК = ФБИК А + ФБИК В, где ФБИК А = БИК А в комбинации / БИК А, ФБИК В = БИК В в комбинации / БИК В; А — препарат «СА», В — хоминин. Эффект комбинации считали синергидным при индексе ФБИК $\leq 0,5$ и антагонистическим при индексе ФБИК > 1 . Результаты экспериментов между проявлением синергизма и тенденцией к антагонизму определяли как индифферентные или нейтральные [18].

Для построения изоболограмм, согласно рекомендациям [19, 20], концентрации соединений в комбинациях, ингибирующих рост биоплёнок, были фиксированы и нанесены на график, оси которого представляют собой концентрации индивидуальных агентов ($\times$ БИК). По оси X — концентрация препарата «СА», по оси Y — концентрация хоминина. Прямая линия, соединяющая максимальные значения концентраций индивидуальных препаратов — это прямая аддитивности, означающая отсутствие взаимодействия, то есть эффект комбинаций равен сумме эффектов индивидуальных агентов. Таким образом, при расположении точек ниже прямой эффект свидетельствует о синергизме, а выше — об антагонистическом действии.

Способность сорбции препарата «СА» бактериальными клетками оценивали после внесения его в водные суспензии до конечной концентрации 33 мкг/мл. Использовали бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,2 (600 нм, спектрофотометр PD-303 («APEL», Япония) и кюветы с дли-

ной оптического пути 1 см). Суспензии бактерий готовили из свежих (18–24 ч) агаровых культур. Уровень содержания препарата «СА» в растворах после его взаимодействия с клетками в течение 0, 1, 2 и 24 ч устанавливали титрованием стерилизованных фильтрованием («Millipore», США, 0,45 мкм) супернатантов в LB с использованием в качестве тест-штамма *S.haemolyticus* 18. Инокуляцию планшетов, инкубацию и учёт результатов проводили, как описано выше для определения МИК «СА». Одновременно определяли количество живых клеток в суспензиях чашечным методом [21] и изменение оптической плотности суспензий бактерий по времени, инкубируя их в статических условиях при температуре 37°C. В качестве контролей служили бактериальные суспензии без внесения в них препарата «СА» и его стерильный водный раствор с концентрацией препарата 33 мкг/мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 («GraphPad Software Inc.», США) с использованием метода ANOVA. Данные представляли в виде $M \pm SD$ трёх независимых экспериментов. Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Изучение чувствительности к препарату «СА» ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий различных родов, результаты которого представлены в табл. 1, выявило практически одинаковые значения МИК, равные 1,3–2,6 мкг/мл для большинства исследованных штаммов. Менее чувствительными к действию препарата оказались микобактерии, по-видимому, вследствие уникальной архитектуры их клеточных стенок и *K.pneumonia*, благодаря наличию полисахаридной капсулы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат «СА» обладает выраженным бактерицидным действием в отношении всех использованных коллекционных штаммов, так как соотношение их МБК/МИК было < 4 [22].

Анализ чувствительности штаммов стафилококков *S.haemolyticus* 18 и *S.haemolyticus* 18₃₃ к антибактериальным соединениям, результаты которого представлены в табл. 2, показал, что бактерии обоих штаммов обладают устойчивостью к бета-лактамам антибиотикам, а также и к препаратам с иными механизмами антибактериального действия — аминогликозидам, макролидам и хинолонам. Полученный селекцией родительского штамма *S.haemolyticus* 18 его устойчивый к ванкомицину вариант *S.haemolyticus* 18₃₃, обладающий средним уровнем устойчивости к этому антибиотику, явля-

Таблица 1. Антибактериальная активность препарата «СА»

Штаммы	МИК «СА», мкг/мл
<i>S.epidermidis</i> GISK 33	1,3
<i>S.epidermidis</i> GISK 33 Van ^r	1,3
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1,3
<i>S.pyogenes</i> NCIBM 8884	2,6
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	2,6
<i>M.smegmatis</i> GISK 607	10,4
<i>M.avium</i> GISK 168	10,4
<i>E.coli</i> ATCC 25922	2,6
<i>K.pneumonia</i> ATCC 700603	41,6

Таблица 2. Чувствительность бактерий *S. haemolyticus* 18 и *S. haemolyticus* 18₃₃ к использованным в работе антибиотикам

Антибиотики	<i>S. haemolyticus</i> 18	<i>S. haemolyticus</i> 18 ₃₃
Бета-лактамы		
Бензилпенициллин	Устойчивые	Устойчивые
Цефазолин		
Оксациллин		
Аминогликозиды		
Гентамицин	Устойчивые	Устойчивые
Макролиды		
Эритромицин	Устойчивые	Устойчивые
Кларитромицин		
Хинолоны		
Ципрофлоксацин	Устойчивые	Устойчивые
Гликопептиды		
Ванкомицин	Чувствительные	Средний уровень устойчивости
Липопептиды		
Даптомицин	Чувствительные	Нечувствительные*

Примечание. * — категория чувствительности, используемая для изолятов с МИК даптомицина > 1 мкг/мл [23].

ющемся альтернативой для подавления возбудителей инфекций, устойчивых к бета-лактамам антибиотикам, становится также нечувствительным и к липопептидному антибиотику даптомицину и, как показали дополнительные исследования, менее чувствительным к пептидам семейства лантибиотиков варнерину и хоминину с более чем двукратным возрастанием значений их МИК [9].

Сравнение сорбционной активности бактерий использованных в работе штаммов стафилококков на гидрофобной поверхности полистирола представлено на рис. 2, из данных которого следует, что производный штамм *S. haemolyticus* 18₃₃ обладает пониженной адгезионной способностью, возможно, обусловленной изменением физико-химических характеристик клеточных оболочек бактерий в процессе их адаптации к ванкомицину. Как показало исследование состояния поверхностей бактериальных клеток при адгезии к углеводородам, родительский штамм *S. haemolyticus* 18 обладал большей гидрофобностью их поверхностей (75,3±0,9 %) по сравнению с бактериями производного штамма (63,6±2,9%) (см. рис. 7).

Обращает на себя внимание выраженное снижение адгезионной способности бактерий обоих штаммов к полистиролу под действием препарата «СА» (см. рис. 2). В присутствии на атакуемой поверхности даже незначительных количеств этого соединения (0,5 и 1 мкг) происходит существенное снижение сорбции бактериальных клеток, в среднем, на 50%.

Сравнительный анализ интенсивности образования биоплёнок бактериями изучаемых штаммов в зависимости от состава среды их культивирования представлен на рис. 3. Выявлено, что при культивировании в среде LB, бактерии производного штамма *S. haemolyticus* 18₃₃ образуют умерен-

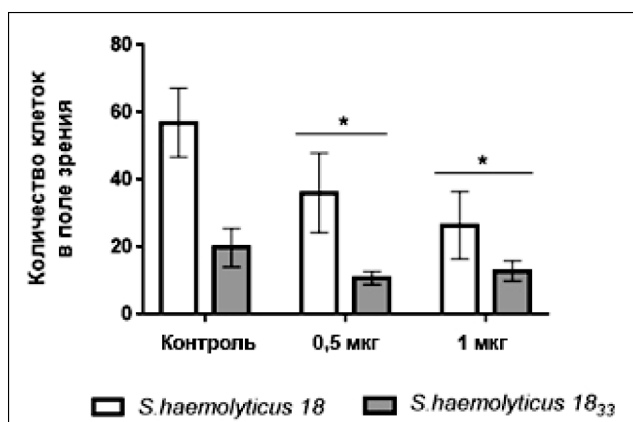


Рис. 2. Адгезия бактерий *S. haemolyticus* 18 и *S. haemolyticus* 18₃₃ к поверхности полистирола.

* — различия статистически значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$).

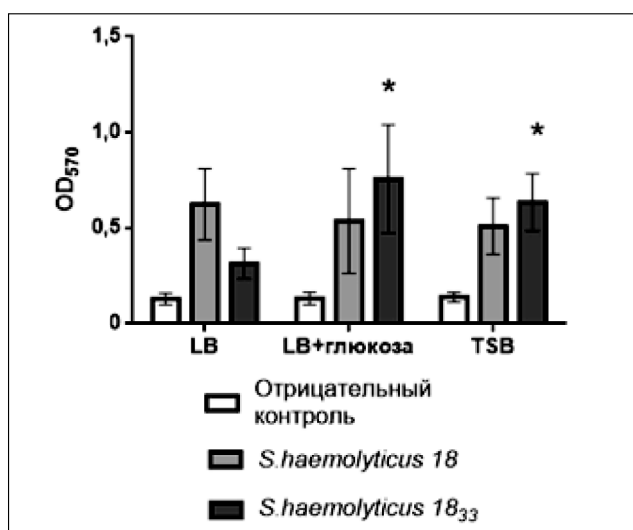


Рис. 3. Зависимость интенсивности образования биоплёнок бактериями *S. haemolyticus* 18 и *S. haemolyticus* 18₃₃ от состава питательных сред.

* — различия статистически значимы при сравнении с данными формирования их на LB ($p < 0,05$).

ные плёнки по сравнению с бактериями родительского штамма, формирующими биоплёночные структуры более интенсивно, а добавление в среду роста глюкозы значительно стимулировало процесс формирования плёнок производным штаммом. В связи с полученными данными, дальнейшее изучение антибактериального действия препарата «СА» и катионного пептида хоминина на образование плёнок проводилось с использованием среды LB с добавлением 0,25% глюкозы.

Результатами этих экспериментов обнаружено, что бактерии обоих штаммов как свободно живущие, так и в составе биоплёнок одинаково чувствительны к использованным в работе антибактериальным соединениям — хоминину и препарату «СА». Значения минимальных concentra-

Таблица 3. Чувствительность планктонных бактерий и в составе биоплёнок *S.haemolyticus* 18 и *S.haemolyticus* 18₃₃ к использованным антибактериальным соединениям

Штаммы	МИК, БИК (мкг/мл)	
	Хоминин	«СА»
<i>S.haemolyticus</i> 18	82	1,3
<i>S.haemolyticus</i> 18 ₃₃	328	1,3

ций этих препаратов, ингибирующих развитие планктонных клеток (МИК) и формирование биоплёнок (БИК), представлены в табл. 3.

Дальнейшее изучение совместного действия хоминина и препарата «СА» на формирование плёнок (в среде LB без KCl с добавлением 0,25% глюкозы) показало выраженное подавление плёнокообразования бактериями, как родительского, так и производного штаммов, субингибиторными концентрациями обоих соединений при их комбинациях (табл. 4), что особенно важно для снижения токсического действия на макроорганизм ранее неизвестных химических соединений, предлагаемых в качестве антисептиков и дезинфектантов.

Синергизм действия на процессы образования стафилококками биоплёнок использованных соединений, обнаруженный с помощью метода «шахматной доски», показан для обоих использованных в экспериментах штаммов стафилококков. Индексы ФБИК, равные 0,5, демонстрируют четырёхкратное снижение ингибирующих плёнокообразование концентраций хоминина и «СА» при их совместном использовании. Другие сочетания субингибиторных концентраций этих препаратов от 0,125× до 0,5×БИК дают нейтральный эффект, характеризующийся индексами ФБИК = 0,625. Однако при существующих иных интерпретациях результатов совместного действия антибактериальных соединений, полученных методом «шахматной доски» [20, 24], эти сочетания приводят к частичным синергидным или аддитивным эффектам.

Графическим представлением природы взаимодействия двух антибактериальных соединений на формирование плёнок стафилококков является изоболограммный анализ, интерпретация которого по результатам использования метода «шахматной доски» показана на рис. 4. Диагональная линия, соединяющая максимальные концентрации индивидуальных соединений является прямой аддитивности. Экспериментальные данные, отражающие собой различные эффекты доз хо-

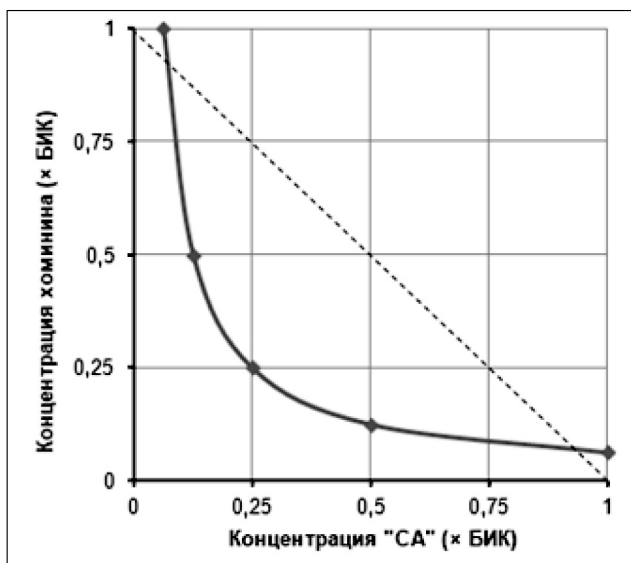


Рис. 4. Изоболограммный анализ совместного действия хоминина и «СА» на формирование плёнок *S.haemolyticus* 18 и *S.haemolyticus* 18₃₃.

минина и препарата «СА», располагающиеся ниже этой прямой, свидетельствуют о синергизме совместного действия этих соединений.

Следует отметить, что результаты изоболограммного анализа и установленных уровней индексов ФБИК не являются противоречивыми и свидетельствуют об их комплиментарности [25], так как изоболограммный анализ отражает степень взаимодействия как функцию соотношения концентраций соединений, при этом, чем дальше данные располагаются от линии аддитивности, тем больший эффект — максимальный синергизм или антагонизм. В то же время анализ индексов ФБИК позволяет математически оценить степень синергии в зависимости от дозы индивидуальных компонентов.

При изучении динамики связывания бактериями *S.haemolyticus* 18 и *S.haemolyticus* 18₃₃ препарата «СА» из его водных растворов (рис. 5) снижения оптической плотности суспензий в присутствии «СА» не обнаружено в течение 24 ч. В то же время было установлено практически мгновенное бактерицидное действие препарата «СА» на клетки обоих штаммов в использованной концентрации. Так, практически сразу после его внесения в бактериальные суспензии живые клетки в них не выявлялись.

При отсутствии лизиса бактериальных клеток в течение 24 ч как в контроле (без «СА»), так и в опы-

Таблица 4. Фракционные ингибиторные концентрации хоминина и препарата «СА» для биоплёнок, ФБИК и индексы ФБИК

Комбинация	ФБИК, мкг/мл			Индекс ФБИК
	<i>S.haemolyticus</i> 18	<i>S.haemolyticus</i> 18 ₃₃	× БИК	
Хоминин + «СА»	82/82+0,081/1,3	328/328+0,081/1,3	1+0,062	1,062
	41/82+0,163/1,3	164/328+0,163/1,3	0,5+0,125	0,625
	20,5/82+0,325/1,3	82/328+0,325/1,3	0,25+0,25	0,5
	10,25/82+0,65/1,3	41/328+0,65/1,3	0,125+0,5	0,625
	5,13/82+1,3/1,3	20,5/328+1,3/1,3	0,062+1	1,062

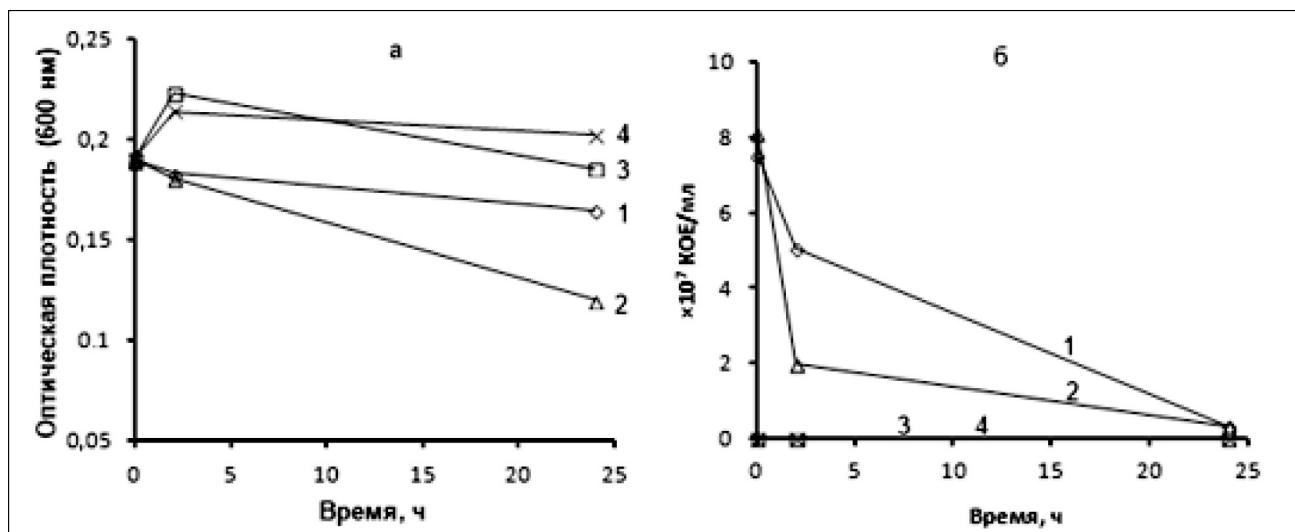


Рис. 5. Изменение оптической плотности бактериальных суспензий (а) и числа живых клеток (б). 1 — контроль, *S. haemolyticus* 18; 2 — контроль, *S. haemolyticus* 18₃₃; 3 — опыт, *S. haemolyticus* 18; 4 — опыт, *S. haemolyticus* 18₃₃.

те, косвенно подтверждённого анализом оптических плотностей бесклеточных супернатантов на спектрофотометре UV-1700 («SHIMADZU», Япония), не выявившим повышения их поглощения в ультрафиолетовой области спектра при 260 и 280 нм, свидетельствующего об отсутствии выхода из клеток в среду культивирования нуклеиновых кислот и белков, установлено значительное снижение содержания препарата «СА» в среде инкубации (рис. 6).

Как видно из данных, представленных на рис. 6, препарат «СА» эффективно сорбируется клетками обоих бактериальных штаммов сразу же после внесения его в среду культивирования (0 ч) и его концентрация в среде снижается в течение 24 ч. Возможно, степень связывания препарата «СА» поверхностями бактериальных клеток зависит от их физиологического состояния и характеризуется максимальным значением при его связывании с ещё живыми клетками.

Интересно, что сорбция препарата «СА» бактериальными клетками приводит, согласно результатам ВАТН-теста, к выраженному повышению уровня гидрофобности их клеточных поверхностей. В большей степени это выявлено для штамма *S. haemolyticus* 18₃₃ (рис. 7). При этом важно отметить, что уровень гидрофобности клеток не зависел от внесённого количества препарата, так как в дополнительных экспериментах было показано, что препарат «СА» в конечных концентрациях 1–33 мкг/мл не приводил к появлению достоверных отличий в показателях гидрофобности клеточных поверхностей бактериальных клеток.

Обсуждение

Алкалоиды — широко распространённые биологически активные азотсодержащие органические соединения основного характера, выделенные

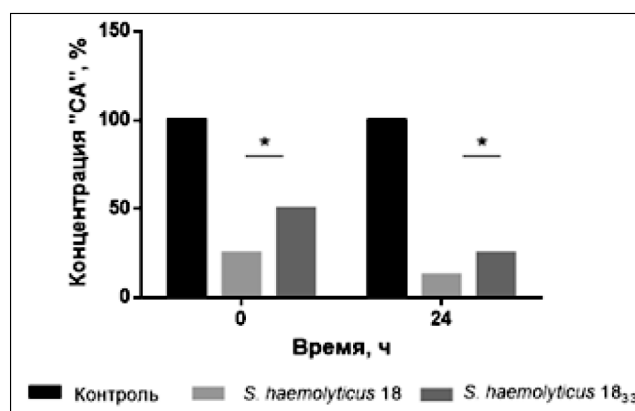


Рис. 6. Изменение концентрации препарата «СА» в средах инкубации бактерий *S. haemolyticus* 18 и *S. haemolyticus* 18₃₃.

* — различия статистически значимы при сравнении с контролем — стерильным раствором «СА» ($p < 0,05$).

из продуктов метаболизма микроорганизмов, морских организмов, наземных животных, грибов и растений [26–28], многие из которых обладают выраженной противомикробной активностью [29]. Многочисленные исследования структуры и функции этих соединений сделали возможным синтез их аналогов и проведение химических модификаций с целью получения препаратов направленного действия [30], в том числе и разработки эффективных терапевтических агентов [31, 32].

Направленным синтезом нового производного изохинолина — препарата «СА», ((2,3,5,6-Тетрагидрооксазола[2,3-а] изохинолин-4-иум-2-ил) метил) ртуть (II) хлорида, нами получено высокоактивное соединение широкого спектра антибактериального действия.

В настоящей работе установлено выраженное ингибирование этим соединением адгезии бакте-

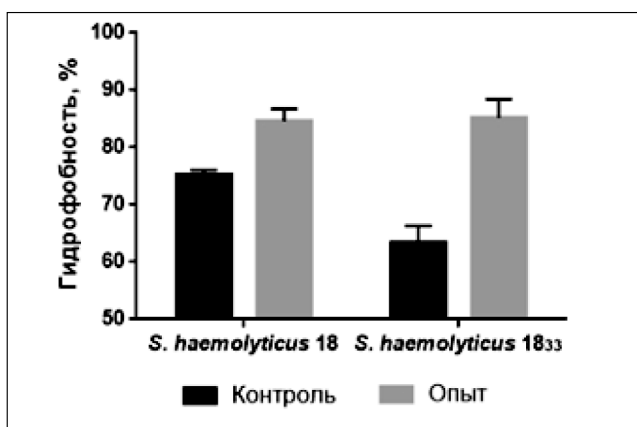


Рис. 7. Влияние сорбции препарата «СА» бактериями *S. haemolyticus* 18 (1) и *S. haemolyticus* 18₃₃ (2) на уровень гидрофобности клеточных поверхностей.

Контроль — исходный уровень; опыт — после связывания с «СА» (1 или 33 мкг/мл).

рий *S. haemolyticus* 18 и *S. haemolyticus* 18₃₃, обладающих множественной устойчивостью к антибиотикам, к гидрофобной поверхности полистирола. Ранее нами была выявлена способность низкомолекулярных катионных пептидов семейства лантибиотиков варнерина и хоминина снижать сорбционную активность ряда стафилококков, в том числе их метициллинорезистентного штамма, к полистиролу и, тем самым, отрицательно влиять на формирование и рост бактериальных плёнок [33] на поверхностях этого полимера.

Важно отметить, что относительно меньший уровень сорбции препарата «СА» клетками производного штамма *S. haemolyticus* 18₃₃, не отражающийся на его чувствительности к СА, может быть обусловлено рядом обстоятельств, которые возникают при появлении устойчивости стафилококков к ванкомицину. Это, как известно, обусловлено снижением метаболической активности бактерий и утолщением их клеточных стенок [34]. Известно, что важными характеристиками полученных лабораторной селекцией ванкомициноустойчивых стафилококков являются снижение общего отрицательного заряда клеток [35] и изменение степени

гидрофобности их поверхностей [36], что придаёт им устойчивость к гидрофобным катионным соединениям, таким как липопептидный антибиотик даптомицин и лантибиотики варнерин и хоминин.

Результаты выполненных исследований позволяют констатировать, что низкомолекулярный катионный пептид хоминин и новый антибактериальный препарат «СА» эффективно подавляют развитие биоплёнок клинического изолята стафилококков штамма *S. haemolyticus* 18 и его производного штамма *S. haemolyticus* 18₃₃ при концентрациях, равных минимальным подавляющим рост планктонных культур этих бактерий, и синергично влияют на формирование их биоплёнок при совместном использовании.

Механизм сочетанного действия «СА» и хоминина требует более детального изучения. Тем не менее, результаты проведённых исследований позволяют предполагать, что быстрое неспецифическое связывание молекул «СА», имеющих в своём составе ионы металла, с поверхностью стафилококков приводит к значительным изменениям электростатических свойств их поверхностей и повышает степень гидрофобности атакуемых бактериальных клеток, что во многом одновременно способствует возрастанию чувствительности бактерий к низкомолекулярному катионному пептиду хоминину. Синергизм комбинированного использования этих соединений может быть использован для профилактики распространения формирующих плёнки стафилококков, в том числе, обладающих множественной резистентностью к антибиотикам, что может быть особенно полезно при местной деколонизационной терапии.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН в рамках Госзадания по теме «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды», регистрационный номер: АААА-А19-119112290009-1 и теме «Разработка методов синтеза новых азотсодержащих гетероциклических систем», регистрационный номер: АА-АА-А18-033090090-0.

ЛИТЕРАТУРА

- Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биоплёнки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ: 2017. — 300 с. / Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Mikrobnye bioplenki v klinicheskoy mikrobiologii i antibakterial'noj terapii. Vitebsk: VGMU: 2017; 300. [in Russian]
- Shrestha L.B., Bhattarai N.R., Khanal B. Comparative evaluation of methods for the detection of biofilm formation in coagulase-negative staphylococci and correlation with antibiogram. Infect Drug Resist 2018; 11: 607–613.
- Wojtyczka R.D., Orlewska K., Kepa M., Idzik D., Dziedzic A., Mularz T. et al. Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* strains from a hospital environment. Int J Environ Res Public Health 2014; 11: 5: 4619–4633.
- Тец В.В., Тец Г.В. Микробные биоплёнки и проблемы антибиотикотерапии. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. — 2013. — № 4. — С. 60–64. / Tets V.V., Tets G.V. Mikrobnye bioplenki i problemy antibiotikoterapii. Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya 2013; 4: 60–64. [in Russian]
- Lebeaux D., Ghigo J.-M., Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. Microbiol Mol Biol Rev 2014; 78: 3: 510–543.
- Михайловский А.Г., Погорелова Е.С., Першина Н.Н., Махмудов Р.Р., Новикова В.В. Синтез, аналгетическая, антигипоксическая и противомикробная активность (2)-2-(2-арилгидразон)-2-(3,3-диметил-3,4-дигидроизохинолин-1-ил)ацетамидов. Химико-фармацевтический журнал. — 2019. — Т. 53. — № 11. — С. 25–29. / Mikhajlovskij A.G., Pogorelova E.S., Pershina N.N., Makhmudov R.R., Novikova V.V. Sintez, anal'geticheskaya, antigipoksicheskaya i protivomikrobnaya aktivnost' (2)-2-(2-arilgidrazono)-2-(3,3-dimetil-3,4-digidroizokhinolin-1-il)atsetamidov. Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal 2019; 53: 11: 25–29. [in Russian]
- Шкляев Ю.В. Синтез алкалоидов изохинолинового ряда. Бутлеровские сообщения. — 2002. — № 7. — С. 21–34. / Shklyayev Yu.V. Sintez alkaloidov izokhinolinovogo ryada. Butlerovskie soobshcheniya 2002; 7: 21–34. [in Russian]
- Шкляев Ю.В. Изохинолиновые алкалоиды *Amaryllidaceae*. Часть 1. Криановые алкалоиды (обзор литературы). Вестник Пермского университета. Химия. — 2012. — Т. 4. — № 8. — С. 25–46. / Shklyayev Yu.V. Izokhinolinovye alkaloidy Amaryllidaceae. Chast' 1. Krinanovye

alkaloidy (obzor literatury). Vestnik Permskogo universiteta. Khimiya 2012; 4: 8: 25–46. [in Russian]

9. Пьянков И.А., Кононова Л.И., Коробов В.П., Смоляк А.А., Шкляев Ю. В. Изучение антибактериального эффекта комбинаций низкомолекулярных катионных пептидов и нового соединения «СА» на основе изохинолина. Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. — 2018. — № 4. — С. 59–73. / Pyankov I.A., Kononova L.I., Korobov V.P., Smolyak A.A., Shklyayev Yu. V. Izuchenie antibakterial'nogo efekta kombinatsij nizkomolekulyarnykh kationnykh peptidov i novogo soedineniya «SA» na osnove izokhinolina. Vestnik PNIPU. Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya 2018; 4: 59–73. [in Russian]
10. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полодова Т.В., Акименко В.К. Выделение и характеристика нового низкомолекулярного антибактериального пептида семейства лантибиотиков. Микробиология. — 2010. — Т. 79. — № 2. — С. 228–238. / Korobov V.P., Lemkina L.M., Polyudova T.V., Akimenko V.K. Vydelenie i kharakteristika novogo nizkomolekulyarnogo antibakterial'nogo peptida semeystva lantibiotikov. Mikrobiologiya 2010; 79: 2: 228–238. [in Russian]
11. Коробов В.П., Лемкина Л.М., Полодова Т.В. Антибактериальный пептид хоминин klp-1 широкого спектра действия. Патент РФ 2528055 С2, 2014. / Korobov V.P., Lemkina L.M., Polyudova T.V. Antibakterial'nyj peptid khominin klp-1 shirokogo spektra dejstviya. Patent RF 2528055 S2, 2014. [in Russian]
12. Kononova L.I., Korobov V.P. Physiological properties of the vancomycin-resistant strain *Staphylococcus epidermidis* 33 GISK VANR. Microbiology 2015; 84: 1: 41–48.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. M100-S17, 27: 1; 2007.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard — ninth edition. M07-A9, 32: 2; 2012.
15. Hernandez C., Coppede J.da.S., Bertoni B.W., Franca S.deC., Pereira A.M.S. Flash microbiocidal: a rapid and economic method for determination of MBC and MFC. Am J Plant Sci 2013; 4: 850–852.
16. Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell surface hydrophobicity. FEMS Microbiol Lett 1980; 9: 29–33.
17. Orhan G., Bayram A., Zer Y., Balci I. Synergy tests by E test and checkerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis*. J Clin Microbiol 2005; 43: 1: 140–143.
18. Hallander H.O., Dornbusch K., Gezelius L., Jacobson K., Karlsson I. Synergism between aminoglycosides and cephalosporins with antipseudomonal activity: interaction index and killing curve method. Antimicrob Agents Chemother 1982; 22: 5: 743–752.
19. Williamson E.M. Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine 2001; 8: 5: 401–409.
20. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Defin. Doc. E.Def 1.2, 6: 503–508; 2000.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline. M26-A, 19: 18; 1999.
22. Peterson L.R., Shanholtzer C.J. Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: technical performance and clinical relevance. Clin Microbiol Rev 1992; 5: 4: 420–432.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. M100-S24, 34: 1; 2014.
24. Singh N., Mishra N. Synergistic and antagonistic action of antibiotics against biofilm forming *Staphylococcus aureus*. Asian J Plant Sci 2012; 2: 3: 350–354.
25. Zhao L., Au J.L.-S., Wientjes M.G. Comparison of methods for evaluating drug-drug interaction. Front Biosci (Elite Ed) 2010; 2: 241–249.
26. Дембицкий В.М., Толстиков Г.А. Природные хлорсодержащие алкалоиды. Химия в интересах устойчивого развития. — 2001. — № 9. — С. 169–181. / Dembitskij V.M., Tolstikov G.A. Prirodnye khlorsoderzhashchie alkaloidy. Khimiya v interesakh ustojchivogo razvitiya 2001; 9: 169–181. [in Russian]
27. Уткина Н.К. Морские Алкалоиды. Вестник ДВО РАН. — 2004. — № 3. — С. 66–75. / Utkina N.K. Morskije Alkaloidy. Vestnik DVO RAN 2004; 3: 66–75. [in Russian]
28. Рогоза Л.Н., Салахутдинов Н.Ф., Толстиков Г.А. Растительные алкалоиды — производные полиметиленаминов. Усп Хим. — 2005. — 74. — № 4. — С. 411–427. / Rogoza L.N., Salakhutdinov N.F., Tolstikov G.A. Rastitel'nye alkaloidy — proizvodnye polimetilenaminov. Usp Khim 2005; 74: 4: 411–427. [in Russian]
29. Wojtyczka R.D., Dziedzic A., Kepa M., Kubina R., Kabala-Dzik A., Mularz T. et al. Berberine enhances the antibacterial activity of selected antibiotics against coagulase-negative staphylococcus strains *in vitro*. Molecules 2014; 19: 5: 6583–6596.
30. Бакирова Р.Е., Фазылов С.Д., Нуркенов О.А., Муравлева Л.Е., Кулаков И.В., Ахметова С.Б. Новые гетероциклические производные алкалоида анабазина и их антимикробные свойства. Успехи современного естествознания. — 2014. — № 5. — С. 20–24. / Bakirova R.E., Fazylov S.D., Nurkenov O.A., Muravleva L.E., Kulakov I.V., Akhmetova S.B. Novye geterotsiklicheskie proizvodnye alkaloida anabazina i ikh antimikrobnnye svojstva. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya 2014; 5: 20–24. [in Russian]
31. Khan A.Y., Kumar G.S. Natural isoquinoline alkaloids: binding aspects to functional proteins, serum albumins, hemoglobin, and lysozyme. Biophys Rev 2015; 7: 4: 407–420.
32. Basu A., Kumar G.S. Nucleic acids binding strategies of small molecules: lessons from alkaloids. Biochim Biophys Acta — Gen. Subj 2018; 1862: 9: 1995–2016.
33. Eroshenko D.V., Korobov V.P. New AMPs from *Staphylococcus* spp., warnerin and hominin, reduce *Staphylococcus epidermidis* adhesion and biofilm formation. In: A. Mendez-Vilas; editor. Multidisciplinary approach for studying and combating microbial pathogens. Brown Walker Press; 2015. p. 98–101.
34. Sieradzki K., Tomasz A. Inhibition of cell wall turnover and autolysis by vancomycin in a highly vancomycin-resistant mutant of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 1997; 179: 8: 2557–2566.
35. Nishi H., Komatsuzawa H., Fujiwara T., McCallum N., Sugai M. Reduced content of lysyl-phosphatidylglycerol in the cytoplasmic membrane affects susceptibility to moenomycin, as well as vancomycin, gentamicin, and antimicrobial peptides, in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 12: 4800–4807.
36. Pfeltz R.F., Singh V.K., Schmidt J.L., Batten M.A., Baranyk C.S., Nadakavukaren M.J. et al. Characterization of passage-selected vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of diverse parental backgrounds. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2: 294–303.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кононова Людмила Ивановна — ведущий инженер лаборатории биохимии развития микроорганизмов «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»), Пермь

Пьянков Иван Алексеевич — студент, кафедра химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета, Пермь

Смоляк Андрей Алексеевич — к. х. н., «Института технической химии Уральского отделения Российской академии наук» — филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИТХ УрО РАН»), Пермь

Шкляев Юрий Владимирович — д. х. н., профессор, зав. лабораторией синтеза активных реагентов «Института технической химии Уральского отделения Российской академии наук» — филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИТХ УрО РАН»), Пермь

Коробов Владимир Павлович — к. м. н., доцент кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета, зав. лабораторией биохимии развития микроорганизмов «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» — филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»), Пермь

Изучение антибактериальной активности производного фенилуксусной кислоты в отношении возбудителя холеры

*Н. А. СЕЛЯНСКАЯ, С. Н. ГОЛОВИН

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

Study of the Antibacterial Activity of Phenylacetic Acid Derivative Against the Causative Agent of Cholera

*N. A. SELYANSKAYA, S. N. GOLOVIN

Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don

Изучена активность *in vitro* и *in vivo* производного фенилуксусной кислоты — диклофенака — в отношении штаммов *V.cholerae* O1 El Tor и образованных ими биоплёнок. В присутствии субингибирующей концентрации диклофенака (250 мг/л) выявлено уменьшение в 4 раза значений минимальных подавляющих концентраций фуразолидона и левомицетина у 30% и 100% штаммов, из числа устойчивых к этим препаратам, и достоверное увеличение диаметров зон задержки роста вокруг дисков с левомицетином, фуразолидоном, стрептомицином (для всех штаммов) и доксициклином (для двух штаммов) в сравнении с контролем. В опытах *in vivo* при использовании для лечения белых мышей фуразолидона, налидиксовой кислоты, левомицетина, стрептомицина, к которым заражающий штамм был устойчив, в комбинации с диклофенаком число выживших животных увеличилось до 80% в сравнении с монотерапией этими препаратами (50% и менее). Субингибирующая концентрация диклофенака не оказывала выраженного влияния на антибиотикочувствительность биоплёнок. Исследование методом трансмиссионной электронной микроскопии биоплёнки штамма *V.cholerae* O1 El Tor 19667 после воздействия на неё диклофенаком (250 мг/л) в течение 120 ч выявило признаки разрушения экзополисахаридного матрикса. Приведённые результаты свидетельствуют о перспективах изучения данной и других групп препаратов с целью разработки новых способов преодоления резистентности бактерий.

Ключевые слова: холерный вибрион, диклофенак, биоплёнка, антибиотикорезистентность.

The *in vitro* and *in vivo* activity of a phenylacetic acid derivative, diclofenac, was studied against *V.cholerae* O1 El Tor strains and biofilms formed by them. In the presence of a subinhibitory concentration of diclofenac (250 mg/l), a 4-fold decrease in the values of the minimum inhibitory concentrations of furazolidone and chloramphenicol was found in 30% and 100% of the strains resistant to these drugs, and a significant increase in the diameters of growth inhibition zones around discs with chloramphenicol, furazolidone, streptomycin (for all strains) and doxycycline (for two strains) in comparison with the control. Furazolidone, nalidixic acid, chloramphenicol, streptomycin, to which the infecting strain was resistant, were used in *in vivo* experiments in combination with diclofenac for the treatment of white mice; in the experimental group the number of surviving animals increased to 80% in comparison with monotherapy with these drugs (50% or less). The subinhibitory concentration of diclofenac did not have a pronounced effect on the antibiotic sensitivity of biofilms. The study using transmission electron microscopy method on the biofilm of the *V.cholerae* O1 El Tor 19667 strain after exposing it to diclofenac (250 mg/l) for 120 h revealed signs of destruction of the exopolysaccharide matrix. These results indicate the prospects for studying this group of drugs, as well as others in order to develop new ways to overcome bacterial resistance.

Keywords: cholera vibrio, diclofenac, biofilm, antibiotic resistance.

Использование антибактериальных препаратов для профилактики и лечения инфекций привело к распространению множественнорезистентных штаммов возбудителей. Вот уже несколько десятилетий проблема антибиотикорезистентности занимает одну из ведущих позиций мирового здравоохранения, подтверждением чему является ряд принятых на международном уровне документов. В соответствии с Глобальной стратегией Всемирной организации здравоохра-

нения по сдерживанию антибиотикорезистентности, Стратегией предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 года [1, 2], наряду с рациональным использованием имеющихся антибактериальных препаратов и разработкой новых антибиотиков, поиск альтернативных средств профилактики и терапии инфекционных заболеваний является одним из приоритетных направлений современной науки. Работы в этом направлении ведутся отечественными и зарубежными учёными. Раскрытие механизмов резистентности и вирулентности бактерий, получение современных сведений о роли биоплёнкообразования в патогенезе

© Н. А. Селянская, С. Н. Головин, 2020

Адрес для корреспонденции: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E. mail: ppdn@inbox.ru

инфекций позволили определить новые мишени действия лекарств против возбудителей инфекционных заболеваний, что открыло большие перспективы будущих разработок.

Вспышки и эпидемии холеры с летальным исходом, вызванные штаммами возбудителя с множественной антибиотикорезистентностью, подчёркивают актуальность исследований, направленных на повышение эффективности терапии этой особо опасной инфекции. Учёным уже удалось определить вещества, которые можно использовать при разработке новых терапевтических средств. Действие одних специфически направлено на механизм вирулентности *Vibrio cholerae* [3–5], другие способны подавлять репликацию малой хромосомы *V.cholerae* [6]. У ряда препаратов обнаружены антибактериальный, антибиоплёночный эффекты, способность повышать активность антибиотиков в отношении холерного вибриона [7–9].

В зарубежных работах показано антибактериальное действие диклофенака — производного фенилуксусной кислоты, и других представителей нестероидных противовоспалительных средств в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [10, 11]. Однако данные об эффективности этих препаратов в отношении штаммов холерных вибрионов отсутствуют. В связи с этим целью нашей работы было определение активности диклофенака и его комбинаций с антибактериальными препаратами в отношении *V.cholerae* El Tor.

Материал и методы

Из музея живых культур ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора для исследования были получены 50 штаммов *V.cholerae* O1 El Tor различной эпидзначимости, выделенные в 2001–2016 гг. от людей (25) и из объектов окружающей среды (25). Контролем служил антибиотикочувствительный штамм *V.cholerae* O1 El Tor P-5879 *ctx⁺tcpA⁺toxR⁺* (выделен от больного, г. Таганрог, 1972 г.). При моделировании биоплёнок, а также в качестве заражающего штамма в опытах *in vivo* использовали *V.cholerae* O1 El Tor 19667 *ctx⁺tcpA⁺toxR⁺* (выделен от больного, г. Москва, 2012 г.), устойчивый к фуразолидону, налидиксовой кислоте, левомицетину, стрептомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу.

Определение чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам и интерпретацию результатов проводили методом серийных разведений и диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона, pH (7,3±0,2), HiMEDIA (Индия), в соответствии с МУК 4.2.2495-09 [12]. В работе использованы диклофенак, доксициклин, тетрациклин, левомицетин (хлорамфеникол), стрептомицин, гентамицин, цiproфлоксацин, фуразолидон, триметоприм / сульфаметоксазол — препараты отечественного производства; налидиксовая кислота (невиграмон, Chinoin, Венгрия); стандартные диски с антибиотиками (производство НИЦФ).

Оценку эффективности антибактериальных препаратов *in vivo* проводили на модели генерализованной формы инфекции на беспородных белых мышках по методике, описанной ранее [13].

Сравнительное изучение эффективности антибактериальных препаратов отдельно и совместно с диклофенаком осуществляют в одном опыте, количество опытов не менее

двух при числе животных в группе не менее 10. Группы животных включали: контрольную (без лечения); группу белых мышей, которых лечили только диклофенаком; группы, которых лечили только антибактериальными препаратами (по числу препаратов, взятых в опыт); группы белых мышей, которых лечили комбинацией антибактериального препарата и диклофенака. Лечение антибактериальными препаратами и диклофенаком начинали сразу после заражения и проводили в течение 3 дней (один раз в сутки). Наблюдение за животными осуществляли 10 дней. Проводили бактериологический контроль заражения и эффективности лечения.

Дозы препаратов рассчитывали по формуле J. E. Paget, Y. M. Barnes [14], исходя из среднесуточных человекодоз.

Моделирование биоплёнок *V.cholerae in vitro* проводили на фрагментах экзоскелета хитинового панциря широкопалого речного рака *Astacus astacus*, которые помещали во флаконы с речной автоклавированной водой (50 мл), контаминированной взвесью 10⁴/мл микробных клеток бактерий, и выдерживали при 28±2° С для получения зрелых биоплёнок в соответствии с авторской методикой [15]. Затем пластинки хитина с образовавшимися биоплёнками трёхкратного промывали в физиологическом растворе.

Визуализацию матрикса биоплёнок проводили с использованием трансмиссионного электронного микроскопа Jeol JEM-1011 (ТЭМ). Стандартная процедура пробоподготовки для ТЭМ включала фиксацию фрагментов экзоскелета в 2,5% растворе глutarового альдегида, постфиксацию и контрастирование 1% раствором тетраоксида осмия (OsO₄), обезвоживание в растворах этанола восходящей концентрации (50°, 60°, 70°, 80°, абсолютный этанол), пропитывание эпоксидной смолой, заливку и полимеризацию блоков. Из полученных блоков с образцами при помощи ультратома изготавливали ультратонкие срезы толщиной 60–70 нм, которые монтировали на медные сеточки и контрастировали в 1% водном растворе уранилацетата и в 0,3% водном растворе цитрата свинца. После высушивания образцы исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 («Jeol», Япония) при ускоряющем напряжении 100 кВ. Изображения получали при помощи CCD-камеры Olympus-SIS Veleta с применением программного обеспечения Olympus iTEM TEM Imaging Platform.

Для определения антибиотикочувствительности пластинки хитина с биоплёнками переносили в пенициллиновые флаконы, содержащие двукратные разведения антибактериальных препаратов либо их комбинаций с диклофенаком (250 мг/л) в жидкой питательной среде (бульон Хоттингера, pH 7,7). В контрольные пробы с биоплёнкой антибактериальный препарат не добавляли. Через 24 ч инкубирования в термостате (37°С) делали отпечатки биоплёнок на пластинки с агаром Хоттингера (pH 7,7) и высев по 0,1 мл из планктонной культуры. Определяли минимальные подавляющие концентрации (МПК) препаратов по наличию или отсутствию роста бактериальных клеток.

Статистическую достоверность результатов определения МПК антибактериальных препаратов подтверждали их воспроизводимостью при трёхкратном повторении эксперимента. Статистическую обработку результатов диско-диффузионного метода проводили с использованием парного *t*-критерия Стьюдента для зависимых совокупностей [16]. Для статистической обработки данных по сравнительному изучению эффективности антибактериальных препаратов в опытах *in vivo* использовали таблицы А. Я. Боярского [17].

Результаты исследования

На первом этапе методом серийных разведений в плотной питательной среде были определены значения минимальных подавляющих концентраций (МПК) диклофенака и антибактериальных препаратов в отношении 50 штаммов *V.cholerae* O1 El Tor.

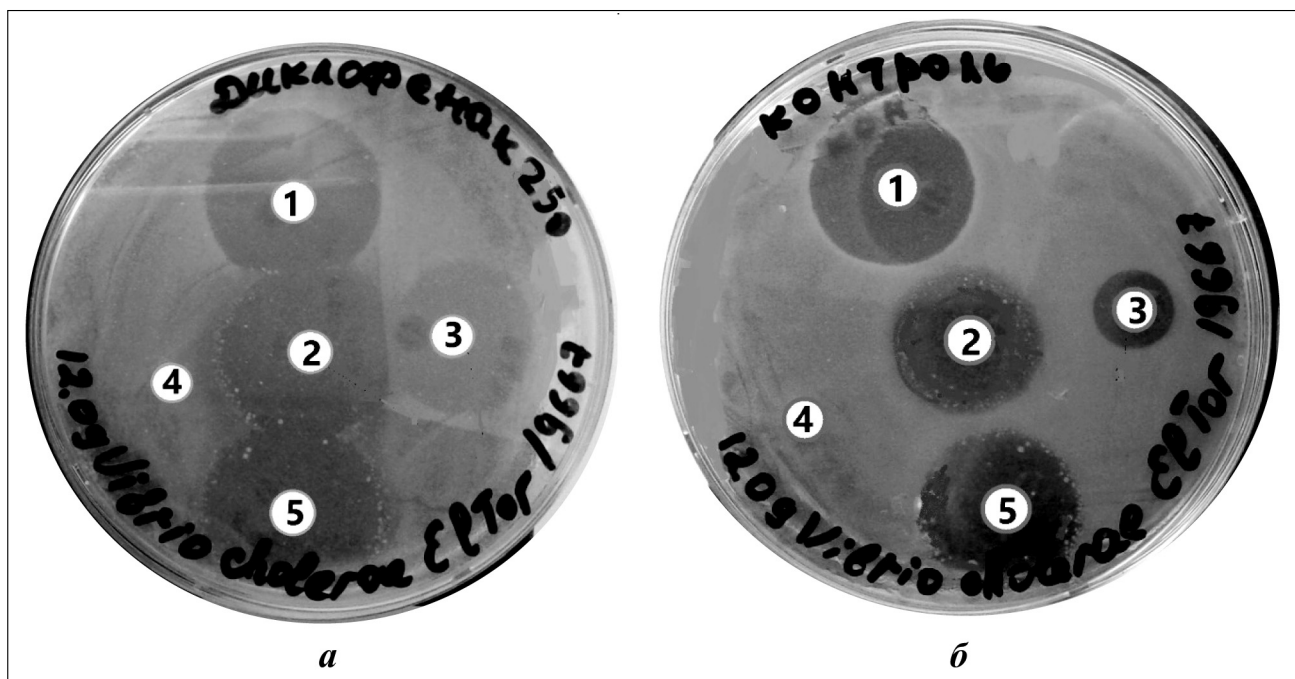


Рис. 1. Определение антибиотикочувствительности штамма *V.cholerae* O1 El Tor 19667 диско-диффузионным методом.

а — чашка, содержащая диклофенак в концентрации 250,0 мг/л; б — контрольная чашка без диклофенака; 1 — диск с гентамицином; 2 — диск с левомицетином; 3 — диск с фуразолидоном; 4 — диск с триметопримом/сульфаметоксазолом; 5 — диск с доксициклином.

Среди изученных холерных вибрионов 22 штамма обладали резистентностью либо промежуточной устойчивостью к левомицетину, 34 штамма — к налидиксовой кислоте, 45 штаммов — к фуразолидону, 47 штаммов — к триметоприму/сульфаметоксазолу, 22 штамма — к стрептомицину.

Для штаммов холерных вибрионов, взятых в исследование, МПК диклофенака составляла 500,0–1000,0 мг/л. Исходя из этих значений, далее в опыт в качестве субингибирующей брали концентрацию диклофенака, составляющую 1/2–1/4 МПК, что соответствовало 250,0 мг/л. Несмотря на то, что эта концентрация не подавляла рост холерных вибрионов в посевной дозе 10^6 м.кл./мл, снижение посевной дозы и подсчёт числа колониеобразующих единиц (КОЕ) штамма *V.cholerae* O1 El Tor 19667 показал уменьшение числа КОЕ в присутствии диклофенака (250,0 мг/л) на 3 порядка, что свидетельствует о его антибактериальном действии на холерные вибрионы. По данным литературы, антибактериальное действие диклофенака связано с нарушением биосинтеза ДНК микробной клетки [18].

Следующий этап нашей работы был посвящён изучению влияния субингибирующей концентрации диклофенака (250,0 мг/л) на антибиотикочувствительность *V.cholerae*.

Следует отметить, что чувствительность разных штаммов к различным антибиотикам в присутствии диклофенака оказалась неравнозначной.

В присутствии диклофенака в 4 раза уменьшились значения МПК фуразолидона и левомицетина у 30 и 100% штаммов из числа, устойчивых к этим препаратам, соответственно. Изменения чувствительности к остальным антибактериальным препаратам в присутствии диклофенака мы не наблюдали. При этом мы не брали во внимание двукратные колебания значений МПК антибактериальных препаратов в присутствии диклофенака и без него.

Полученные результаты согласуются с данными литературы о синергидном действии представителей нестероидных противовоспалительных средств с хлорамфениколом в отношении MRSA стафилококков [19]. Зарубежными исследователями описана также способность этих препаратов повышать чувствительность основных инфекционных агентов к ципрофлоксацину и гентамицину [20, 21].

Изучение действия диклофенака на антибиотикочувствительность холерных вибрионов было проведено и диско-диффузионным методом (рис. 1).

На рис. 1 представлены результаты определения антибиотикочувствительности штамма *V.cholerae* O1 El Tor 19667 диско-диффузионным методом. Видно увеличение зон задержки роста вокруг дисков с гентамицином (1), левомицетином (2), фуразолидоном (3), доксициклином (5) на чашке, содержащей диклофенак (рис. 1, а) в сравнении с диаметрами зон вокруг дисков с этими антибиотиками в контроле (рис. 1, б).

Таблица 1. Диаметры зон задержки роста (мм) клинических изолятов холерных вибрионов Эль Тор в присутствии диклофенака и без него

Антибактериальный препарат	Штамм <i>V.cholerae</i> El Tor							
	19242		18826		19667		19191	
	без дикло- фенака	с дикло- фенаком	без дикло- фенака	с дикло- фенаком	без дикло- фенака	с дикло- фенаком	без дикло- фенака	с дикло- фенаком
Значения диаметров зон задержки роста*, мм								
Левомецетин	18,3±0,6	21,7±0,6	16,3±0,6	19,7±1,1	17,3±0,6	21,7±1,1	25,0±1,0	35,7±0,6
Доксициклин	19,7±0,6	21,7±0,6	18,7±0,6	20,0±0,0	19,0±1,0	20,0±1,0	18,7±0,6	21,0±1,0
Гентамицин	21,0±1,7	21,7±2,3	21,7±2,5	22,0±2,6	20,7±2,1	21,3±1,1	23,7±1,5	24,7±0,6
Стрептомицин	9,7±0,4	13,3±1,0	10,7±1,0	14,7±0,8	6,0±3,7	20,0±0,7	9,0	12,7±0,4
Налидиксовая кислота	9,0	9,3±0,6	5,3±4,7	9,7±1,1	9,3±0,6	9,7±0,6	10,0±1,0	11,3±0,6
Триметоприм/сульфаметоксазол	0	0	0	0	0	0	0	0
Фуразолидон	9,3±0,6	14,3±0,6	9,0	12,7±0,6	7,0±1,7	16,7±1,4	7,0±1,7	17,7±1,0

Примечание. * — средние значения диаметров зон задержки роста, (среднее арифметическое и средняя ошибка средней), мм; серым цветом выделены колонки, в которых различия достоверны.

Измерение размеров зон задержки роста четырёх штаммов *V.cholerae* O1 El Tor показало, что присутствие в среде культивирования субингибирующей концентрации диклофенака (250,0 мг/л) сопровождалось достоверным увеличением диаметров зон задержки роста вокруг дисков с левомецетином, фуразолидоном, стрептомицином (для всех штаммов), доксициклином (для штаммов *V.cholerae* O1 El Tor 19667 и 19191) в сравнении с диаметрами зон задержки роста вокруг дисков с этими же антибиотиками на среде без диклофенака (табл. 1).

В опытах *in vivo* при лечении белых мышей, заражённых штаммом *V.cholerae* O1 El Tor 19667, наблюдалась неэффективность фуразолидона, налидиксовой кислоты, левомецетина, стрептомицина и триметоприма/сульфаметоксазола (менее 60% выживших животных), к которым заражающий штамм был устойчив (табл. 2).

Чувствительность *V.cholerae* O1 El Tor 19667 к доксициклину сопровождалась его стопроцентной эффективностью.

При монотерапии диклофенаком выживаемость белых мышей составляла 50%.

При использовании для лечения белых мышей фуразолидона, налидиксовой кислоты, левомецетина, стрептомицина совместно с диклофенаком число выживших животных увеличилось до 80%.

По нашему мнению, повышение эффективности антибактериальных препаратов при их применении совместно с диклофенаком может быть обусловлено не только его синергидным действием. Зарубежными учёными показано, что диклофенак нарушает цАМФ-активируемую и Ca(2)+-активируемую секрецию Cl⁻ посредством ингибции апикальных каналов Cl⁻ и базолатеральных каналов K⁺ в эпителиальных клетках тонкого кишечника и может быть полезен при лечении холеры и секреторных диарей других типов, вызываемых кишечной гиперсекрецией Cl⁻ [22]. Кроме того, есть сообщения о способности производного фенилуксусной кислоты в субингибирующей концентрации подавлять факторы

Таблица 2. Эффективность комбинированной этиотропной терапии генерализованной формы холеры у белых мышей, вызванной антибиотикоустойчивым штаммом *V.cholerae* O1 El Tor 19667

Антибактериальный препарат	Суточная доза препарата		Способ введения препарата	Выжившие животные, %±I ₉₅
	мг/мышь/сут	мг/кг/сут*		
Диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	50 23
Доксициклин	2,0	8,0	Внутрь	100
Налидиксовая кислота	15,0	60,0	Внутрь	0
Стрептомицин	2,0	8,0	В/м*	0
Триметоприм/сульфаметоксазол	1,65/8,35	6,7/33,3	Внутрь	0
Фуразолидон	4,0	16,0	Внутрь	10
Левомецетин	10,0	40,0	Внутрь	60±23
Доксициклин+	2,0	8,0	Внутрь	100
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Налидиксовая кислота+	15,0	60,0	Внутрь	80±18
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Стрептомицин+	2,0	8,0	В/м*	80±18
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Триметоприм/сульфаметоксазол+	10,0	40,0	Внутрь	50±23
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Фуразолидон+	4,0	16,0	Внутрь	80±18
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Левомецетин +	10,0	40,0	Внутрь	80±18
диклофенак	0,25	1,0	Внутрь	
Контроль без лечения		0		

Примечание. * — соответствующая суточная человекодоза; ** — внутримышечно.

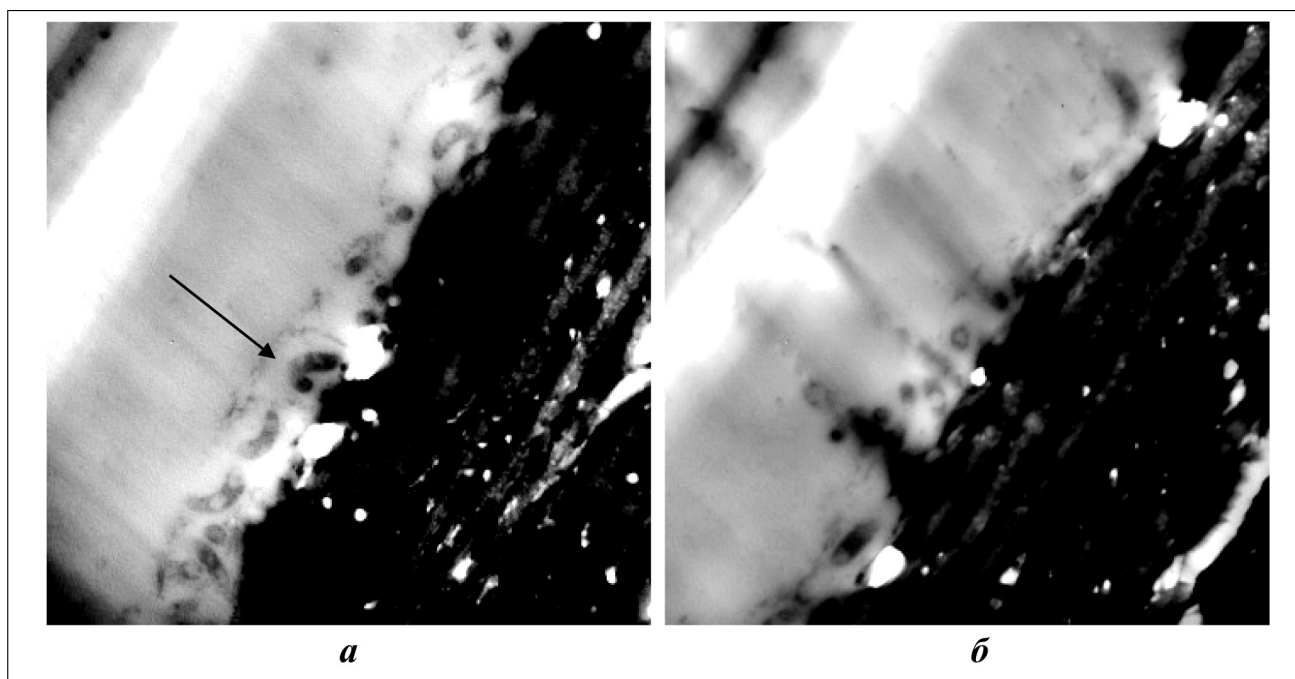


Рис. 2. Биоплёнки *V.cholerae* O1 El Tor.

Трансмиссионная электронная микроскопия, контрастирование рутениевым красным и тетраоксидом осмия, увеличение $\times 12000$. Стрелкой указана мембраноподобная структура на поверхности биоплёнки. а – без воздействия диклофенака (контроль); б – воздействие диклофенака 120 ч.

вирулентности бактерий, ингибируя кворум сенсинг, регулировать выработку адгезинов и токсинов, изменять энергетический обмен, pH и мембранный потенциал клетки [18, 23]. Также описано, что диклофенак улучшает проникновение фторхинолонов в воспалённые ткани [24].

Изучение действия субингибирующих концентраций диклофенака на антибиотикочувствительность биоплёнок *V.cholerae* O1 El Tor 5879, 19243, 19667, 19613 показало, что сам по себе этот препарат вызывал гибель биоплёночной формы холерных вибрионов лишь в концентрациях, в 50 и более раз превышающих значения МПК для планктонных клеток. В субингибирующей же концентрации он не оказывал выраженного влияния на антибиотикочувствительность биоплёнок.

Вместе с тем, интерес представляют данные электронномикроскопического исследования биоплёнки штамма *V.cholerae* O1 El Tor 19667 после воздействия на неё диклофенаком (250,0 мг/л) в течение 120 ч (5 сут). В контроле (см. рис. 2, а) биоплёнка до воздействия диклофенака имеет чёткую мембраноподобную структуру на границе с окружающей средой (указано стрелкой). На рис. 2, б наблюдается отсутствие видимой границы экзополисахаридного матрикса, а его вещество слабо выражено, что может свидетельствовать о его разрушении.

Зарубежные исследователи обнаружили *in situ* методом конфокальной лазерной сканирующей

микроскопии, что в присутствии диклофенака замедляется развитие биоплёнки по сравнению с контрольными экспериментами. Это было подтверждено невысокими показателями содержания экзополисахарида и количества клеток микроорганизмов в биоплёнках, выращенных в присутствии диклофенака [25].

Заключение

Таким образом, проведённые нами эксперименты и данные литературы, отражающие результаты изучения действия на антибиотикостойчивые бактерии производных фенилуксусной кислоты из группы нестероидных противовоспалительных средств, свидетельствуют о наличии у них антибактериальной активности. Полученные результаты подчёркивают перспективность проведения дальнейшего изучения антимикробных и антибиоплёночных свойств данных препаратов и возможности их использования в качестве модельных соединений для синтеза новых средств против устойчивых бактерий. Такие подходы позволили бы сэкономить время и затраты на решение вопросов обеспечения безопасности и токсичности в связи с наличием ранее собранных фармакокинетических, токсикологических данных в отношении этих и других препаратов, что свидетельствует об их приоритетности при внедрении новых способов преодоления резистентности патогенов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам [интернет]. Женева: ВОЗ; 2001. / WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. Geneva: WHO; 2001. [in Russian] Доступно по: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16343r/s16343r.pdf?ua=1> Ссылка активна на 03.10.2019.
2. Распоряжение Правительства РФ № 2045-р об утверждении Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года. Москва, 25 сентября 2017 г. / Rasporiazhenie Pravitel'stva RF № 2045-r ob utverzhdenii Strategii preduprezhdeniya rasprostraneniya antimikrobnogo rezistentnosti v Rossijskoj Federatsii na period do 2030 goda. Moskva, 25 sentyabrya 2017 g. [in Russian]
3. Mondal S.I., Khadka B., Akter A., Roy P.K., Sultana R. Computer based screening for novel inhibitors against *Vibrio cholerae* using NCI diversity set-II: An alternative approach by targeting transcriptional activator ToxT Interdiscip Sci 2014; 6 (2): 108–117.
4. Plecha S.C., Withey J.H. Mechanism for inhibition of *Vibrio cholerae* ToxT activity by the unsaturated fatty acid components of bile. J Bacteriol 2015; 197 (10): 1716–1725.
5. Sun K., Bröms J., Lavander M., Gurram B.K., Enquist P.A., Andersson C.D., Elofsson M. Screening for inhibition of the *Vibrio cholerae* VipA-VipB interaction identifies small molecule compounds active against type VI secretion. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58 (7): 4123–4130.
6. Yamaichi Y., Duigou S., Shakhnovich E.A., Waldor M.K. Targeting the Replication Initiator of the Second *Vibrio* Chromosome: Towards Generation of *Vibrionaceae*-Specific Antimicrobial Agents. PLoS Pathog 2009; 5 (11): e1000663.
7. Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Титова С.В., Корнеева Л.А. Действие N-ацетила-L-цистеина на биопленки холерного вибриона. Журн микробиол эпидемиол и иммунобиол. — 2018. — № 2. — С. 83–87. / Duvanova O.V., Mishan'kin B.N., Titova S.V., Korneeva L.A. Deystvie N-atsetila-L-tsisteina na bioplenki kholernogo vibriona. Zhurn mikrobiol epidemiol i immunobiol 2018; 2: 83–87. [in Russian]
8. Augustine N., Goel A.K., Sivakumar K.C., Ajay Kumar R., Thomas S. Resveratrol — a potential inhibitor of biofilm formation in *Vibrio cholerae*. Phytomedicine 2014; 21 (3): 286–289.
9. Leyn B., Haackl F.P., Lington R.G. Optimized quinoline amino alcohols as disruptors and dispersal agents of *Vibrio cholerae* biofilms. Org Biomol Chem 2015; 13 (31): 8495–8499.
10. Akilandeswari K., Ruckmani K., Abirami S. Enhancement of the efficacy of antibiotics ciprofloxacin and gentamycin against gram positive and gram negative micro organism with non antibiotic nimesulide. Int J Pharm Pharm Sci 2013; 5 (3): 627–630.
11. Shirin H., Moss S.F., Kancherla S., Kancherla K., Holt P.R., Weinstein I.B., Sordillo E.M. Non-steroidal anti-inflammatory drugs have bacteriostatic and bactericidal activity against *Helicobacter pylori*. J Gastroenterol Hepatol 2006; 21 (9): 1388–1393.
12. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам: методические указания 4.2.2495-09. — М.: 2009. — 59 с. / Opredelenie chuvstvitel'nosti vozbuditelej opasnykh bakterial'nykh infektsij (chuma, sibirskaya yazva, kholera, tulyaremiya, brutsellez, sap, melioidoz) k antibakterial'nym preparatam: metodicheskie ukazaniya 4.2.2495-09. M.: 2009; 59. [in Russian]
13. Дудина Н.А., Шутько А.Г., Рыжко И.В., Цураева Р.И., Молдаван И.А. Сравнительная оценка активности антибактериальных препаратов *in vitro* и при экспериментальной холере у белых мышей, вызванной штаммами холерного вибриона O1 и O139 серогруппы. Антибиотики и химиотер. — 2004. — № 11. — С. 23–27. / Dudina N.A., Shut'ko A.G., Ryzhko I.V., Tsurava R.I., Moldavan I.A. Sravnitel'naya otsenka aktivnosti antibakterial'nykh preparatov *in vitro* i pri eksperimental'noj kholere u belykh myshej, vyzvannoj shtammami kholernogo vibriona O1 i O139 serogruppy. Antibiotiki i khimioter 2004; 11: 23–27. [in Russian]
14. Paget J.E., Barnes Y.M. Toxicity tests. Evaluation of drug activities pharmacometric. London, 1964; 1: 135–167.
15. Патент РФ 2685878, МПК C12N 11/00. Способ моделирования биопленок, формируемых *V.cholerae* O1 серогрупп на поверхности хитина / Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Меньшикова Е.А., Курбатова Е.М., Титова С.В.; — № 2018103604; завл. 30.01.2018; опубл. 23.04.2019; Бюл. №12. / Patent RF 2685878, MPK S12N 11/00. Sposob modelirovaniya bioplenok, formiruemykh *V.cholerae* O1 serogrupp na poverkhnosti khitina / Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Men'shikova E.A., Kurbatova E.M., Titova S.V.; — № 2018103604; zav. 30.01.2018; opubl. 23.04.2019; Bjul. №12. [in Russian]
16. <http://www.medstatistic.ru/calculators/calcpars.html>
17. Боярский А.Я. Статистические методы в экспериментальных медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1955. — 262 с. / Boyarskij A.Ya. Statisticheskie metody v eksperimental'nykh meditsinskikh issledovaniyakh. — M.: Meditsina, 1955. — 262 s. [in Russian]
18. Riordan J. T., Dupre J. M., Cantore-Matyi S. A., Kumar-Singh A., Song Y., Zaman Sh., Horan S., Helal N.S., Nagarajan V., Elasri M.O., Wilkinson B.J., Gustafson J.E. Alterations in the transcriptome and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of diclofenac. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2011; 10: 30.
19. Chan E.W.L., Yee Z.Y., Raja I., Yap J.K.Y. Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Glob Antimicrob Resist. 2017; 10: 70–74.
20. Dutta N.K., Mazumdar K., Park J.H. *In vitro* synergistic effect of gentamicin with the anti-inflammatory agent diclofenac against *Listeria monocytogenes*. Lett Appl Microbiol 2009; 48 (6): 783–785.
21. Akilandeswari K., Kandasamy R., Abirami S. Enhancement of the efficacy of antibiotics ciprofloxacin and gentamycin against Gram positive and Gram negative microorganism with non-antibiotic nimesulide. Intern J Pharm Pharm Sci 2013; 5 (3): 627–630.
22. Pongkorsakol P., Pathomthongtawechai N., Sriraman P., Soodvilai S., Chatsudthipong V., Muanprasat C. Inhibition of cAMP-Activated Intestinal Chloride Secretion by Diclofenac: Cellular Mechanism and Potential Application in Cholera. PLoS Neglected Tropical Diseases 2014; 8 (9): <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003119>.
23. Abbas H.A. Inhibition of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by diclofenac sodium. Roum Arch Microbiol Immunol 2015; 74 (3–4): 79–85.
24. Krustev S.Z., Rusenova N.V., Haritova A.M. Effect of diclofenac on ocular levels of ciprofloxacin and lomefloxacin in rabbits with endophthalmitis. Drug Dev Ind Pharm 2014; 40 (11): 1459–1462.
25. Paje M.L., Kuhlcke U., Winkler M., Neu T.R. Inhibition of lotic biofilms by Diclofenac. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 59 (4–5): 488–492.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Селянская Надежда Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментально-биологических моделей ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

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

Анализ микробного пейзажа в очаге инфекции и эффективность антибиотико- и иммунотерапии у больных с диабетической стопой

В. И. СОКОЛОВА¹, Д. А. СЫЧЕВ¹, *Е. И. ВАСИЛЬЕВА², М. Б. БАБАРИНА³, Л. И. ЗАВОЛОВСКАЯ

¹ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

² ЧУЗ «Центральная клиническая больница «РЖД-Медицина», Москва

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

Analysis of the Microbial Landscape of Infection Site and the Effectiveness of Antibiotic and Immunotherapy in Patients with Diabetic Foot

V. I. SOKOLOVA¹, D. A. SYCHEV¹, *E. I. VASILIEVA², M. B. BABARINA³, L. I. ZAVOLOVSKAYA

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² RZD-Medicine Central Clinical Hospital, Moscow

³ National Medical Research Center for Endocrinology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Проведён анализ результатов исследования 169 штаммов микроорганизмов, полученных из раневого отделяемого от 132 больных сахарным диабетом. Среди грамположительных патогенов лидировали бактерии *Staphylococcus* spp. Значительно реже высевались грамотрицательные возбудители: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и др. Все выделенные культуры были чувствительны к левофлоксацину и к моксифлоксацину и лишь *Acinetobacter* spp. ($n=2$) был интактен (*in vitro*) к действию левофлоксацина. У 16 больных с диабетической стопой был применён внутриартериальный способ введения левофлоксацина (500 мг/сут) в сочетании с полиоксидонием (12 мг/сут) через порт-катетер. Во всех клинических случаях отмечалась позитивная динамика в виде стихания воспалительного процесса, очищения раны от гнойно-некротического субстрата и наблюдалась ранняя эпителизация раневого дефекта у больных с диабетической стопой.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая стопа, раневая инфекция, полиоксидоний, пентаглобин, левофлоксацин.

The article analyses the results of the study of 169 strains of microorganisms obtained from wound discharge from 132 patients with diabetes mellitus. *Staphylococcus* spp. bacteria held a leading place among Gram-positive pathogens. Gram-negative pathogens — *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc. — were found less frequently. All isolated cultures were sensitive to levofloxacin and moxifloxacin, and only *Acinetobacter* spp. ($n=2$) remained intact (*in vitro*) after the use of levofloxacin. The intra-arterial route of administration of levofloxacin (500 mg/day) in combination with polyoxidonium (12 mg/day) through a port was used in 16 patients with diabetic foot. In all clinical cases, positive dynamics was noted: subsiding of the inflammatory process, cleansing of the wound from a purulent-necrotic substrate, and early epithelialization of the wound was observed in patients with diabetic foot.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic foot, wound infection, polyoxidonium, pentaglobin, levofloxacin.

Сахарный диабет остаётся острой проблемой, что связано с его растущей распространённостью и высоким риском сосудистых осложнений [1–6]. Особые трудности возникают в тех случаях, когда формирование хронических язв сопряжено с артериальной или венозной сосудистой патологией нижних конечностей [7]. В первую очередь, это наблюдается у больных сахарным диабетом, что связано с высоким риском развития микро- и макрососудистых осложнений, в частности с развитием синдрома диабетической стопы [2, 3]. Местные изменения в облас-

ти трофической язвы обусловлены рядом факторов, препятствующих регенерации окружающих рану тканей: наличием очага тканевой деструкции; присутствием патогенной микрофлоры, разрушающей тканевые барьеры; гипергликемией; гиперлипотеинемией; окислительным стрессом, и как следствие — увеличением концентрации свободных радикалов. Снижение кожной защиты на стопе, пальцах, голени способствует проникновению патогенов и образованию микротромбов, что усиливает ишемию и инфекцию [7–9]. Одним из важных этапов лечения инфекционного процесса является изучение этиологической структуры раневого субстрата, выделение возбудителя и определение чувствительности к тестируемому антибиотикам. Изучение этих вопросов и явилось целью данного исследования.

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: 123567, Москва, Волоколамское ш., 84. Центральная клиническая больница «РЖД-Медицина»
E-mail: elena.vasiljeva-microb@yandex.ru

Материал и методы

Особый интерес представляли 16 больных, находившихся на лечении в хирургическом отделении с диагнозом диабетическая стопа. Это были тяжёлые больные с гнойно-некротическими язвами, с обильным «зловонным» отделяемым, тусклыми грануляциями дефекта и выраженным интоксикационным синдромом (ночные боли, температура, мышечная слабость, снижение тактильной чувствительности, отёки нижних конечностей, ослабление или отсутствие периферического пульса и др.). У этой категории больных патологический процесс характеризовался агрессивным течением, выраженными интоксикационными проявлениями в силу снижения иммунологической реактивности, а также обменных нарушений и особенностей микробного пейзажа в ране, что создавало существенные трудности при лечении.

Кроме того, проведено исследование патогенов раневого биоматериала от 116 больных сахарным диабетом, находившихся на лечении в отделении эндокринологии. Результаты бактериологических исследований позволили установить, что видовой состав микрофлоры не был однородным. Было выделено 153 штамма микроорганизмов. Исследовали качественный и количественный состав микрофлоры раны с использованием стандартных микробиологических процедур. Первичный посев клинического материала выполняли по Вуду, петлей диаметром 2 мм на поверхность 5% кровяного агар и ряд селективных сред (агар Эндо, желточно-солевой маннитоловый агар, агар Сабуро и др.). Степень обсеменённости раневого отделяемого определяли по таблице Рябинского-Родмана по аналогии с определением бактериурии при посеве мочи. Идентификацию изолятов проводили с помощью коммерческих тест-систем Erba Lachema (Чехия), BioMerieux (Франция). Для оценки чувствительности выделенных штаммов к антибактериальным препаратам использовали диско-диффузионный метод на агаре Mueller–Hinton.

Результаты и обсуждение

Идентифицировать возбудителя заболевания и изучить его чувствительность к антибиотикам удалось у 132 больных (16 — из отделения хирургии и 116 — из отделения эндокринологии). Выделено 169 штаммов микроорганизмов.

Как показал анализ раневого отделяемого у 16 хирургических больных, из гнойно-некротических очагов высевался *Staphylococcus aureus* ($n=6$), *S.epidermidis* ($n=2$), *Streptococcus pyogenes* ($n=3$), *Pseudomonas aeruginosa* ($n=2$), *Acinetobacter* spp. ($n=2$), *Klebsiella pneumoniae* ($n=1$). Все выделенные культуры были чувствительны к левофлоксацину, за исключением двух штаммов *Acinetobacter* spp., которые были резистентны к этому антибиотику. Микробиологический пейзаж раневого отделяемого этих больных представлен на рис. 1.

Наряду с изучением микробного спектра раневого отделяемого у 16 хирургических больных с диабетической стопой, было проведено исследование биоматериала из гнойно-некротической поверхности 116 больных сахарным диабетом, находившихся на лечении в отделении эндокринологии. Результаты исследований позволили установить, что видовой состав микрофлоры не был однородным. Было выделено 153 штамма микроорганизмов. Основными возбудителями раневой инфекции были грамположительные (Гр+) бак-

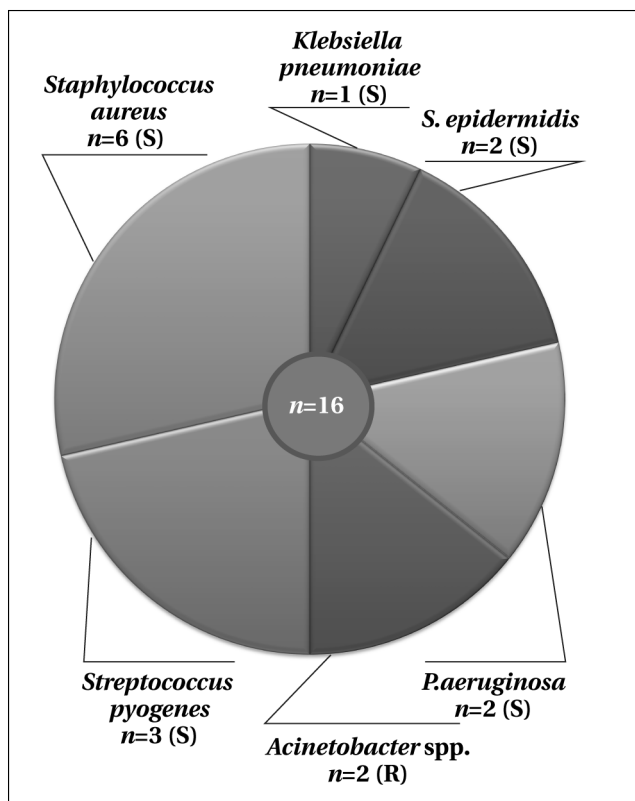


Рис. 1. Микроорганизмы, выделенные из раневой поверхности диабетической стопы и их чувствительность к левофлоксацину.

S — чувствительные штаммы микроорганизмов; R — резистентные.

терии, их выделено 118 штаммов (рис. 2). Доминирующими патогенами были культуры рода *Staphylococcus*, которые выделялись в монокультуре: *S.aureus* (47%), *S.epidermidis* (12%), *S.haemolyticus* (10%). Культуры рода *Enterococcus* и *Streptococcus* выделялись в 15 и 13% случаев, в том числе *S.pyogenes* — в 5%. В то же время из ран выделялась и грамотрицательная (Гр-) микрофлора ($n=35$), представленная на рис. 3. Среди них доминировали: *Escherichia coli* — 24% и *P.aeruginosa* — 20%. В 37 случаях из биоматериала выделялись ассоциации возбудителей. Отмечался и рост грибов рода *Candida* в 3% ($n=5$). Итак, результаты бактериологического исследования микрофлоры гнойных ран у 116 больных сахарным диабетом показали, что по качественному составу лидируют стафилококки (53%). На долю грамотрицательных патогенов пришлось 23% случаев, с преобладанием *E.coli* и *P.aeruginosa*. Проведённый анализ микробного пейзажа у этих больных в полной мере подтверждается данными литературы [8–12]. Наибольшую активность к выделенным патогенам проявляли левофлоксацин и моксифлоксацин (от 75 до 100%).

Несомненно, роль микробного фактора в развитии раневой инфекции велика, однако инфекционный процесс развивается при нарушении

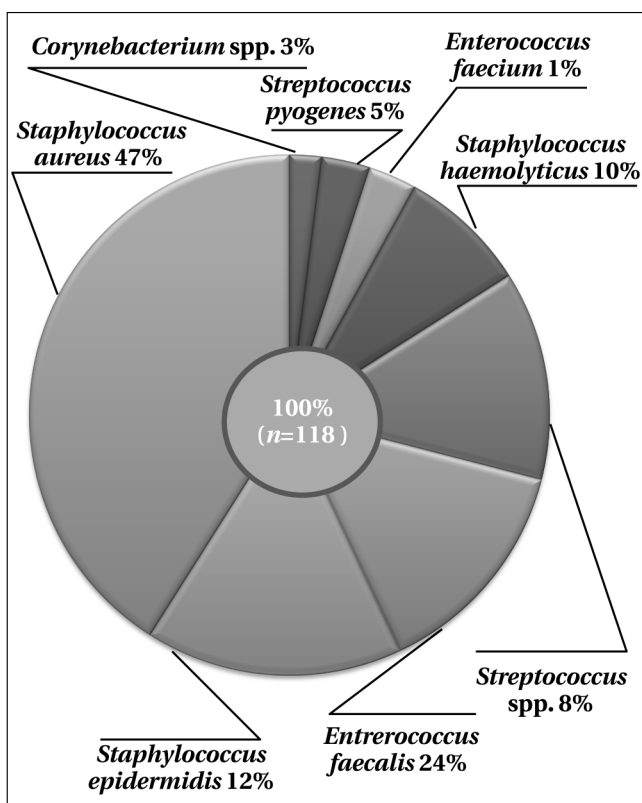


Рис. 2. Грамположительные микроорганизмы, выделенные из раневой поверхности диабетической стопы

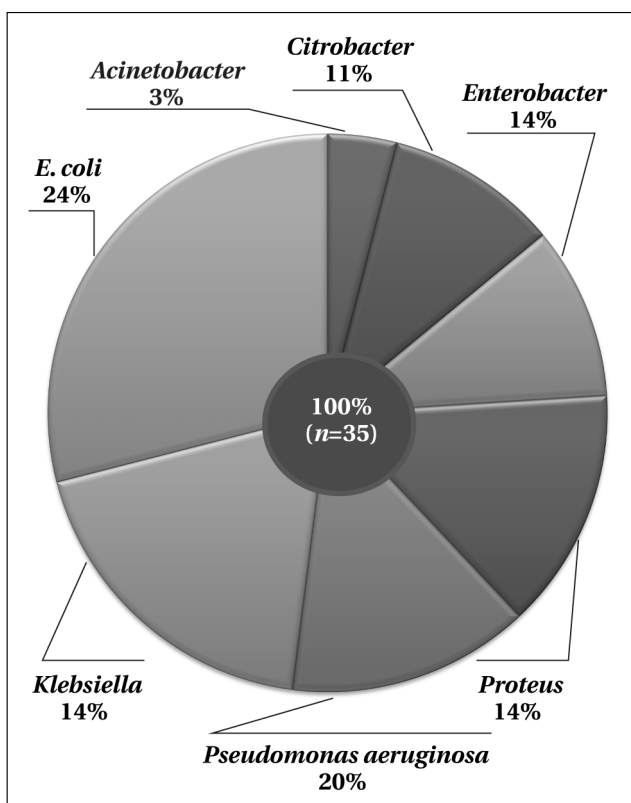


Рис. 3. Грамотрицательные патогены, выделенные из раневой поверхности диабетической стопы

равновесия между микробами, контаминирующими рану, и защитными силами макроорганизма, что проявляется клиническими симптомами воспаления [2, 9, 13, 14]. Многие патогены продуцируют гиалуронидазу, что усиливает некроз тканей и способствует распространению некротического процесса с вовлечением подкожно-жировой клетчатки, кожно-связочного аппарата и мышечной ткани. Происходит тромбоз сосудов и, как следствие, повреждаются новые участки мягких тканей. Обильное газообразование в инфицированных тканях при анаэробной инфекции обнаруживается как пальпаторно, так и рентгенологически. Это состояние сопровождается гипертермией, лейкоцитозом и требует хирургического вмешательства с проведением некрэктомии и назначения противоанаэробных препаратов. Инфекция у больных сахарным диабетом протекает на фоне вторичной иммунной недостаточности, что влияет на динамику течения инфекционного процесса и скорость закрытия раневого дефекта [4, 11, 15, 16]. В связи с этим клинический интерес представляет новое поколение отечественных иммуномодуляторов, а именно полиоксидоний (ПО). ПО — полимерное физиологически активное соединение, обладающее выраженной иммунотропностью [4, 15, 17]. *In vitro* доказано, что ПО взаимодействует со всеми клетками иммунной

системы: лимфоцитами, макрофагами и др., повышая их функциональную активность. При взаимодействии ПО с нейтрофилами происходит усиление их способности поглощать и убивать бактерии (И. И. Мечников, 1916) [18].

Известно, что большинство микроорганизмов существуют в виде биоплёнок, прикреплённых к раневой поверхности и друг к другу (сообщество биоплёнок). Биоплёнки препятствуют проникновению антибиотика в клетку, следовательно, не создаются действующие концентрации препарата в очаге инфекции, что является мотивацией к внедрению новых схем и режимов, позволяющих контролировать проявления патогенных свойств бактерий [19–21].

Учитывая все перечисленные факторы, нами был применён внутриартериальный способ длительной, непрерывной инфузии левофлоксацина (500 мг/сут) и последовательного введения изоксимерабромида ПО — 12 мг/сут через постоянное имплантированное устройство порт-катетер. Антибиотик при таком способе введения тут же поступает в системный кровоток и быстро создаются максимальные концентрации левофлоксацина ($C_{\max}$ — 5,2–6,2 мг/мл) внутри клеток, в коже и мягких тканях, т.е. в очаге инфекции. Бактерицидное действие препарата способствует быстрой эрадикации возбудителя из очага инфекции.

Хорошее проникновение в ткани, макрофаги и биологические жидкости обеспечивает высокий уровень препарата в очаге инфекции, значительно превышая значения МПК для чувствительных видов бактерий. Левофлоксацин длительно циркулирует в организме, определяется в крови более 24 ч ($T_{1/2}$ — 7,0–7,5 ч), что позволяет использовать этот антибиотик один раз в сутки [12, 22–25]. При назначении нами комплексной терапии, наблюдалась тенденция к улучшению общего самочувствия: нормализация температуры, исчезновение ночных болей, отёков нижних конечностей и др. Следует отметить, что первые очаги грануляции появились к концу 5–7 суток лечения, и значительные позитивные сдвиги достигались к 8–10 суткам. Наряду с субъективными улучшениями, наблюдались позитивные сдвиги в течение местного процесса. Рана очищалась от гнойно-некротического содержимого, активировался процесс грануляции и краевой эпителизации раневого дефекта. Отмечено, что под влиянием ПО происходит не только восстановление пониженных у больных ($n=16$) уровней лимфоцитов, моноцитов и макрофагов в крови, но и подрастание их до нормальных значений (37–40%, 9–10%, соответственно), что свидетельствует, по-видимому, об активации этих важнейших клеток иммунной системы и подтверждается другими авторами [4–6]. Положительная тенденция наблюдалась и со стороны периферической крови: снижение лейкоцитоза, палочкоядерных нейтрофилов и СОЭ. Приходили к норме и биомаркеры (С-реактивный белок, прокальцитонин) и др. показатели воспаления. Ни в одном случае при использовании комплексной терапии не было отмечено ни местных, ни общих побочных реакций, связанных с применением левофлоксацина и ПО. Двум тяжёлым больным с диабетической стопой левофлоксацин сочетался с внутривенным введением пентаглобина по 2,5 г два раза в неделю. Суммарная доза составила — 15,0–17,5 г. Пентаглобин

хорошо переносился больными. Однако малое количество наблюдений не позволяет более детально аргументировать первые положительные клинические результаты использования пентаглобина у больных с диабетической стопой. Важнейшей стратегией в борьбе с ангиопатией и невропатией является профилактика. Необходимо исключить факторы риска (курение), проводить коррекцию гипертензии, гиперлипидемии, гипергликемии. Главное условие предотвращения поражения нижних конечностей — компенсация сахарного диабета, которая осуществлялась инсулином длительного действия — лантусом.

Заключение

Анализ 169 штаммов, выделенных из раневого дефекта больных сахарным диабетом, показал, что видовой состав не был однородным. Лидирующими патогенами среди грамположительных микроорганизмов были стафилококки, среди грамотрицательных бактерий доминировали *E.coli* и *P.aeruginosa*. Все штаммы микроорганизмов были чувствительны к левофлоксацину и моксифлоксацину, кроме *Acinetobacter* sp. ($n=2$), которые обладали резистентностью к левофлоксацину (*in vitro*). Выбранная схема внутриартериального введения левофлоксацина (500 мг/сут) и полиоксидония (12 мг/сут) больным с диабетической стопой оказалась эффективной. Антибиотик хорошо проникал в клетки и межклеточное пространство, что обеспечивало высокие концентрации в очаге инфекции, значительно превышая значение МПК для чувствительных видов бактерий. Следует отметить индуктивный эффект полиоксидония на клеточный состав макрофагального звена. Во всех клинических наблюдениях отмечалась позитивная динамика в виде стихания инфекционно-воспалительного процесса, очищения раны от гнойно-некротического субстрата, активизации процессов эпителизации и «закрытия» раневого дефекта у больных с диабетической стопой.

ЛИТЕРАТУРА

- Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. — М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2011. — 808 с. / *Sakharnyj diabet: diagnostika, lechenie, profilaktika*. Pod red. I.I. Dedova, M.V. Shestakovoj. — М.: ООО «Izdatel'stvo «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo», 2011; 808. [in Russian]
- Анциферов М.Б., Галстян Г.Р., Миленкая Т.М. Методические рекомендации. Эндокринология. Осложнения сахарного диабета (Клиника, диагностика, лечение, профилактика). М.: 1995. — 21 с. / *Antsiferov M.B., Galstyan G.R., Milen'kaya T.M. Metodicheskie rekomendatsii. Endokrinologiya. Oslozhneniya sakharnogo diabeta* (Klinika, diagnostika, lechenie, profilaktika). М.: 1995; 21. [in Russian]
- Удовиченко О.В., Токмакова А.Ю., Анциферов М.Б. и др. Клинико-морфологические характеристики репарации тканей у больных с синдромом диабетической стопы. Сахарный диабет. — 2001. — № 2. — С. 20–23. / *Udovichenko O.V., Tokmakova A.Yu., Antsiferov M.B. i dr. Kliniko-morfologicheskie kharakteristiki reparatsii tkanej u bol'nykh s sindromom diabeticheskoy stopy*. *Sakharnyj Diabet* 2001; 2: 20–23. [in Russian]
- Зеленина Т.А., Земляной А.Б., Глазанова Т.В. Применение препарата полиоксидоний в комплексном лечении синдрома диабетической стопы. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. — 2014. — № 10. — С. 113–117. / *Zelenina T.A., Zemlyanoy A.B., Glazanova T.V. Primenenie preparata polioksidonij v kompleksnom lechenii sindroma diabeticheskoy stopy*. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova* 2014; 10: 113–117. [in Russian]
- Елесевиц Р.В., Липин А.Н., Рухляда Н.В., Соловьев И.А. Иммунотропная терапия в составе комплексного лечения больных с синдромом диабетической стопы. Кубанский научный медицинский вестник. — 2015. — № 3 (152). — С. 49–54. / *Elsevich R.V., Lipin A.N., Rukhlyada N.V., Solov'ev I.A. Immunotropnaya terapiya v sostave kompleksnogo lecheniya bol'nykh s sindromom diabeticheskoy stopy*. *Kubanskij Nauchnyj Meditsinskij Vestnik* 2015; 3 (152): 49–54. [in Russian]
- Соколова В.И., Сычев Д.А., Бабарина М.Б., Васильева Е.И. Диабетическая стопа: возможности антибактериальной и антиоксидантной терапии. Антибиотики и химиотер. — 2018. — Т. 63. — № 5–6. — С. 10–15. / *Sokolova V.I., Sychev D.A., Babarina M.B., Vasil'eva E.I. Diabeticheskaya stopa: vozmozhnosti antibakterial'noj i antioksidantnoj terapii*. *Antibiotiki i Khimioter* 2018; 63: 5–6: 10–15.
- Савельев В.С., Кошкин В.М., Каралкин А.В. Патогенез и консервативное лечение тяжёлых стадий облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей. Медицинское информационное агентство. М.: 2010. — 214 с. / *Savel'ev V.S., Koshkin V.M., Karalkin A.V. Patogenez i konservativnoe lechenie tyazhelykh stadij obliteriruyushchego ateroskleroza arterij nizhnikh konechnostej*. *Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo*. М.: 2010; 214.

8. Ефименко Н.А., Гучев И.А., Сидоренко С.И. Инфекции в хирургии. Фармакотерапия и профилактика. Смоленск; 2004. — 295 с. / *Efimenko N.A., Guchev I.A., Sidorenko S.I. Infektsii v khirurgii. Farmakoterapiya i profilaktika. Smolensk; 2004; 295.*
9. Раны и раневая инфекция. Под редакцией академика АМН СССР, проф. М.И. Кузина и проф. Костюченко Б.М. М.: Медицина, 1981. — 687 с. / *Rany i ranevaya infektsiya. Pod redaktsiej akademika AMN SSSR, prof. M.I. Kuzina i prof. Kostjuchenok B.M. M.: Meditsina, 1981; 687.*
10. *Stulberg D.L., Penrod M.A., Blatny R.A. Common bacterial skin infections. Am Fam Physician 2002; 66 (1): 119–124.*
11. Липатов Е.И., Комарова Е.А., Хрупкий В.И., Черкасов Ю.Е., Мирская М.А., Дехисси Е.И. Характеристика возбудителей у пациентов с карбункулами и особенности антибактериальной химиотерапии. Антибиотики и химиотер. — 2019. — Т. 64. — № 5–6. — С. 39–43. / *Lipatov E.I., Komarova E.A., Khрупкий V.I., Cherkasov Ju.E., Mirskaya M.A., Dekhissi E.I. Kharakteristika vozбудitelej u patsientov s karbunkulami i osobennosti antibakterial'noj khimioterapii. Antibiotiki i Khimioter 2019; 64: 5–6: 39–43. [in Russian]*
12. Зайцев А.А. Левофлоксацин в лечении хирургических и генерализованных инфекций. Инфекции в хирургии. — 2004. — № 2 (1). — С. 23–26. / *Zajcev A.A. Levofloksatsin v lechenii khirurgicheskikh i generalizovannykh infektsij. Infektsii v Khirurgii 2004; 2 (1): 23–26. [in Russian]*
13. *Geerlings S.E., Hoepelman A.I. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus [DM]. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26: 3–4: 259–265.*
14. Земляной А.Б., Юсупов И.А., Кисляков В.А. Состояние цитокиновой системы при гнойно-некротических и рецидивирующих гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы и возможности иммуномодуляции. Трудный пациент. — 2011. — № 10. — С. 1–8. / *Zemlyanoy A.B., Jyusupov I.A., Kislyakov V.A. Sostoyanie tsitokinovoj sistemy pri gnojno-nekroticheskikh i retsidiviruyushchikh gnojno-nekroticheskikh oslozhneniyakh sindroma diabetichejskoj stopy i vozmozhnosti immunomodulyatsii. Trudnyj patsient 2011; 10: 1–8. [in Russian]*
15. Пинегин Б.В., Сараф А.С. Механизм действия и клиническое применение отечественного иммуномодулятора полиоксидония. М.: 2001. — 110 с. / *Pinegin B.V., Saraf A.S. Mekhanizm dejstviya i klinicheskoe primenenie otechestvennogo immunomodulyatora polioksidoniya. M.: 2001; 110. [in Russian]*
16. *Clebak R.T., Malone M.A. Skin infections. Prime Care. 2018; 45: 3: 433–454.*
17. Латышева Т.В., Пинегин Б.В. Клиническая и иммунологическая эффективность полиоксидония при иммунодефицитных состояниях. Механизм действия и клиническое применение отечественного иммуномодулятора полиоксидония. М.: 2001. — 19 с. / *Latysheva T.V., Pinegin B.V. Klinicheskaya i immunologicheskaya effektivnost' polioksidoniya pri immunodefitsitnykh sostoyaniyakh. Mekhanizm dejstviya i klinicheskoe primenenie otechestvennogo immunomodulyatora polioksidoniya. M.: 2001; 19.*
18. Мечников И.И. Медицинская микробиология и медицинская техника. Медгиз. 1956. — С. 97–149. / *Mechnikov I.I. Meditsinskaya mikrobiologiya i meditsinskaya tekhnika. Medgiz. 1956; 97–149. [in Russian]*
19. Соколова В.И., Шендерович В.А., Орлов В.А. Клиническое применение карбапенемов в лечении бактериальных инфекций. Учебное пособие. М.: 2007. — 19 с. / *Sokolova V.I., Shenderovich V.A., Orlov V.A. Klinicheskoe primenenie karbapenemov v lechenii bakterial'nykh infektsij. Uchebnoe posobie. M.: 2007; 19. [in Russian]*
20. Сидоренко С.В. Роль биоплёнок в патологии человека. Инфекции в хирургии. — 2004. — № 2 (3). — С. 296. / *Sidorenko S.V. Rol' bioplenok v patologii cheloveka. Infektsii v Khirurgii 2004; 2 (3): 296. [in Russian]*
21. Лямин А.В., Боткин Е.А., Жестков А.В. Проблемы в медицине, связанные с бактериальными плёнками. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2012. — Т. 4. — № 2. — С. 68–75. / *Lyamin A.V., Botkin E.A., Zhestkov A.V. Problemy v meditsine, svyazannye s bakterial'nymi plenkami. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya 2012; 4: 2: 68–75. [in Russian]*
22. Соколова В.И., Орлов В.А., Смирнова Л.Б. Фторхинолоны в клинической практике. Учебное пособие. — М.: 2010. — 27 с. / *Sokolova V.I., Orlov V.A., Smirnova L.B. Ftorkhinolony v klinicheskoy praktike. Uchebnoe posobie. M.: 2010; 27. [in Russian]*
23. Белобородов В.Б. Современные принципы применения левофлоксацина в лечении инфекций кожи и мягких тканей. Consilium Medicum. Хирургия. (Приложение). — 2009. — № 01. — С. 38–41. / *Beloborodov V.B. Sovremennye printsipy primeneniya levofloksatsina v lechenii infektsij kozhi i myagkikh tkanej. Consilium Medicum. Khirurgiya. (Prilozhenie). 2009; 01: 38–41. [in Russian]*
24. *Martin S.J., Zeigler D.G. The use of fluoroquinolones in the treatment of skin infections. Expert Opin Pharmacother 2004; 5 (2): 237–246.*
25. *Lipsky B.A. Evidence-based antibiotic therapy of diabetic foot infections. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26 (3–4): 267–276.*

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Соколова Валентина Ивановна — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии и терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Сычев Дмитрий Алексеевич — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, ректор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

Васильева Елена Ивановна — к. б. н., заведующая бактериологической лабораторией, Негосударственное частное учреждение здравоохранения «Научный клинический центр Открытого Акционерного Общества «Российские железные дороги», Москва

Бабарина Мария Борисовна — к. м. н., с. н. с. ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

Заволовская Лариса Ивановна — д. м. н., профессор, Москва

Патогенетическая терапия больных рецидивирующим генитальным герпесом

Л. Л. ЛОГВИНА, Д. Н. БАЙРАМ, *З. А. КАМБАЧОКОВА, Ф. В. ШАВАЕВА, З. С. КРЫМШОКАЛОВА, М. М. САРБАШЕВА, М. Х. КАРДАНОВА, К. О. ИОСИПЧУК

ФГБУ ВО «Кабардино-Балкарский Государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

Pathogenetic Therapy of Patients with Recurrent Genital Herpes

L. L. LOGVINA, D. N. BAYRAM, *Z. A. KAMBACHOKOVA, F. V. SHAVAEVA, Z. S. KRYMSHOKALOVA, M. M. SARBASHEVA, M. KH. KARDANOVA, K. O. IOSIPCHUK

Kabardino-Balkarian State University named after H. M. Berbekov, Nalchik

Проведена оценка эффективности аминоталгидрида в комплексном лечении больных рецидивирующим генитальным герпесом. Эффективность препарата оценивали по клиническим, биохимическим и иммунологическим критериям. Включение АФГ в комплексную терапию пациентов с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией приводило к более раннему купированию клинических проявлений болезни, увеличению межрецидивного периода, снижению в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов, повышению содержания компонентов антиоксидантной защиты и коррекции иммунологических нарушений.

Ключевые слова: генитальный герпес, иммунитет, аминоталгидрид.

Evaluation of the effectiveness of aminophthalhydrazide in the complex treatment of patients with recurrent genital herpes was carried out. The efficacy of the drug was assessed by clinical, biochemical, and immunological criteria. The inclusion of aminophthalhydrazide in the complex therapy of patients with recurrent herpesvirus infection led to an earlier relief of clinical manifestations of the disease, an increase in the relapse period, a decrease in lipid peroxidation products in the blood plasma, an increase in the content of antioxidant defense components, and correction of immunological disorders.

Keywords: genital herpes, immunity, aminophthalhydrazide.

Введение

Герпесвирусные инфекции (ГИ) являются одними из самых распространённых вирусных инфекций человека и представляют собой важную медико-социальную проблему, так как включают вирусные заболевания, вызываемые широко распространёнными представителями семейства *Herpesviridae*. Герпесвирусы широко распространены в человеческой популяции, они способны поражать практически все органы и системы организма хозяина, вызывая латентную, острую и хроническую формы инфекции [1–4]. Инфицированность вирусом простого герпеса (ВПГ) и обусловленная им заболеваемость из года в год растут, опережая скорость прироста населения Земли. В России заболеваемость генитальным герпесом в 2015 г. составила 13,5 случая на 100 тыс. населения, у лиц в возрасте 15–17 лет — 9,4 случая на 100 тыс. населения, а в возрасте

старше 18 лет — 16,4 случая на 100 тыс. населения. Согласно данным ВОЗ от 2015 г., в мире 536 млн инфицированных ВПГ 2 типа и 3,7 млрд инфицированных ВПГ 1 типа (67% населения). Самая высокая заболеваемость генитальным герпесом регистрируется в возрастной группе 20–29 лет, а второй пик заболеваемости приходится на возраст 35–40 лет [4–7].

Возбудителем генитального герпеса является ВПГ, облигатный внутриклеточный паразит, принадлежащий к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Alphaherpesvirinae*, виду ВПГ. Данный вирус обладает пантропизмом (дерматонейротропный), т. е. способностью присоединяться к клеткам кожи, слизистых оболочек, центральной и периферической нервной системы, печени, эндотелию сосудов, клеткам крови: Т-лимфоцитам, тромбоцитам, эритроцитам. Герпетическую природу имеют этиологические не расшифрованные болезни: у женщин — от банальных воспалительных заболеваний до невозможности забеременеть и выносить плод, у мужчин — простатиты, уретриты и другие инфекции [8, 9]. В ассоциации с другими возбудите-

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: e-mail: k.zareta.7@mail.ru

лями (папилломавирусами, цитомегаловирусами, хламидиями и микоплазмами) ВПГ-2, возможно, оказывает роль в развитии неопластических процессов у человека, в частности рака шейки матки и рака предстательной железы [10–12].

Рецидивирующее течение герпесвирусных заболеваний, особенно генитальной локализации, представляет серьёзную как медицинскую, так и психосоциальную проблему, существенно ухудшая качество жизни пациента [13].

Не менее важное значение имеет и тот факт, что активные проявления герпеса сопровождаются нарушением целостности защитного кожно-слизистого барьера, являются входными воротами для патогенных агентов, в том числе ВИЧ, а при наличии ВИЧ-позитивного статуса служат дополнительным фактором инфицирования лиц ближнего окружения. Установлено, что вирусы герпеса могут активировать геном вируса иммунодефицита человека, находящегося в стадии провируса, и являются кофактором прогрессирования ВИЧ-инфекции. Поэтому герпесвирусная инфекция является одной из СПИД-индикаторных инфекций [14, 15].

Клинический исход первичной герпесвирусной инфекции в значительной мере определяется иммунным статусом организма. В то же время следует отметить, что характер патологических изменений в организме больных герпесом в значительной мере обусловлен возможностью интеграции генома вируса в геном клетки хозяина. Это способствует пожизненной персистенции герпесвируса в организме человека и обуславливает изменения клеточного и гуморального иммунитета. Более того, сегодня герпесвирусные инфекции рассматриваются как инфекционная (приобретённая) болезнь иммунной системы, при которой длительная персистенция вируса в ряде случаев сопровождается продуктивной инфекцией герпесвирусов практически во всех клетках иммунной системы, что проявляется их функциональной недостаточностью и способствует формированию иммунодефицита. Герпесвирусы не только персистируют, но и репродуцируются в клетках иммунной системы, обуславливая гибель или снижение функциональной активности этих клеток, что способствует развитию вторичных иммунодефицитных состояний, поддерживая длительную персистенцию. Таким образом, возникает своеобразный «порочный круг». Сохраняющиеся в течение всей жизни вируснейтрализующие антитела, хотя и препятствуют распространению, но не предупреждают развитие рецидивов [1, 9, 10]. В условиях ослабленного иммунологического контроля не только становится невозможной полная элиминация внутриклеточно расположенного вируса, но и создаются благоприятные условия для распространения вируса от клетки по межклеточным мостикам или экстра-

целлюлярным путём. Нарушения в иммунном статусе сохраняются как в фазе рецидива, так и в фазе ремиссии, что необходимо учитывать при лечении.

Согласно современным представлениям, основным патогенетическим фактором многих заболеваний и патологических состояний, сопровождающихся нарушением биологических барьеров клеточных мембран, является активация свободнорадикальных окислительных реакций. Изменение активности этого процесса приводит к нарушению функции клетки и, как следствие, к развитию патологии [16, 17]. Баланс процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантных защитных реакций в значительной степени определяет стабильность гомеостаза, а также характер и выраженность воспалительных заболеваний. В результате увеличения активности окислительных процессов и /или расстройств антиоксидантной защиты в организме накапливаются токсичные продукты, что является одной из причин серьёзных метаболических нарушений, изменений иммунного статуса, гормональных сдвигов и, в конечном итоге, прогрессирование заболевания [17]. Рецидивирующее течение заболевания, онкогенность, связь с перинатальной патологией новорождённого, а также отсутствие методов эффективного лечения указывают на важность проблемы генитального герпеса.

Среди многих проблем, связанных с ВПГ, особого внимания заслуживает вопрос лечения рецидивов и профилактики обострений герпесвирусной инфекции. Его актуальность, в связи с увеличением степени проявлений вирусного процесса, всё более возрастает. Однако успешная терапия невозможна без понимания патогенеза заболевания, что не раз подчёркивали многие исследователи. Именно его расшифровка является ключом к решению самой важной практической задачи, стоящей перед клиницистом, в лечении герпесвирусной инфекции. Учитывая, что при герпесе, как и при других хронических заболеваниях с длительной персистенцией вируса, развиваются иммунодефицитные состояния, обусловленные недостаточностью различных звеньев иммунной системы, для повышения эффективности проводимого лечения в схемы терапии необходимо включать иммунобиологические препараты, способствующие коррекции иммунологического статуса больного, а также патогенетические средства, облегчающие состояние пациента и способствующие более действенному применению вышеперечисленных лекарств.

Одновременное использование препаратов с различными механизмами действия позволяет достичь большей эффективности, чем при монотерапии. Нами проведена оценка показателей перекисидантной, антиоксидантной и иммунной системы у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией, вызванной ВПГ-1/2 в зависимости от вида терапии для оценки антиоксидантной и им-

мунотропной эффективности отечественного иммуномодулятора — аминоксидант (АФГ).

АФГ обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим и антиоксидантным действием. Его основные фармакологические эффекты обусловлены, способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов. Препарат обратимо, на 6–8 ч, ингибирует избыточную продукцию нитросоединений, активных форм кислорода и других противовоспалительных факторов, определяющих степень местных и общих воспалительных реакций и выраженность интоксикации. Нормализация функционального состояния макрофагов приводит к снижению аутоагрессии и восстановлению функции Т-лимфоцитов. Одновременно препарат стимулирует микробицидную систему нейтрофильных гранулоцитов, ускоряет фагоцитоз и повышает неспецифическую резистентность организма к инфекционным заболеваниям [18]. Антиоксидантное действие реализуется за счёт уменьшения потребления кислорода гиперактивированными макрофагами с последующим снижением генерации свободных кислородных радикалов [19].

С учётом этих свойств была поставлена цель, определить эффективность АФГ в комплексном лечении больных рецидивирующим генитальным герпесом.

Материал и методы

Были обследованы 60 больных с рецидивирующим генитальным герпесом. Для определения эффективности АФГ из числа больных подобраны 2 группы, равнозначные и сопоставимые по возрасту, форме течения и тяжести инфекционного процесса. Первая (контрольная) группа — 30 больных, получавшие базисную терапию, и вторая группа — 30 пациентов, которые на фоне базисной терапии получали АФГ. АФГ назначали больным по 100 мг 1 раз в день в течение 5 сут, с последующим введением препарата по 100 мг один раз в 2 дня, курс — 15 инъекций.

Все больные (15 женщин и 15 мужчин) были в возрасте 20–45 лет. Частота рецидивов герпесвирусной инфекции составляла 6–8 рецидивов в год, длительность заболевания от 1 года до 8 лет. Эффективность препарата оценивали по клиническим, биохимическим и иммунологическим критериям.

Результаты исследования

В результате клинических наблюдений у больных получавших АФГ выявлено сокращение продолжительности общеинтоксикационного синдрома, субъективных симптомов (боль, зуд, жжение), признаков воспаления (отёк, гиперемия) по сравнению с контрольной группой. Повидимому, эти эффекты АФГ связаны с его противовоспалительным действием. В целом на фоне АФГ происходило укорочение сроков рецидива в два раза. В то же время продолжительность ремиссии стала более значительной на фоне лечения АФГ, чем в контрольной группе.

Учитывая значительное усиление свободно-радикальных процессов у больных герпесвирусной инфекцией, вызванной ВПГ-1/2, было изучено влияние АФГ на прооксидантную и антиоксидантную систему у этой категории больных. Клиническая эффективность препарата коррелировала с его способностью корректировать избыточные окислительные процессы.

В группе больных, получавших АФГ, начиная с периода угасания клинических проявлений заболевания, концентрация продуктов перекисного окисления липидов (МДА) была ниже, чем у пациентов, которые получали только базис-терапию. В период ремиссии средний уровень МДА возвращался к нормальным значениям только в группе больных, получавших АФГ. Более того, у этих больных отмечена тенденция к снижению показателей спонтанного НСТ-теста в острую и подострую фазу заболевания с полной нормализацией в период ремиссии (табл. 1).

Таблица 1. Показатели про- и антиоксидантных систем у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией в зависимости от метода лечения

Показатель	Период исследования	Больные, получавшие базисную терапию			Больные, получавшие базисную терапию + АФГ			
		n	$\bar{X} \pm m$	p	n	$\bar{X} \pm m$	p	p ⁴
Малоновый диальдегид	Здоровые	40	1,3±0,07	—	40	1,3±0,07	—	—
	I	30	3,7±0,08	<0,001	30	3,9±0,18	<0,001	>0,05
	II	30	3,1±0,07	<0,001	30	2,8±0,07	<0,001	<0,01
	III	30	2,3±0,08	<0,001	30	1,5±0,08	>0,05	<0,001
НСТ-тест	Здоровые	40	13±0,6	—	40	13±0,6	—	—
	I	30	37±2,2	<0,001	30	36±2,1	<0,001	>0,05
	II	30	25±1,3	<0,001	30	21±1,8	<0,001	>0,05
	III	30	17±1,4	<0,01	30	15±1,3	>0,05	>0,05
Церулоплазмин	Здоровые	40	406±6,2	—	40	406±6,2	—	—
	I	30	305±5,6	<0,001	30	309±6,0	<0,001	>0,05
	II	30	343±4,7	<0,001	30	363±6,4	<0,001	<0,001
	III	30	374±6,8	<0,001	30	393±4,3	>0,05	<0,001
Каталаза эритроцитов	Здоровые	40	66,7±1,2	—	40	66,7±1,2	—	—
	I	30	52,4±0,90	<0,001	30	54,7±1,48	<0,001	>0,05
	II	30	56,4±0,86	<0,001	30	57,6±1,30	<0,001	>0,05
	III	30	61,1±0,77	<0,001	30	63,7±1,80	<0,05	>0,05

Примечание. Здесь и в табл. 2: p — достоверность отличия от нормальных показателей; p⁴ — достоверность отличия от группы больных, получавших стандартную базисную терапию.

Таблица 2. Показатели клеточного иммунитета у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией в зависимости от метода лечения

Показатель	Период исследования	Больные, получавшие базисную терапию			Больные, получавшие базисную терапию + АФГ			
		n	$\bar{X} \pm m$	p	n	$\bar{X} \pm m$	p	p ⁴
Тл CD3+	Здоровые	40	61±1,1	—	40	61±1,1	—	—
	I	30	51±1,7	<0,001	30	53±1,6	<0,001	>0,05
	II	30	55±1,6	<0,001	30	58±1,5	>0,05	>0,05
	III	30	59±1,3	>0,05	30	61±1,1	>0,05	>0,05
Тх CD4+	Здоровые	40	38±0,5	—	40	38±0,5	—	—
	I	30	30±1,0	<0,001	30	31±1,3	<0,001	>0,05
	II	30	33±1,1	<0,001	30	35±1,2	<0,05	>0,05
	III	30	36±1,3	>0,05	30	38±1,1	>0,05	>0,05
Тс CD8+	Здоровые	40	17±1,1	—	40	17±1,1	—	—
	I	30	23±0,9	<0,001	30	22±0,8	<0,001	—
	II	30	21±0,8	<0,01	30	20±1,0	<0,01	>0,05
	III	30	19±1,0	>0,05	30	18±0,9	>0,05	>0,05
ИРИ	Здоровые	40	2,1±0,03	—	40	2,1±0,03	—	—
	I	30	1,7±0,05	<0,001	30	1,8±0,04	<0,001	>0,05
	II	30	1,9±0,04	<0,01	30	2,0±0,05	>0,05	>0,05
	III	30	2,0±0,04	>0,05	30	2,1±0,06	>0,05	>0,05

У больных, получавших АФГ, снижение содержания антиоксидантных компонентов крови (ЦП и КЭ) в период рецидива было выражено меньше, чем в контрольной группе. Курс инъекций АФГ приводил к нормализации показателей антиоксидантной системы в период ремиссии (см. табл. 1).

Мы полагаем, что АФГ-индуцированное снижение уровня МДА в плазме крови с одновременным нарастанием содержания ЦП и КЭ обусловило выраженную клиническую эффективность препарата у больных ВПГ-1/2-инфекции.

Таким образом, применение антиоксидантного препарата АФГ в комплексной терапии, способствующего снижению в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида) во всех клинических группах с одновременным статистически значимым нарастанием активности церулоплазмينا, каталазы эритроцитов, является целесообразным у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией.

Ведущая роль в течении герпесвирусной инфекции принадлежит состоянию иммунной системы больного, резервным возможностям организма [1, 2, 8–10]. Проведённые исследования показывают, что у больных рецидивирующей герпесвирусной инфекцией, вызванной вирусом простого герпеса определяется иммунная недостаточность, о чём свидетельствуют выраженная Т-лимфоцитопения у большинства больных, снижение содержания CD4+ в 75%, умеренное повышение уровня CD8+ у 67% больных, относительное увеличение количества В-лимфоци-

тов в фазу рецидива у 79% больных (табл. 2). Снижение ИРИ достоверно у 59% больных, наблюдается значимое повышение ЦИК у 81% больных. В основе любого воспалительного процесса лежат изменения в иммунном ответе, которые являются одной из причин хронического течения заболевания.

Важно отметить, что помимо коррекции расстройств окислительных процессов и антиоксидантной защиты, на фоне лечения АФГ отмечены позитивные иммунологические сдвиги (см. табл. 2).

Содержание CD4+ лимфоцитов достоверно повысилось более значимо в группе с АФГ, содержание CD8+ лимфоцитов на фоне лечения достоверно снизилось у большинства больных на фоне лечения АФГ у 68% больных, а в группе стандартной терапии — у 45% больных. Повышение уровня CD4+ клеток и снижение содержания CD8+ лимфоцитов привело к повышению иммунорегуляторного индекса.

Нежелательных явлений, связанных с приёмом АФГ, у обследуемых больных не обнаружено по сравнению с контрольной группой

Таким образом, АФГ корригировал метаболические изменения, нарушения клеточного и гуморального иммунного ответа у больных рецидивирующим генитальным герпесом. Высокая клиническая эффективность АФГ и его способность корригировать метаболические и иммунные расстройства говорят о целесообразности включения этого препарата в комплексную терапию больных с рецидивирующим генитальным герпесом.

ЛИТЕРАТУРА

- Исаков Д.В., Исаков В.А. Новые аспекты патогенеза простого герпеса. Вестник гематологии. — 2016. — Т. XXII. — № 4. — С. 13–18. / Isakov D.V., Isakov V.A. Novye aspekty patogeneza prostogo herpesa. Vestnik Gematologii 2016; XXII: 4: 13–18. [in Russian]
- Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека. 2-е изд. перераб. доп.: руководство для врачей. Под ред. В.А. Исакова. СПб.: СпецЛит, 2013. / Isakov V.A., Arkhipova E.I., Isakov D.V. Gerpesvirusnye infektsii cheloveka. 2-e izd. pererab. dop.: rukovodstvo dlya vrachej. Pod red. V.A. Isakova. SPb.: SpetsLit, 2013. [in Russian]

- Нагоев Б.С., Камачокова З.А. Цитокиновый статус у больных герпесвирусными инфекциями. Инфекционные болезни. — 2011. — Т. 9. — № 1. — С. 19–22. / Nagoev B.S., Kamachokova Z.A. Tsitokinovyy status u bol'nykh herpesvirusnymi infektsiyami. Infektsionnye Bolezni 2011; 9: 1: 19–22. [in Russian]
- Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Марданлы С.С., Ротанов С.В. Распространённость вирусов герпеса человека среди контингентов различного возраста. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2019. — № 2. — С. 50–55. / Mardanly S.G., Arsen'eva V.A., Mardanly S.S., Rotanov S.V. Rasprostranennost' virusov herpesa cheloveka sredi kontingentov razlichnogo vozrasta. Zhurnal

- Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii 2019; 2: 50–55. [in Russian]
5. Документ ВОЗ. Глобальная стратегия профилактики инфекций, передаваемых половым путем, и борьбы с ними 2006–2015 гг. М.: 2007. / WHO document. The Global Strategy for the Prevention and Control of Sexually Transmitted Infections for 2006–2015 gg. M.: 2007. [in Russian]
 6. Ресурсы и деятельность медицинских организаций дерматовенерологического профиля. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными болезнями и болезнями кожи (Статистические материалы). М.: 2016. — 99 с, www.mednet.ru. /Resources and activities of medical dermatovenereological organizations. Incidence of sexually transmitted infections, infectious skin diseases and skin diseases (Statistical Materials). M.: 2016; 99, www.mednet.ru. [in Russian]
 7. Назарова М.Н., Павлович С.В., Некрасова М.Е. Рецидивирующий генитальный герпес: особенности диагностики и возможности современной терапии. Медицинский совет. — 2018. — № 7. — С. 74–78. / Nazarova M.N., Pavlovich S.V., Nekrasova M.E. Retsidiviruyushchij genital'nyj herpes: osobennosti diagnostiki i vozmozhnosti sovremennoj terapii. Meditsinskij Sovet 2018; 7: 74–78. [in Russian]
 8. Kambachokova Z.A., Aramisova R.M., Shogenova M.S. et al. Anti-inflammatory cytokinin's in blood serum of patients with recurrent genital herpes. Research J Pharm Biol Chem Sci 2018; 9: 6: 223–227.
 9. Камбачокова З.А. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных генитальным герпесом. Вестник Башкортостана. — 2012. — № 3. — С. 46–49. / Kambachokova Z.A. Pokazateli kletocnogo i ghumoral'nogo immuniteta u bol'nykh genital'nykh herpesom. Vestnik Bashkortostana 2012; 3: 46–49. [in Russian]
 10. Ермоленко Д.К., Исаков В.А. Иммунопатогенетические особенности тяжелых форм генитального герпеса с монотонным типом рецидивирования. Вест. Санкт-Петербург. университета. Сер. 11. — 2013. — Вып. 4. — С. 69–75. / Ermolenko D.K., Isakov V.A. Immunopatogeneticheskie osobennosti tyazhelykh form genital'nogo herpesa s monotonnym tipom retsidivirovaniya. Vest. Sankt-Peterb. Universiteta 2013.; 4 (13): 69–75. [in Russian]
 11. Исаков В.А., Ермоленко Д.К., Исаков Д.В. Перспективы терапии профилактики простого герпеса с монотонным типом рецидивирования. — Терапевтический архив. — 2011. — № 11. — С. 44–47. / Isakov V.A., Ermolenko D.K., Isakov D.V. Perspektivy terapii profilaktiki prostogo herpesa s monotonnym tipom retsidivirovaniya. — Terapevticheskij Arkhiv 2011; 11: 44–47. [in Russian]
 12. Исаков В.А., Исаков Д.В., Айзильниекс О.В. Перспективы местной терапии больных рецидивирующей герпетической инфекцией. Инфекционные болезни. — 2017. — № 1. — С. 51–56. / Isakov V.A., Isakov D.V., Ajzsilnieks O.V. Perspektivy mestnoj terapii bol'nykh retsidiviruyushchej gerpeticheskoj Infektsionnye Bolezni 2017; 1: 51–56. [in Russian]
 13. Пестрикова Т.Ю., Юрасова Е.А., Юрасов И.В. Основные принципы ведения пациентов с генитальным герпесом. Гинекология. — 2019. Т. 21. — № 1. С. 80–85. / Pestrikova T.Jyu., Jyurasova E.A., Jyurasov I.V. Osnovnye printipy vedeniya patsientov s genital'nykh herpesom. Ginekologiya 2019; 21: 1: 80–85. [in Russian]
 14. Чеботкевич В.Н., Кайтанджан Е.Н., Волкова С.Д. и др. Герпесвирусные инфекции и проблемы инфекционной безопасности гемотрансфузий у иммуносупрессивных больных. Трансфузиология. — 2012. — Т. 13. — № 1. — С. 22–40. / Chebotkevich V.N., Kajtandzhan E.N., Volkova S.D. i dr. Gerpessvirusnye infektsii i problemy infektsionnoy bezopasnosti gemotransfuzij u immunosuppressivnykh bol'nykh. Transfuziologiya 2012; 13: 1: 22–40. [in Russian]
 15. Сенчукова С.Р. Патологический микробиоценоз у пациентов с рецидивирующим генитальным герпесом. — Фундаментальные исследования. — 2013. — № 9–1. — С. 127–131. / Senchukova S.R. Patologicheskij mikrobiotsenoz u patsientov s retsidiviruyushchim genital'nykh herpesom. — Fundamental'nye Issledovaniya 2013; 9–1: 127–131. [in Russian]
 16. Меньщикова Е.Б. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2016. — 556 с. / Men'shchikova E.B. i dr. Okislitel'nyj stress. Prooksidanty i antioksidanty. M.: Slovo, 2016; 556. [in Russian]
 17. Камбачокова З.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных рецидивирующим генитальным герпесом. Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3. — № 2. — С. 63–67. / Kambachokova Z.A. Sostoyanie protsessov perekisnogo okisleniya lipidov i antioksidantnoj sistemy u bol'nykh retsidiviruyushchim genital'nykh herpesom. Zhurnal Infektologii 2011; 3: 2: 63–67. [in Russian]
 18. Сологуб Т.В., Осинцев О.Ю. Применение иммуномодулирующего препарата Галавит в комплексной терапии гриппа. Клиницист. — 2012. — № 2. — С. 76–80. / Sologub T.V., Osinovets O.Jyu. Primenenie immunomoduliruyushchego preparata Galavit v kompleksnoj terapii grippa. Klinitsist 2012; 2: 76–80. [in Russian]
 19. Свистушкин В.М., Леонова М.В., Никуфорова Г.Н., Покозий И.Ю. Применение иммуномодулятора Галавит в лечении хронического тонзиллита. Российский медицинский журнал. — 2015. — № 6. — С. 342–345. / Svistushkin V.M., Leonova M.V., Nikiforova G.N., Pokozij I.Jyu. Primenenie immunomodulyatora Galavit v lechenii khronicheskogo tonzillita. Rossijskij Meditsinskij Zhurnal 2015; 6: 342–345. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Логвина Лариса Леонтьевна — доцент кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Байрам Дариаль Набиль врач общей практики;

Камбачокова Зарета Анатольевна — профессор кафедры госпитальной терапии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Шаваева Фатима Валерьевна — заместитель декана медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Крымиокалова Зарема Султановна — профессор кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Сарбашева Марзият Магомедовна — доцент кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Карданова Мадина Хабиловна — доцент кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Иосипчук Карина Олеговна — ассистент кафедры детских болезней, акушерства и гинекологии медицинского факультета ФГБУ ВО Кабардино-Балкарского Государственного университета им. Х. М. Бербекова, Нальчик

Иммуногенность, переносимость и клиническая эффективность 23-валентной полисахаридной пневмококковой вакцины у больных системной красной волчанкой

*Г. М. ТАРАСОВА, Б. С. БЕЛОВ, М. В. ЧЕРКАСОВА, С. К. СОЛОВЬЕВ,
Е. А. АСЕЕВА, Т. М. РЕШЕТНЯК, Т. В. ПОПКОВА, Н. М. КОШЕЛЕВА

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва

Immunogenicity, Tolerability, and Clinical Effectiveness of 23-Valent Polysaccharide Pneumococcal Vaccine in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

*G. M. TARASOVA, B. S. BELOV, M. V. CHERKASOVA, S. K. SOLOVIEV,
E. A. ASEIEVA, T. M. RESHETNYAK, T. V. POPKOVA, N. M. KOSHELEVA

Scientific Research Institute of Rheumatology named after V. A. Nasonova of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Цель исследования — изучение иммуногенности, переносимости и клинической эффективности 23-валентной полисахаридной пневмококковой вакцины (ППВ-23) у больных системной красной волчанкой (СКВ). **Материал и методы.** В исследование включен 61 пациент с достоверным диагнозом СКВ, из них женщин — 53, мужчин — 8, в возрасте от 19 до 68 лет. Активность заболевания на момент вакцинации: у 9 пациентов — высокая, у 13 — средняя, у 34 — низкая, у 5 — ремиссия. Проводимая терапия: 59 пациентов получали глюкокортикоиды (ГК) 5–30 мг/сут в пересчете на преднизолон, 45 — гидроксихлорохин (ГХ), 33 — цитостатики (ЦС), 22 — генно-инженерные биологические препараты (ГИБП): 11 — ритуксимаб (РТМ), 10 — белимуаб (БЛМ). 23-валентную полисахаридную пневмококковую вакцину в количестве 0,5 мл (1 доза) вводили подкожно. Сроки наблюдения: 9 пациентов — в течение 3 мес., 52 — в течение 1 года после вакцинации. Больные обследовались до вакцинации, через 1, 3 и 12 мес. после вакцинации. **Результаты и обсуждение.** Через год наблюдения число «ответчиков» на вакцинацию составило 61,5%, «неответчиков» — 38,5%. Отмечено снижение вакцинального ответа у пациентов, получающих ГИБП, по сравнению с пациентами без ГИБП (40 и 75%, соответственно), $p=0,02$. Различий на фоне терапии РТМ и БЛМ не выявлено. Прием ГК в дозе, превышающей 10 мг/сут не приводил к более значимому снижению вакцинального ответа, чем у других пациентов. У 50,8% пациентов отмечались стандартные местные вакцинальные реакции легкой и средней степени выраженности, у 1 (1,6%) — общая реакция легкой степени выраженности, у 1 (1,6%) — гиперергическая реакция по типу феномена Артюса, симптомы которой были купированы за 7 дней. За период наблюдения (1 год) не было зарегистрировано ни одного случая обострения СКВ, достоверно связанного с проведенной вакцинацией, а также не было выявлено новых аутоиммунных феноменов. Отмечена клиническая положительная динамика в виде уменьшения числа пневмоний, эпизодов острого и обострения хронического бронхита, синуситов. **Заключение.** Показана достаточная иммуногенность, хорошая переносимость и клиническая эффективность ППВ-23 у больных СКВ, в т.ч. получающих комбинированную иммуносупрессивную терапию. Необходимы дальнейшие исследования на больших выборках больных с длительными сроками наблюдения.

Ключевые слова: системная красная волчанка, пневмония, вакцинация, 23-валентная полисахаридная пневмококковая вакцина, иммуносупрессивная терапия, генно-инженерные биологические препараты.

The aim of the work is to study the immunogenicity, tolerability, and clinical efficacy of the 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine (PPV-23) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). **Material and methods.** The study included 61 patients with a confirmed diagnosis of SLE, including 53 women, 8 men, aged 19 to 68 years. The disease activity at the time of vaccination: in 9 patients — high, in 13 — medium, in 34 — low, in 5 — remission. Therapy outline: 59 patients received glucocorticoids (GC) 5–30 mg/day in terms of prednisolone, 45 — hydroxychloroquine (GC), 33 — cytostatics (CS), 22 — genetically engineered biological drugs (GEBD): 11 — rituximab (RTM), 10 — belimumab (BLM). 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine in an amount of 0.5 ml (1 dose) was injected subcutaneously. Follow-up period: 9 patients — 3 months, 52 — 1 year after the vaccination. Patients were examined before vaccination, as well as in 1, 3, and 12 months after the vaccination. **Results and discussion.** After a year of observation, the number of «responders» to vaccination was 61.5%, «non-responders» — 38.5%. There was a decreased response to vaccine in patients receiving GEBD compared with patients who did not receive GEBD (40% and 75%, respectively), $p=0.02$. No differences were found against the background of RTM and BLM therapy. Administering GC in a dose exceeding 10 mg/day did not lead to a more significant decrease in response to vaccine compared to other patients. Standard local vaccination reactions of mild to moderate severity were noted in 50.8% of the patients, general reaction of mild severity — in 1 patient (1.6%), hyperergic Arthus-like reaction — in 1 patient (1.6%), the symptoms of which were relieved in 7 days. During the observation period (1 year), not a single case of exacerbation of SLE, reliably associated with the vaccination, was registered, and

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: e-mail: verizubgm@gmail.com

no new autoimmune phenomena were identified. Clinically positive dynamics was noted in the form of a decrease in the number of episodes of pneumonia, as well as acute and exacerbated chronic bronchitis, sinusitis. **Conclusion.** Sufficient immunogenicity, good tolerance, and clinical effectiveness of PPV-23 in patients with SLE, incl. those, who received combined immunosuppressive therapy. Further studies are needed in large groups of patients with long follow-up periods.

Keywords: systemic lupus erythematosus, pneumonia, vaccination, 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine, immunosuppressive therapy, genetically engineered biological drugs.

Системная красная волчанка (СКВ) — хроническое мультисистемное воспалительное заболевание аутоиммунной природы. 70–90% от общего числа пациентов составляют женщины, преимущественно репродуктивного возраста, многие из них имеют маленьких детей. Известно, что дети первых лет жизни являются основными носителями пневмококков. У взрослых частота носительства пневмококка составляет 5–7%, в то время как при проживании с детьми, она достигает 30% [1]. Практически все больные СКВ получают терапию глюкокортикоидами (ГК), многие — комбинированную иммуносупрессивную терапию, включающую ГК, гидроксихлорохин (ГХ), цитостатики (ЦС), а в последние годы — генно-инженерные биологические препараты (ГИБП), большей частью — анти-В-клеточные. К основным факторам риска развития пневмонии (Пн) при СКВ относят показатели, связанные с самим заболеванием (высокая активность, поражение лёгких в рамках СКВ, нейтропения, лимфопения, патология системы комплемента), наличие фоновых хронических заболеваний лёгких, а также проводимую иммуносупрессивную терапию [2].

В целом, инфекции при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях (ИВРЗ) как причина летального исхода занимают второе место, уступая лишь активности болезни, при этом смертность от Пн составляет 11–22%, а при СКВ — 23–27% [3–5].

Согласно рекомендациям экспертов Европейской антиревматической лиги (EULAR), иммунизация пневмококковыми вакцинами является важнейшим фактором профилактики тяжёлых респираторных инфекций у больных ИВРЗ и настоятельно рекомендуется этим пациентам [6, 7]. Вакцинация при СКВ призвана обеспечить непрерывность иммуносупрессивной терапии, уменьшение риска тяжёлых обострений и летального исхода, а также эффективна с фармакоэкономических позиций.

Цель исследования — изучение иммуногенности, переносимости и клинической эффективности 23-валентной полисахаридной пневмококковой вакцины (ППВ-23) у больных СКВ.

Материал и методы

В исследование включен 61 пациент с достоверным диагнозом СКВ, из них женщин — 53, мужчин — 8, в возрасте от 19 до 68 лет. Все больные соответствовали диагностическим критериям СКВ Американской коллегии ревматологов (ACR)

1997 г. и критериям Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC)/ACR 2012 г. [8]. Активность заболевания оценивали по индексу SLEDAI¹ 2000 [9].

Длительность заболевания составила от 9 мес. до 42 лет. Активность заболевания на момент вакцинации у 9 (15%) пациентов расценена как высокая, у 13 (21%) — средняя, у 34 (55%) — низкая, у 5 (9%) — ремиссия. Проводимая терапия была следующей: 59 пациентов получали ГК в дозе 5–30 мг/сут в пересчёте на преднизолон, 45 — ГХ, 33 — ЦС (17 — микофенолата мофетил, 4 — метотрексат, 1 — микофеноловую кислоту, 6 — азатиоприн, 5 — циклофосфамид, 1 — циклоспорин), 22 — ГИБП (10 — ритуксимаб — РТМ, 10 — белимумаб — БЛМ). РТМ вводили в дозах 500–1000 мг на курс 1 раз в 6–12 мес, БЛМ — от 400 до 720 мг ежемесячно. У одной пациентки выполнены однократные введения РТМ и БЛМ в сроки 8 и 4 мес. до вакцинации, соответственно.

23-валентную полисахаридную пневмококковую вакцину (Пневмо-23, Sanofi Pasteur, Пневмовакс, MSD) в количестве 0,5 мл (1 доза) вводили подкожно.

Сроки наблюдения после вакцинации составили более 3 мес. у 9 пациентов, более 12 мес. — у 52. Больные были обследованы исходно, через 1, 3 и 12 мес. после вакцинации. Во время визитов проводили стандартные клинические и лабораторные исследования, а так же определяли уровень антител (АТ) к *S.pneumoniae* в сыворотке крови с помощью коммерческих наборов (VaccZymeTM PCP Ig 2 (The Binding Site Ltd, Birmingham, UK). Для каждого больного определяли коэффициент вакцинального ответа (КВО), вычисляемый как отношение содержания АТ на 2-м и 3-м визитах к исходному. Имунный ответ на вакцину расценивали как достаточный, если уровни АТ как минимум в 2 раза превышали исходные на протяжении периода наблюдения.

Результаты и обсуждение

Динамику иммуногенности вакцины оценивали у 52 больных. Через 1–2 мес. после вакцинации у 37 (78,7%) пациентов отмечалось значимое (более чем в 2 раза по сравнению с исходным) повышение концентрации АТ к полисахаридам клеточной стенки *S.pneumoniae*. Через год после вакцинации значимое повышение концентрации пневмококковых АТ сохранялось у 32 (61,5%) пациентов («ответчики»). 20 (38,5%) из 52 больных расценены как «неответчики». Динамика концентрации пневмококковых АТ представлена в табл. 1.

У 9 из 20 «неответчиков» (17,3% от общего числа больных) через год имело место нарастание содержания пневмококковых АТ, однако оно было недостаточным. При этом КВО находился в диапазоне от 1 до 2.

Из 20 пациентов без адекватного вакцинального ответа 10 явились абсолютными «неответчиками», т. е. у них отсутствовало нарастание АТ на всех визитах. 6 больных из этой подгруппы получали ГИБП (3 — РТМ, 3 — БЛМ).

Таблица 1. Динамика содержания пневмококковых АТ у больных с СКВ в течение 1 года после вакцинации, $n=52$

Показатель	Исходно $n=52$	1–2 мес. $n=47$	12 мес. $n=52$
Концентрация АТ, мг/л	67 ^a	405 ^b	166,9 ^c
Ме (25; 75 процентиля)	(42,6; 105,8)	(143,5; 468,4)	(77,5; 377,4)
«ответчики» n (%)		37 (78,7%)	32 (61,5%)

Примечание. $p_{a-b}=0,000002$; $p_{a-c}=0,002$.

^a По индексу SLEDAI 2000 выделяют следующие степени активности СКВ: 0 баллов — ремиссия, 1–5 баллов — низкая, 6–10 — средняя, 11–19 — высокая, >20 — очень высокая.

Таблица 2. Динамика показателей иммунологической активности и индекса активности SLEDAI (Ме [25;75 процентиля]) до и через 12 мес. после вакцинации, $n=52$

Сроки наблюдения	Анти-ДНК <20 Ме/мл	С3 0,9–1,8 г/л	С4 0,1–0,4 г/л	SLEDAI
1-й визит (исходно)	25,9 [4,9; 83,5]	0,9 [0,8; 1,09]	0,16 [0,2; 0,2]	4 [2; 6]
2-й визит (1–2 мес.)	18,7 [4,9; 61]	0,98 [0,77; 1,17]	0,17 [0,13; 0,18]	2 [0; 4]
3-й визит (12 мес.)	26,3 [7,2; 60,7]	0,92 [0,8; 1,07]	0,17 [0,11; 0,19]	2,5 [1,5; 4]

В дальнейшем, у 52 пациентов было проанализировано влияние на вакцинальный ответ особенностей течения заболевания и характера проводимой терапии.

Возраст пациентов не оказывал значимого влияния на выраженность вакцинального ответа. В подгруппе больных в возрасте до 50 лет ($n=41$) доля «ответчиков» оставила 63,4%, а среди пациентов старше 50 лет ($n=11$) — 54,5% ($p=0,8$).

Вакцинация проводилась пациентам в период ремиссии заболевания ($n=7$), с низкой активностью ($n=28$), со средней ($n=11$) и высокой ($n=6$) активностью СКВ. Анализ вакцинального ответа в зависимости от выраженности воспалительного процесса показал, что все пациенты с высокой степенью активности явились «ответчиками» на вакцину, а наименьшее число «ответчиков» (42,9%) наблюдалось среди больных, находящихся в ремиссии. При этом доля пациентов, получавших терапию ГИБП в этих двух подгруппах, была сходной (50 и 42,9%, соответственно).

Анализ иммуногенности ППВ-23 при различных схемах иммуносупрессивной терапии позволил установить, что у пациентов, получающих ГИБП, полноценный вакцинальный ответ наблюдался значительно реже, чем у больных без ГИБП (40 и 75%, соответственно, $p=0,02$). Каких-либо различий среди больных, получавших терапию РТМ или БЛМ, не выявлено. В зависимости от проводимой комбинированной иммуносупрессивной терапии доля ответчиков на вакцину была следующей: ГК+ГХ — 71,4%, ГК+ЦС+ГХ — 75%, ГИБП+ГК+ГХ — 50%, ГИБП+ГК+ЦС+ГХ — 33%. Таким образом, по мере подключения ГИБП и нарастания выраженности иммуносупрессии наблюдали снижение вакцинального ответа. Отсутствие значимых различий, возможно объясняется малым объемом выборки.

Переносимость вакцинации оценивали у всех пациентов ($n=61$), включенных в исследование. У 28 (45,9%) больных вакцинальные реакции отсутствовали, у 31 (50,8%) — отмечались местные реакции лёгкой и средней степени выраженности (боль, припухлость, гиперемия кожи в месте инъекции вакцины), длительностью от 2 до 7 дней, у 1 (1,6%) — общая слабость в течение 1 мес., не потребовавшая дополнительных назначений. Указанные реакции по причине их типичности расценены как имеющие непосредственную связь с вакцинацией. Они были полностью обратимыми, не имели определённых ассоциаций с активностью процесса, проводимой терапией, не требовали прекращения лечения основного заболевания или назначения противодействующих мероприятий. У одной пациентки (1,6%) развилась гиперергическая реакция по типу феномена Артюса, симптомы полностью купировались в течение 7 дней на фоне применения антигистаминных препаратов и ГК местно.

Каких-либо ассоциированных с вакцинацией изменений индекса активности СКВ SLEDAI, нарастания сывороточных концентраций анти-ДНК, С3- и С4-компонентов комплемента (как основных показателей иммунологической активности СКВ), а также развития новых аутоиммунных феноменов не наблюдали (табл. 2). Отклонения лабораторных параметров функции костного мозга, печени и почек, связанные с вакцинацией, не зафиксированы.

Данные по клинической эффективности вакцинации у 52 больных представлены в табл. 3.

В течение года после вакцинации отмечено значимое уменьшение числа ИНДП по сравнению с тем же самым интервалом до вакцинации (13,5 и 44,2%, соответственно, $p=0,001$). После вакцинации не было случаев повторной пневмонии, тогда как до вакцинации она имела место у 4 (7,7%) пациентов.

Таблица 3. Респираторные инфекции у больных СКВ до и после вакцинации $n=52$

	В течение 1 г. до вакцинации		В течение 1 г. после вакцинации		<i>p</i>
	абс.	%	абс.	%	
ИВДП	10	19,2	5	9,6	0,3
ИНДП:	23	44,2	7	13,5	0,001
Пневмония,	8	15,4	3	5,8	0,2
В т.ч. повторная (2–3 эпизода)	4	6,7	0	0	
О. бронхит	10	19,2	3	5,8	0,07
Обострение. хр. бронхита	5	13,3	1	4,2	0,2

Примечание. ИНДП – инфекции нижних дыхательных путей; ИВДП – инфекции верхних дыхательных путей.

У 3 (5,8%) из 52 пациентов в течение года после вакцинации развилась пневмония нетяжёлого течения, симптомы которой купировались после 7- и 5-дневного курса пероральной антибиотикотерапии в амбулаторных условиях. 2 пациентки получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, включая ГИБП (1-БЛМ, 1-РТМ), у обоих вакцинальный ответ отсутствовал. У одной из них имелось интерстициальное поражение лёгких (в рамках СКВ), рецидивирующие бронхиты и синуситы, пневмонии в анамнезе, к тому же трудовая деятельность была связана с повышенным риском респираторных инфекций (врач-лаборант стационара). У второй пациентки пневмонии в анамнезе не отмечались, но в семье были дети, посещавшие школу. У третьей пациентки (воспитатель в детском саду) в анамнезе имелись 2 случая пневмонии. Таким образом, у данных пациентов имелись предрасполагающие факторы для развития ИНДП: анти-В-клеточная терапия с отсутствием адекватного вакцинального ответа – у 2, интерстициальное поражение лёгких – у 1, трудовая деятельность и домашнее окружение, связанные с повышенным риском вирусного/бактериального инфицирования – у 3.

Вакцинация является основным методом профилактики тяжёлых респираторных инфекций у иммунокомпрометированных лиц. Необходимость и возможность вакцинации больных с ИВРЗ, в первую очередь, для предотвращения тяжёлых инфекций НДП всё более завоёвывает умы врачей и пациентов [10–12]. По мере внедрения вакцинации в клиническую практику, становится очевидным, что пневмококковые вакцины безопасны для больных РЗ: они, в целом, хорошо переносятся, не вызывают обострения основного заболевания, не приводят к развитию новых аутоиммунных феноменов. Имеются многочисленные исследования, в том числе проводимые в ФБГНУ НИИР им. В.А. Насоновой, свидетельствующие о высокой клинической эффективности и безопасности ППВ-23 у больных с ИВРЗ [13–16].

Иммуногенность пневмококковой вакцины рассматривается как достаточная, если КВО составляет 2 и более. В общей популяции в течение 2–3 нед. после вакцинации указанные значения КВО достигаются не менее, чем у 80% вакцинированных.

В нашей группе из 52 пациентов практически все получали комбинированную иммуносупрессивную терапию, в т. ч. 20 – ГИБП. Тем не менее, значимое повышение концентрации специфических антител через 1–2 мес. после вакцинации отмечалось у 78,7% больных, а через год сохранялось у 61,5% («ответчики»). Аналогичные результаты получены другими авторами, исследовавшими иммуногенность ППВ-23 при РА и СКВ [17].

Приём ГК в средних дозах (12,5–30 мг/сут) не приводил к выраженному снижению вакцинального ответа у нашей группы пациентов (66,7% «ответчиков»). Эти данные согласуются с результатами, полученными ранее у больных РА, у которых терапия ГК не оказывала негативного влияния на показатели вакцинального ответа [13].

При терапии ГИБП полноценный вакцинальный ответ регистрировали значимо реже, чем без ГИБП ($p=0,02$). Эти данные соответствуют наблюдениям других авторов, свидетельствующих о негативном влиянии ГИБП, а именно анти-В-клеточных препаратов, на иммуногенность пневмококковых вакцин [18–22]. При сопоставлении выраженности негативного влияния РТМ и БЛМ на иммуногенность вакцины явных различий не получено.

При иммунизации ППВ-23 больных СКВ большинство исследователей отмечают отсутствие серьёзных неблагоприятных реакций, а также значимого влияния на активность болезни по шкале SLEDAI [23–25]. В нашем исследовании также не было зарегистрировано ни одного случая обострения СКВ или нового аутоиммунного феномена, достоверно связанных с проведённой вакцинацией.

За длительный период применения пневмококковых вакцин серьёзные неблагоприятные реакции, в частности анафилактические, регистрировались крайне редко. По данным многих исследований, местные вакцинальные реакции (болезненность в месте инъекции, локальные отёк и эритема) развиваются примерно у 30% пациентов [26]. Эти данные нашли своё подтверждение при проведении вакцинации ППВ-23 больных РА в ФБГНУ НИИР им. В. А. Насоновой, где частота местных вакцинальных реакций составила 35% [13]. В настоящей работе местные реакции, не сопровождавшиеся ухудшением общего состояния, наблюдались у 51% больных, что, возможно, отражает по-

вышенную активность иммунной системы при СКВ. Феномен Артюса, развившийся у одной пациентки после введения вакцины, относят к редким поствакцинальным явлениям. Эта реакция была купирована за несколько дней без каких-либо серьёзных последствий.

Основываясь на теоретических рисках обострения болезни после иммунизации у нестабильных больных с ИВРЗ, эксперты EULAR рекомендуют проводить вакцинацию в неактивную фазу заболевания [7]. Однако наличие больных СКВ со средней и высокой степенью активности (36%) на исходном этапе нашего исследования, а также отсутствие отрицательной динамики индекса SLEDAI и основных иммунологических показателей на протяжении годовичного периода наблюдения позволяют вести речь о безопасности вакцинации, выполненной не только в неактивной стадии болезни (в соответствии с рекомендациями EULAR), но и на фоне активного воспалительного процесса.

В целом, клиническая эффективность вакцинации подтверждена положительной динамикой в виде уменьшения числа пневмоний, эпизодов острого и обострения хронического бронхита, а также более лёгкого течения пневмонии (по сравнению с предыдущими) в 3 зарегистрированных

случаях. Наряду с этим многие пациенты отмечают уменьшение количества эпизодов ОРВИ после проведённой вакцинации.

Заключение

Таким образом, показана достаточная иммуногенность и клиническая эффективность ППВ-23 у больных СКВ, в т. ч. получающих комбинированную иммуносупрессивную терапию. ППВ-23 отличается хорошей переносимостью у больных СКВ. Наблюдавшиеся типичные вакцинальные реакции не влияли на течение основного заболевания и проводимую терапию. Необходимы дальнейшие исследования на больших выборках больных с длительными сроками наблюдения с целью более полной оценки клинической эффективности, иммуногенности и безопасности указанной вакцины при СКВ.

«Настоящее исследование выполнено в рамках поисковой научной темы «Технология оценки эффективности и безопасности иммунизации 23-валентной пневмококковой вакциной у пациентов с первичным и вторичным антифосфолипидным синдромом». Номер научной темы НИОКР: АААА-А20-120040190012-4»

ЛИТЕРАТУРА

1. Доступно по ссылке: <https://yaprivit.ru/diseases/pnevmonokokkovaya-infekciya>
2. Полянская М.В. Пневмония у пациентов с ревматическими заболеваниями: частота встречаемости, клиническая картина, факторы риска: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.: 2009. — 24 с. / Polyanskaya M.V. / Pneumonia in patients with rheumatic diseases: frequency of occurrence, clinical picture, risk factors: Author's abstract. Dis. ... PhD in Medicine]. Moscow; 2009. 24 p. [in Russian].
3. Tektonidou M.G., Lewandowski L.B., Hu J. et al. Survival in adults and children with systemic lupus erythematosus: a systematic review and Bayesian meta-analysis of studies from 1950 to 2016. *Ann Rheum Dis* 2017 Dec; 76 (12): 2009–2016. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211663
4. Moss K.E., Ioannou Y., Sultan S.M. et al. Outcome of a cohort of 300 patients with systemic lupus erythematosus attending a dedicated clinic for over two decades. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 409–413. doi: 10.1136/ard.61.5.409
5. Nossent J., Cices N., Kiss E. et al. Current causes of death in systemic lupus erythematosus in Europe, 2000–2004: relation to disease activity and damage accrual. *Lupus* 2007;16: 309–317. doi: 10.1177/0961203307077987
6. Van Assen S., Agmon-Levin N., Elkayam O. et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2011; 70 (3): 414–422. doi: 10.1136/ard.2010.137216
7. Furer V., Rondaan C., Heijstek M.W. et al. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2020; 79 (1): 39–52. doi:10.1136/annrheumdis-2019-215882
8. Petri M., Orbai A.M., Alarcon G.S. et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012; 64 (8): 2677–286. doi: 10.1002/art.34473.
9. Gladman D.D., Ibanez D., Urowitz M.B. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002; 29 (2): 288–291.
10. Nguyen M., Lindegaard H., Hendricks O., Friis-Moller N. Factors associated with influenza and pneumococcal vaccine uptake among rheumatoid arthritis patients in Denmark invited to participate in a pneumococcal vaccine trial (Immunovax_RA). *Scand J Rheumatol* 2017 Nov; 46 (6): 446–453. doi: 10.1080/03009742.2016.1242774
11. Loubet P., Kerneis S., Groh M. et al. Attitude, knowledge and factors associated with influenza and pneumococcal vaccine uptake in a large cohort of patients with secondary immune deficiency. *Vaccine* 2015; 33 (31): 3703–3708. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.012
12. Subesinghe S., Rutherford A.I., Ibrahim F. et al. A large two-centre study in to rates of influenza and pneumococcal vaccination and infection burden in rheumatoid arthritis in the UK. *BMC Musculoskelet Disord* 2016; 17: 322. doi: 10.1186/s12891-016-1187-4
13. Наумцева М.С., Белов Б.С., Александрова Е.Н. и др. Иммуногенность и безопасность 23-валентной полисахаридной пневмококковой вакцины у больных ревматоидным артритом: результаты двухлетнего наблюдения. Научно-практическая ревматология. — 2016. — Т. 54. — № 6. — С. 674–680. / Naumtseva M.S., Belov B.S., Aleksandrova E.N. et al. Immunogenicity and safety of 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine in patients with rheumatoid arthritis: Results of a two-year follow-up study. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya. Rheumatology Science and Practice* 2016; 54 (6): 674–680 [in Russian]. doi: 10.14412/1995-4484-2016-674-680.
14. Bukhanova D., Sergeeva M., Belov B. et al. Immunogenicity and safety of 23-valent pneumococcal vaccine in ra patients: results of a 4-year follow up study. *Ann Rheum Dis* 2018; 77 Suppl 2: 1060. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-eular.1586
15. Bukhanova D., Belov B., Tarasova G. et al. Immunogenicity and safety of 23-valent pneumococcal vaccine in patients with rheumatoid arthritis: results from 5-year follow up. *Ann Rheum Dis* 2019; 78 (Suppl 2): 336. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-eular.3173
16. Tarasova G., Belov B., Bukhanova D. et al. Use of 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine in patients with systemic lupus erythematosus: the relationship of immunogenicity with therapy. *Ann Rheum Dis* 2019, 78 (Suppl 2): 785–786. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-eular.3646
17. Elkayam O., Paran D., Caspi D. et al. Immunogenicity and safety of pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus. *Clin Infect Dis* 2002; 34 (2): 147–153. doi: 10.1086/338043.
18. Hua C., Barnette T., Combe B., Morel J. Effect of methotrexate, anti-tumor necrosis factor α , and rituximab on the immune response to influenza and pneumococcal vaccines in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2014 Jul; 66 (7): 1016–1026. doi: 10.1002/acr.22246
19. Crnkic Kapetanovic M., Saxne T., Jönsson G. et al. Rituximab and abatacept but not tocilizumab impair antibody response to pneumococcal conjugate vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2013; 15 (5): R171. doi: 10.1186/ar4358
20. Binder M., Otto F., Mertelsmann R. et al. The epitope recognized by rituximab. *Blood* 2006; 108 (6): 1975–1978. doi: 10.1182/blood-2006-04-014639

21. Маслянский А.Л., Мазуров В.И., Зоткин Е.Г. Анти-В-клеточная терапия аутоиммунных заболеваний. Медицинская иммунология. — 2007. — Т. 9. — № 1. — С. 15–34 / Maslyanskij A.L., Mazurov V.I., Zotkin E.G. Anti-B-cell therapy for autoimmune diseases. Medicinskaya Immunologiya 2007; 9 (1): 15–34 [in Russian]
22. Centers for Disease Control (CDC). Pneumococcal polysaccharide vaccine. Morb Mortal Wkly Rep 1989; 38 (5): 64–68, 73–76.
23. Pugès M., Biscay P., Barnette T. et al. Immunogenicity and impact on disease activity of influenza and pneumococcal vaccines in systemic lupus erythematosus: a systematic literature review and meta-analysis. Rheumatology 2016; 55 (9): 1664–1672. doi: 10.1093/rheumatology/kew211.
24. Chang C.C., Chang Y.S., Chen W.S. et al. Effects of annual influenza vaccination on morbidity and mortality in patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Nationwide Cohort Study. Sci Rep 2016; 6: 37817. doi: 10.1038/srep37817.
25. Bühler S., Eperon G., Ribi C. et al. Vaccination recommendations for adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. Swiss Med Wkly 2015 Jul 28; 145: w14159. doi: 10.4414/smww.2015.14159
26. Козлов Р. С. Современные возможности специфической профилактики пневмококковых инфекций. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2002. — Т. 4. — № 1. — С. 61–69. / Kozlov R. S. Sovremennye vozmozhnosti specificheskoy profilaktiki pnevmokokkovykh infekcij. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioter 2002; 4 (1): 61–69. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Тарасова Галина Михайловна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и мониторинга безопасности лекарственной терапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Белов Борис Сергеевич — д. м. н., заведующий лабораторией коморбидных инфекций и мониторинга безопасности лекарственной терапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Черкасова Мария Владимировна — к. б. н., заведующая лабораторией иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Соловьев Сергей Константинович — д. м. н., профессор, заведующий лабораторией интенсивных методов терапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Асеева Елена Александровна — к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории интенсивных методов терапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Решетняк Татьяна Магомедалиевна — д. м. н., профессор, заведующая лабораторией сосудистой ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Попкова Татьяна Валентиновна — д. м. н., заведующая лабораторией системных ревматических заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Кожелева Надежда Михайловна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории сосудистой ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва

Инфекции, вызванные карбапенеморезистентными энтеробактериями: эпидемиология, клиническое значение и возможности оптимизации антибактериальной терапии

*С. В. ЯКОВЛЕВ¹, М. П. СУВОРОВА¹, А. О. БЫКОВ²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

² Российский национальный исследовательский университет им. Н. И. Пирогова, Москва

Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Enterobacterales*: Epidemiology, Clinical Significance, and Possibilities for Antibiotic Therapy Optimization

*S. V. YAKOVLEV¹, M. P. SUVOROVA¹, A. O. BYKOV²

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

Устойчивость бактерий порядка *Enterobacterales* к карбапенемам может быть реализована разными механизмами, но наиболее распространённый — ферментативный, связанный с продукцией карбапенемаз. Карбапенемазы энтеробактерий характеризуются большим разнообразием; они представлены в трёх классах бета-лактамаз. Наиболее известные карбапенемазы относятся к классам А (ферменты KPC, GES), D (OXA-48) и В (металлоэнзимы NDM, VIM, IMP). Приводятся подробные их клинично-микробиологические характеристики, а также рекомендации по детекции. Карбапенемазы распространены повсеместно, в работе обсуждаются географические особенности распространения карбапенемаз в разных регионах мира; в России наибольшее распространение получили ферменты OXA-48 и NDM. Обсуждается клиническое значение карбапенемаз и факторы риска этих инфекций, к которым относятся: 1) предшествующая терапия карбапенемами; 2) высокий уровень карбапенемаз в отделении; 3) колонизация кишечника карбапенемазопродуцирующими энтеробактериями; 4) поездка в регион с высокой распространённостью карбапенемаз (4-й и 5-й эпидемиологический уровень). Обсуждаются возможности антибактериальной терапии инфекций, вызванных карбапенеморезистентными энтеробактериями, детально разбираются клинично-фармакологические характеристики антибиотиков (цефтазидим/авибактам, азтреонам, карбапенемы, полимиксины, тигециклин, фосфомицин), их эффективность и схемы терапии. Приводятся актуальные клинические данные, показывающие эффективность цефтазидима/авибактама в монотерапии при инфекции, вызванных продуцентами карбапенемаз OXA-48 и KPC. Обсуждаются тактические вопросы ведения таких пациентов. Представлены алгоритмы эмпирической и целенаправленной терапии инфекций, вызванных карбапенемоустойчивыми энтеробактериями.

Ключевые слова: карбапенемазы; *Enterobacterales*; резистентность; устойчивость к карбапенемам; полирезистентные бактерии; факторы риска карбапенемаз; карбапенемы; цефтазидим/авибактам; азтреонам; полимиксины; тигециклин; фосфомицин; комбинированная терапия.

The resistance of *Enterobacterales* to carbapenems can be realized by different mechanisms, but the most common one is enzymatic, associated with the production of carbapenemases. Carbapenemases of enterobacteria are characterized by a wide variety; they are represented in three classes of beta-lactamases. The most well-known carbapenemases belong to classes A (KPC, GES enzymes), D (OXA-48), and B (metalloenzymes — NDM, VIM, IMP). Detailed clinical and microbiological characteristics of carbapenemases are given, as well as recommendations for their detection. Carbapenemases are widespread, and the paper discusses the geographical distribution of carbapenemases in different regions of the world; OXA-48 and NDM are the most widely distributed enzymes in Russia. The clinical significance of carbapenemases and risk factors for these infections are discussed, including the following: 1) previous carbapenem therapy; 2) high levels of carbapenemases in the Department; 3) colonization of the intestine with carbapenemase-producing enterobacteria; 4) traveling to regions with a high prevalence of carbapenemases (4th and 5th epidemiological levels). The possibilities of antibacterial therapy of infections caused by carbapenem-resistant enterobacteria are discussed, the clinical and pharmacological characteristics of different antibiotics (ceftazidime/avibactam, aztreonam, carbapenems, polymyxins, tigecycline, fosfomycin), their effectiveness and treatment options are analyzed in detail. Current clinical data showing the effectiveness of ceftazidime/avibactam monotherapy for infections caused by carbapenemase producers OXA-48 and KPC are presented. Practical issues of management of such patients are discussed. Algorithms for empirical and targeted therapy of infections caused by carbapenem-resistant enterobacteria are presented.

Keywords: carbapenemases; *Enterobacterales*; resistance; carbapenem resistance; multidrug-resistant bacteria; risk factors for carbapenemases; carbapenems; ceftazidime/avibactam; aztreonam; polymyxins; tigecycline; fosfomycin; combination therapy.

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: 115446, Москва, Коломенский проезд 4, ГКБ им. С. С. Юдина, кафедра госпитальной терапии №2 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова

Глобальная проблема антибиотикорезистентности

Рост устойчивости возбудителей инфекций человека к антибиотикам — это глобальная медицинская проблема XXI века во всем мире. Впервые устойчивость к антибиотикам отмечена вскоре после начала применения антибиотиков, в частности, уже через 4 года выявлены штаммы стафилококка, резистентные к пенициллину. В последующем стали регистрироваться грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, устойчивые к другим классам антибиотиков.

Однако реальную угрозу резистентности и снижение эффективности антибиотиков стали обсуждать в конце 90-х годов прошлого века, когда широкое распространение в стационарах и, прежде всего, отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) получили энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и устойчивые к цефалоспорином.

Первое описание БЛРС относится к 1979 г. [1]. В России БЛРС впервые были выявлены в 1998 г. [2], однако уже в те годы в некоторых стационарах >90% штаммов *Klebsiella* spp. демонстрировали устойчивость к цефалоспорином III поколения [3]. Последующие исследования показали, что распространённость БЛРС в стационарах России была более высокой по сравнению с другими странами [4]. Распространённость БЛРС-продуцентов в различных ОРИТ РФ составляла от 10 до 92% (в среднем 52%), наиболее часто БЛРС выявляли у *Klebsiella* spp. (в 81%) и *Escherichia coli* (в 50%) [5], в последующем они стали регистрироваться у других *Enterobacterales*.

К другим распространённым бета-лактамазам относятся цефалоспорины класса C — AmpC. Эти бета-лактамазы кодируются геном, локализуемым в хромосомах, поэтому, в отличие от плазмидных БЛРС, обычно не передаются другим энтеробактериям. В то же время они характеризуются индуцибельностью и гиперпродукцией, возникающей на фоне лечения. С феноменом гиперпродукции может быть связана недостаточная эффективность цефалоспоринов III поколения или рецидивы инфекции при применении этих препаратов. Наиболее частыми гиперпродуцентами AmpC бета-лактамаз являлись *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* [6], в последующие годы они стали выявляться у других энтеробактерий, в т. ч. *Klebsiella* spp.

Продуценты БЛРС способны гидролизовать все цефалоспорины, а продуценты AmpC — все, кроме цефепима. Энтеробактерии — продуценты цефалоспориноаз обычно характеризуются ассоциированной устойчивостью к другим классам антибиотиков — аминогликозидам и фторхинолонам, то есть относятся к полирезистентным, или MDR

(multiple-drug resistant) возбудителям. В то же время продуценты БЛРС и AmpC сохраняют полную чувствительность к карбапенемам. По данным многоцентрового исследования ЭРГИНИ [7], распространённость нозокомиальных инфекций в Российских стационарах составила 7,6%, причём самыми частыми возбудителями были представители *Enterobacterales* (40,8%), среди них — *Klebsiella pneumoniae* — 19,6%, *Escherichia coli* — 12,2%, *Proteus mirabilis* — 4,5%, *Enterobacter* spp. — 1,9%, другие — 2,6%. Доля штаммов *K.pneumoniae*, *E.coli* и *P.mirabilis*, нечувствительных к цефалоспорином, составила, соответственно, 95,1, 60,5 и 78,6%.

Клиническое значение устойчивости энтеробактерий к цефалоспорином было показано нами в исследовании АСЭТ [8]: в половине случаев неадекватность стартовой эмпирической терапии нозокомиальных инфекций в ОРИТ была связана с устойчивыми к цефалоспорином энтеробактериями, при этом карбапенемы проявляли наибольшую эффективность в лечении таких инфекций.

Таким образом, в ранние 2000-е годы сложилась ситуация, при которой карбапенемы стали рассматриваться как самые надёжные антибиотики при эмпирической терапии тяжёлых инфекций в стационаре. В различных клинических рекомендациях карбапенемы стали позиционироваться как препараты 1-й линии эмпирической терапии сначала при нозокомиальных инфекциях, а затем, когда цефалоспориноазы вышли за пределы стационаров и стали выделяться у внебольничных возбудителей, и при внебольничных инфекциях с факторами риска полирезистентных возбудителей [9, 10]. Это закономерно сопровождалось увеличением потребления карбапенемов, и как следствие — появлением и селекцией грамотрицательных бактерий, устойчивых к карбапенемам.

Устойчивость энтеробактерий к карбапенемам: эпидемиология и клиническое значение

Впервые карбапенемазы у энтеробактерий были выявлены в середине 90-х годов прошлого века, когда были описаны несколько типов таких ферментов: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase (VIM), the oxacillinase-type beta-lactamase (OXA-48) [11]. Они характеризовались разными химико-биологическими свойствами, но их объединяло одно общее качество — способность гидролизовать карбапенемы, наряду с другими бета-лактамами. Кроме того, определённое беспокойство вызывал тот факт, что гены продукции карбапенемаз локализовались на подвижных генетических элементах — плазмидах, что позволяло допустить их возможность быстрого межвидового распространения среди представителей *Enterobacterales* [12].

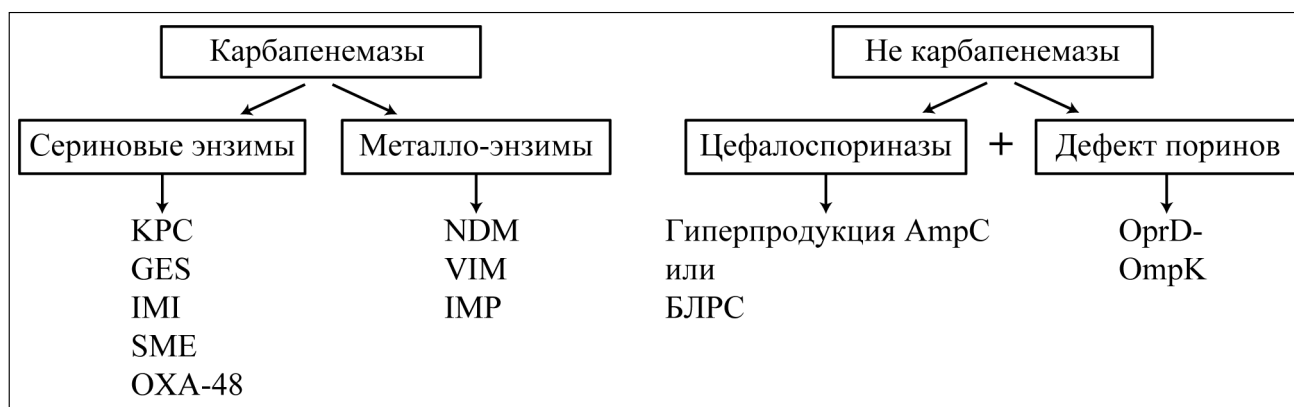


Рис. 1. Механизмы устойчивости *Enterobacteriales* к карбапенемам.

Однако наибольшая тревога за судьбу антибиотиков прозвучала в 2010 г., когда впервые была детально описана New Delhi metallo-beta-lactamase 1 (NDM-1) [13], а вскоре она была выявлена в Исландии, Норвегии и других странах Европы [14]. *K.pneumoniae*, продуцирующая NDM карбапенемазу, характеризовалась устойчивостью к большинству известных антибиотиков и относилась к XDR бактериям (eXtremely-Drug Resistant). Примерно с этого времени стало наблюдаться глобальное экстенсивное распространение известных карбапенемаз в стационарах всех регионов мира, что позволило экспертам ВОЗ высказать реальное опасение о возможном наступлении «постантибиотической эры» из-за крайне ограниченных опций эффективной терапии таких инфекций [15]. Центры по контролю заболеваемости США (CDC) сообщили, что в 2013 г. в стационарах страны ежегодно наблюдалось более 9000 случаев инфекций, вызванных карбапенеморезистентными энтеробактериями (CRE), и включили этих возбудителей в три самых опасных современных антибиотикорезистентных возбудителей инфекций [16].

Устойчивость *Enterobacteriales* к бета-лактамам антибиотикам может быть реализована разными механизмами (рис. 1). Наиболее частым является ферментативный механизм, связанный с продукцией карбапенемаз. Наряду с этим, возможны не карбапенемазные механизмы устойчивости, например, связанные с дефектом пориновых каналов, в результате чего происходит нарушение проникновения карбапенемов в периплазматическое пространство, где расположена мишень для этих антибиотиков — пенициллинсвязывающие белки. Этот механизм включает модификацию экспрессии порина или изменения в порин-кодирующем гене, что приводит либо к полной потере поринового канала, либо к его дефекту [17]. Например, нарушение регуляции гена, кодирующего OprD порин или изменение экспрессии OmpK35 и OmpK36 *K.pneumoniae*

приводит к высокому уровню устойчивости к эртапенему [18]. Чаще всего не карбапенемазная устойчивость *Enterobacteriales* к карбапенемам связана не с одним, а комбинацией нескольких механизмов устойчивости. Известно, что карбапенемы не гидролизуются цефалоспориноазами БЛРС или AmpC, однако когда наблюдается гиперпродукция AmpC или продукция БЛРС группы СТХ-М в сочетании с дефектом пориновых каналов, это сопровождается устойчивостью к карбапенемам, в том числе высокого уровня [18, 19]. В то же время эффлюксный механизм устойчивости к карбапенемам не характерен для *Enterobacteriales* и встречается в основном у неферментирующих грамотрицательных бактерий [18].

Классификация бета-лактамаз энтеробактерий приведена в табл. 1 [20]. Все известные бета-лактамазы относятся к четырём классам Ambler. Активный центр бета-лактамаз классов А, С и D представлен сериновой аминокислотой, поэтому они называются сериновыми; в активный центр бета-лактамаз класса В входит атом цинка, поэтому они называются металло-бета-лактамазами (MBL). Карбапенемазы имеются среди бета-лактамаз классов А, В и D; бета-лактамазы класса С представлены исключительно хромосомными цефалоспориноазами, но некоторые гены ферментов DHA и CMY могут иметь плазмидную локализацию, а фермент CMY-2 проявляет также небольшую карбапенемазную активность. Наибольшее количество типов карбапенемаз имеется в классе А — KPC, GES, IMI, NMC, NME. В классе В есть три клинически важные карбапенемазы — NDM, VIM, IMP. В классе D наибольшее распространение получила карбапенемаза OXA-48, хотя у энтеробактерий описаны и другие типы OXA карбапенемаз [21, 22].

В настоящее время карбапенемазопродуцирующие энтеробактерии распространены повсеместно. Между географическими регионами наблюдаются различия в распространении отдельных карбапенемаз.

Таблица 1. Классификация бета-лактамаз у *Enterobacteriales* [20]

Молекулярный класс (Ambler)	Активный центр	Функциональная группа	Ферменты	
			Цефалоспорины	Карбапенемазы
A	Серин	2	PC1 TEM SHV CTX-M	KPC SME NME IMI GES
B	Металл (Zn ²⁺)	3	—	NDM VIM IMP SPM
C	Серин	1	AmpC type: CMY FOX DHA	—
D	Серин	2d	OXA-1, 10, 15	OXA-48 OXA-162 OXA-181

Примечание. Здесь и в табл. 3: * — концентрация интерферона альфа-2b в МЕ/мл.

Карбапенемазы класса А. Впервые описаны в 1990 г. у *Serratia marcescens*, а затем у других представителей *Enterobacteriales*, у которых выявлены гены карбапенемаз (blaSME-1, blaNMC). Позже были описаны более редкие карбапенемазы класса А — IMI (IMipenem-hydrolysing beta-lactamase), GES-2 (Guiana Extended-Spectrum two), SME (*Serratia marcescens* Enzymes). Наибольшее клиническое значение среди карбапенемаз класса А в настоящее время имеют ферменты KPC, впервые выявленные в 2001 г., которые были распространены исключительно на Восточном побережье США, преимущественно в Нью-Йорке. Сейчас KPC карбапенемазы являются самыми распространёнными в США — почти 50% от всех карбапенемаз [23]. В отличие от ранних карбапенемаз NMC и SME, гены KPC расположены на плазмидах, что определило их быстрое распространение сначала в Америке, а затем в других регионах мира. В настоящее время в Европе KPC карбапенемазы наиболее распространены в Средиземноморском регионе, особенно в Италии и Греции [24]. Именно в этих Европейских странах распространение KPC было расценено как эндемическое [25]. В России KPC карбапенемазы мало распространены, впервые описаны в Санкт-Петербурге [26] и там же в основном встречаются в последние годы [27].

Карбапенемазы класса D. Первичным хозяином карбапенемазы OXA-48 был микроорганизм *Shewanella xiamenensis*. В отличие от KPC, карбапенемазы класса D OXA-48 типа не характерны для США и других стран Америки. В то же время эти карбапенемазы очень широко распространены в Европейских странах, включая Россию. Впервые фермент OXA-48 был выделен у *K. pneumoniae* в Турции в 2001 г. [28]. В настоящее время в Турции 92% CRE представлены *K. pneumoniae*, продуцирующей OXA-48 карбапенемазы, и здесь отмечен на-

ивысший, 5-й эпидемиологический уровень («эндемичная ситуация») [25, 29]. В Испании, Франции, Бельгии и Румынии OXA-48 широко распространены, и в этих странах наблюдается 4-й эпидемиологический уровень («межрегиональное распространение») [24]. В России OXA-48 является самой распространённой карбапенемазой (около 80% среди всех карбапенемаз) [27].

Карбапенемазы класса В относятся к металло-бета-лактамазам (MBL). Впервые ген MBL blaNDM-1 был выявлен у жителя Швеции, вернувшегося из Индии в 2007 г., у которого развилась инфекция мочевыводящих путей, вызванная *K. pneumoniae* [30]. Последующие исследования выявили широкое распространение NDM карбапенемаз в Индии, Пакистане и Бангладеш [13]. В Индии NDM у *Enterobacteriales* является доминирующей карбапенемазой, которая выделяется не только от пациентов в стационаре, но и определяется в грунтовых водах, и даже водопроводной воде [31]. Наибольшую тревогу вызывает тот факт, что NDM карбапенемазы выделяются не только от больных пациентов, но и из кишечника здоровых лиц и могут быть причиной внебольничных инфекций [32]. В настоящее время NDM также широко распространены в Китае, а в Европейских странах — в Румынии, Польше и Дании, где характеризуется 4-й эпидемиологический уровень распространения. В России NDM карбапенемазы впервые описаны в Санкт-Петербурге [26, 33], а затем в других регионах. NDM является второй по частоте после OXA-48 карбапенемазой в РФ (19%) [27]. В некоторых Европейских странах доминируют другая MBL — VIM, в частности, в Испании, Италии и Венгрии, где зарегистрирован 4-й эпидемиологический уровень распространения этих энзимов [25].

Таким образом, для России наиболее характерны две карбапенемазы — OXA-48 и NDM с

различным межрегиональным распределением. В частности, в Санкт-Петербурге у *Enterobacterales* превалирует NDM (57%), а в Москве чаще встречается OXA-48 (89%) [https://amrmap.ru/]. В исследовании МАРАФОН [27] в среднем по РФ продукция карбапенемаз документирована у 14,4% штаммов *Enterobacterales*, из них в 11,4% OXA-48, в 2,7% — NDM. Продукция карбапенемаз наиболее часто наблюдается у *K.pneumoniae* (26,5%), реже — у *Proteus mirabilis* (5,0%) и *Escherichia coli* (1,9%). Распределение карбапенемаз у *K.pneumoniae* в исследовании было таким: OXA-48 — 81,1%, NDM — 16,3%, OXA-48+NDM — 2,3%, KPC — 0,3%. У *E.coli* выявлены две карбапенемазы — OXA-48 (62,5%) и NDM (37,5%).

Клиническое значение карбапенемаз. Карбапенемазопродуцирующие *Enterobacterales* могут иметь значение в этиологии различных инфекций в стационаре, преимущественно нозокомиальных. Наиболее высокий риск инфекций, вызванных CRE наблюдается у пациентов, длительно находящихся в стационаре, особенно в ОРИТ. В последние годы отмечено появление внебольничных инфекций, вызванных CRE [24, 34, 35]. В большинстве таких случаев удаётся выявить определённые факторы риска, связанные с предшествующим контактом пациента с медицинскими организациями или лечением на дому, поэтому эти инфекции правильнее указывать как инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи [36].

Инфекции, вызванные CRE, характеризуются существенно более высокой летальностью по сравнению с инфекциями, вызванными продуцентами БЛРС и чувствительными энтеробактериями. Внутрибольничная летальность при этих инфекциях была от 40 до 72% [37–43]. В большинстве работ указано, что основными факторами риска летального исхода при CRE инфекциях были позднее назначение адекватной антибактериальной терапии и длительное нахождение пациентов в ОРИТ. В работе Y. Fraenkel–Wandel и соавт. [37] показано, что общая внутрибольничная летальность при бактериемии, вызванной энтеробактериями, продуцирующими KPC карбапенемазы, была 65% по сравнению с 40% летальностью при БЛРС-продуцирующими микроорганизмами; высокая летальность при CRE показана, в том числе и у пациентов, получавших адекватную антибактериальную терапию. В работе E. A. Neuner и соавт. [40] общая летальность в стационаре при CRE инфекциях составила 58,3%, при этом у выписанных пациентов повторная госпитализация в течение 90 дней отмечена в 72%. Летальность при инфекциях, вызванных *K.pneumoniae* — NDM продуцентом, была в два раза выше (40 и 20%) по сравнению с инфекциями, вызванными чувствительными к карбапенемам возбудителями [41]. В исследовании С. Науск и соавт. [38] было показано, что

дополнительная внутрибольничная летальность при нозокомиальной пневмонии и бактериемии, вызванных карбапенеморезистентной *K.pneumoniae*, составила 27% по сравнению с чувствительными возбудителями, но в случае инфекций мочевыводящих путей летальность не различалась; относительный риск смерти в случае CRE составил 3,44 (95% ДИ 1,80–6,48) для нозокомиальной пневмонии и 2,59 (1,52–4,50) для ангиогенных инфекций. В нашей работе [43] проанализированы результаты лечения 17 пациентов с нозокомиальными инфекциями, вызванными *K.pneumoniae* с документированной продукцией карбапенемазы OXA-48. У всех пациентов был диагностирован сепсис или септический шок (ср. SOFA = 8,3 балла) и 30-дневная общая летальность составила 70,6%, а атрибутивная летальность — 52,6%. Высокие цифры летальности при CRE инфекции авторы связывают с поздним назначением адекватной антибактериальной терапии: у 80% пациентов она была назначена позже, чем 72 ч после возникновения инфекции. Сходные результаты приведены в исследовании D. J. Anderson и соавт. [44], показавшими, что при CRE инфекциях отсрочка в назначении адекватной антибактериальной терапии увеличивает риск смерти более чем в 3 раза.

По данным метаанализа [45] атрибутивная летальность при CRE инфекциях была в разных исследованиях от 26 до 44%. В некоторых работах показаны более высокие цифры атрибутивной летальности — от 48 до 52% [42, 43, 46], а в работе O. Igbinosa и соавт. [47] — она была ниже (17,5%), хотя в последнем случае преобладали пациенты с инфекцией мочевыводящих путей. Наглядные данные приведены в работе D. Ben-Devis и соавт. [46], показавшие различия в атрибутивной летальности при инфекции, вызванной *K.pneumoniae* с разной устойчивостью к антибиотикам: карбапенеморезистентная — 48%, продуцент БЛРС — 22%, чувствительная к цефалоспорином — 17%.

Ещё в одной обзорной работе отмечены высокие цифры летальности при CRE инфекциях (50–67%), даже на фоне проведения адекватной антибактериальной терапии с применением комбинаций колистина, тигециклина, фосфомицина и других антибиотиков [48].

В исследовании M. D. Zilberberg и соавт [49] получены интересные данные, что неадекватная антибактериальная терапия отмечается в 3 раза чаще (46,5 и 11,8%) при инфекциях, вызванных CRE по сравнению с чувствительными возбудителями; при этом в многофакторном анализе показано, что наличие CRE увеличивает риск неадекватной терапии в 3,95 раза. Неадекватная терапия вследствие CRE увеличивает риск летального исхода на 12% и приводит к увеличению сроков стационарного лечения в среднем на 5,2

дня. Также более редкое достижение адекватной антибактериальной терапии при CRE инфекциях (44,6%) по сравнению с инфекциями, вызванными чувствительными возбудителями (67,5%), показано в другой работе [50], причём неадекватная терапия вследствие CRE приводила к более длительному лечению в стационаре, большей стоимости лечения и большей вероятности смерти — относительный риск смерти составил 2,2. В случае CRE затраты на лечение больных возрастают на 31%. Инфекции, вызванные CRE, увеличивают стоимость лечения больных в стационаре в 2,5 раза (с 2602 до 6385 USD) по сравнению с инфекциями, вызванными чувствительными энтеробактериями, в основном за счёт дополнительной стоимости антибиотиков и дополнительного пребывания в ОРИТ [51].

Приведённые данные свидетельствуют, что инфекции, вызванные карбапенеморезистентными *Enterobacterales*, характеризуют крайне плохим прогнозом и высокой 30-дневной общей и атрибутивной летальностью из-за ограниченных эффективных опций антибактериальной терапии и позднего назначения адекватной терапии. В результате увеличиваются затраты на лечение таких пациентов в стационаре за счёт увеличения стоимости антибактериальной терапии и длительности лечения в ОРИТ. Это объясняет насущную задачу для медицины по разработке программ выявления факторов риска и быстрой диагностики CRE, а также изучению эффективных режимов антибактериальной терапии таких инфекций.

Факторы риска карбапенемазопродуцирующих энтеробактерий

Учитывая плохой прогноз при CRE инфекциях и ограниченные опции антимикробной терапии, для улучшения результатов лечения оптимально назначать адекватные антибиотики в ранние сроки уже на первом этапе эмпирической терапии. С этой целью, учитывая приведённые данные по широкому распространению CRE в наших стационарах, целесообразно при возникновении инфекции у госпитализированных пациентов оценивать риски карбапенеморезистентных возбудителей. При выявлении таких факторов риска оптимально сразу назначить антибактериальную терапию против CRE. В Российских клинических рекомендациях СКАТ [52] и рекомендациях по сепсису [53] факторы риска указаны и такие рекомендации приводятся. К факторам риска CRE Российские эксперты отнесли: 1) предшествующую терапию карбапенемами; 2) высокий уровень CRE в отделении; 3) колонизация кишечника пациента CRE.

Такие же основные факторы риска приводят и другие эксперты [34–35, 54–55] на основании результатов эпидемиологических и клинических

исследований, проведённых в последние годы [39, 47, 56–58]. Практические во всех исследованиях в качестве важнейшего фактора риска инфекций, вызванных CRE приводят предшествующее и многократное применение антибиотиков широкого спектра [43–47, 57–58], и особенно карбапенемов [39, 59]; карбапенемы в качестве основного фактора риска CRE инфекций указаны в клинических рекомендациях США и Германии [59–61].

Колонизация кишечника CRE также рассматривается в качестве значимого фактора риска последующих инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз, особенно в ОРИТ [62–64]. По данным обзорной работы J. Tisvendorf и соавт. [65] у пациентов, у которых при госпитализации кишечник был колонизован CRE, риск последующей инфекции разной локализации (чаще пневмонии), вызванной CRE, составляет 16,5%. Более низкий риск (3%) показан в другой работе [56]. М. Giannella и соавт. [57] разработали балльную оценку риска развития ангиогенной инфекции, вызванной карбапенемазопродуцирующей *K.pneumoniae*, у пациентов с колонизацией кишечника этими микроорганизмами при госпитализации. К наиболее значимым факторам риска относится колонизация CRE других локусов, иммуносупрессивная терапия, хирургическое лечение и госпитализация в ОРИТ.

В качестве дополнительных факторов риска CRE инфекций и колонизации пациента карбапенемазами приводятся: длительность госпитализации и длительность лечения в ОРИТ, тяжёлая коморбидность, предшествующие госпитализации, высокий уровень CRE в данном отделении, длительное стояние мочевого катетера [39, 43, 44, 57–59].

Предложена балльная оценка риска развития инфекции, вызванной энтеробактериями, продуцирующими карбапенемазы (табл. 2) [35, 66, 67].

Интересным и, вероятно, важным фактором риска инфекций, вызванных CRE, является предшествующая поездка в регион с высоким уровнем распространения карбапенемаз [35, 68–71] и, особенно, если пациент был в данном регионе госпитализирован или находился в другой стране с целью медицинского туризма. Сложности практического применения этого фактора риска состоит в том, что ситуация с распространением резистентных штаммов может быстро меняться. По крайней мере, текущая ситуация с рисками колонизации карбапенемазопродуцирующими микробами в разных регионах мира подробно представлена в обзоре [70].

Наиболее важные факторы риска инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими *Enterobacterales*, которые необходимо уточнять у госпитализированных пациентов, особенно в ОРИТ, представлены в табл. 3.

Таблица 2. Балльная оценка риска нозокомиальных инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими *Enterobacterales* [35]

Показатели	Исследования	
	М. Tumbarello и соавт. [66], баллы	В. М. Miller и соавт. [67], баллы
Индекс коморбидности Charlson $\geq 3/4$	1	2
Нейтропения	1	—
Иммуносупрессия*	—	3
Хирургическое вмешательство (< 1 мес.)	1	—
Две госпитализации в предшествующие 12 мес.	1	—
Предшествующие карбапенемы и/или ФХ (<3 мес.)	1 + 1	4
ЦВК (< 1 мес.)	1	—

Примечание. * — иммуносупрессивные препараты в предшествующие 3 мес. (глюкокортикоиды в дозе эквивалентной преднизолону ≥ 20 мг в течение ≥ 2 нед.; такролимус, сиролимус, микофенолат). М. Tumbarello и соавт.: количество баллов ≥ 3 ; чувствительность 54%, специфичность 90%. В. М. Miller и соавт.: количество баллов ≥ 5 ; чувствительность 54%, специфичность 88%.

Таблица 3. Факторы риска *Enterobacterales*, продуцирующих карбапенемазы

Факторы пациента	Факторы отделения и антибиотики	Поездка в другие страны (предшествующие 3 мес.)			
		KPC	NDM	VIM	OXA-48
• Колонизация кишечника КПЭ* при поступлении	• Высокий уровень КПЭ* в отделении ($>25\%$)	США**	Индия	Греция	Турция
• Колонизация КПЭ* других локусов во время госпитализации	• Длительность нахождения в ОРИТ	Колумбия	Пакистан	Испания	Испания
	• Предшествующее применение карбапенемов	Греция	Китай	Италия	Франция
	• Предшествующие повторные курсы антибиотиков широкого спектра	Италия	Румыния	Венгрия	Бельгия
		Израиль	Черногория		Румыния
		Китай	Польша		Марокко
			Дания		
Дополнительные факторы (только в сочетании с основными)					
• Тяжелая коморбидность (индекс коморбидности Charlson >3 баллов)	• Длительная госпитализация вне ОРИТ				
• Длительное стояние мочевого катетера и ЦВК	• Две и более госпитализации в предшествующие 12 мес				
• Иммуносупрессия***	• Перевод из другого стационара				

Примечание. * — КПЭ — карбапенемазопродуцирующие энтеробактерии. ** — особенно Северо-Восточные штаты. *** — лечение системными глюкокортикоидами (преднизолон $>0,3$ мг/кг в сутки) в течение >3 нед.; биологические препараты (такролимус, сиролимус, микофенолат, инфликсимаб, ритуксимаб, алемтузумаб); нейтрофилы в крови <500 в мкл в течение >10 дней; инфекция ВИЧ с количеством CD4 <200 в мкл.

Детекция карбапенемаз

Инфекции, вызванные CRE, представляют серьезную проблему для антимикробной терапии, так как эти микроорганизмы характеризуются множественной устойчивостью к антибиотикам разных классов. В связи с тем, что эти инфекции сопровождаются высокой летальностью вследствие позднего назначения адекватной терапии, крайне необходимо оптимизировать микробиологическую диагностику CRE и проводить точную диагностику устойчивости к карбапенемам и карбапенемаз в минимальные сроки.

В соответствии с критериями EUCAST 2020 г. [72] штаммы *Enterobacterales* с МПК для меропенема и имипенема свыше 2 мг/л и для эртапенема свыше 0,5 мг/л могут рассматриваться как потенциально продуцирующие карбапенемазы. Микробиологическая устойчивость к меропенему, имипенему и эртапенему трактуется при значениях МПК свыше 8, 4 и 0,5 мг/л, соответственно (табл. 4). Критерием чувствительности для дорипенема EUCAST не приводит. Таким образом, диапазон МПК для меропенема от 4 до 8 мг/л и для имипенема от 2 до

4 мг/л рассматривается как промежуточная устойчивость («I») или, в соответствии с современной трактовкой, как чувствительные штаммы при увеличенной дозе антибиотика. Следует отметить, что для некоторых штаммов энтеробактерий, продуцирующих карбапенемазы, значения МПК могут быть в промежуточном диапазоне или даже в чувствительном диапазоне (<2 мг/л для имипенема и меропенема), но при этом клиническая эффективность карбапенемов может быть снижена. Это необходимо учитывать врачу микробиологу и подразумевает необходимость детекции карбапенемаз. EUCAST рекомендует выявлять подозрительные на карбапенемазы штаммы энтеробактерий — проводить скрининг (табл. 5) [73]. Для скрининга рекомендовано использовать величину отсечения МПК (cut-off) для эртапенема и меропенема $>0,125$ мг/л или зону задержки роста <28 мм; у таких штаммов рекомендовано проводить дальнейшее тестирование — детекцию карбапенемаз.

Фенотипические методы выявления продукции карбапенемаз следует проводить в том случае, если при проведении стандартных методов определения

Таблица 4. Микробиологические критерии чувствительности *Enterobacterales* к антибиотикам, используемых при лечении инфекций, вызванных карбапенеморезистентными возбудителями (EUCAST Clinical Breakpoints, version 10, 2020) [72]

Антибиотик	Пограничные величины МПК, мг/л		Диск (мкг) ¹	Пограничные зоны диаметра ² , мм		Примечания
	S≤	R>		S≥	R<	
Ингибиторозащищённые бета-лактамы						
Цефтазидим/авибактам	8	8	10–4	13	13	
Карбапенемы³						
Эртапенем	0,5	0,5	10	25	25	
Меропенем	2	8	10	22	16	Для штаммов с МПК ≤2 мг/л доза меропенема составляет 3–4 г/сут. Штаммы с МПК 4 и 8 мг/л попадают в категорию «чувствительных в увеличенной дозе» — необходимо увеличить дозу до 6 г/сут
Имипенем	2	4	10	22	17	Для штаммов с МПК ≤2 мг/л доза имипенема составляет 2 г/сут. Штаммы с МПК 4 мг/л попадают в категорию «чувствительных в увеличенной дозе» — следует увеличить дозу до 4 г/сут
Имипенем для <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp.	0,001	4	10	50	17	Слабая природная активность имипенема против данных микроорганизмов требует более высокой экспозиции антибиотика
Монобактамы						
Азтреонам	1	4	30	26	21	
Аминогликозиды						
Амикацин (системные инфекции)	(8)	(8)	30	(18)	(18)	При системных инфекциях аминогликозиды необходимо применять в комбинации с другими активными антибиотиками. В этом случае пограничная величина/ ECOFF может использоваться для различения организмов с приобретёнными механизмами устойчивости и без них. Для изолятов, не имеющих механизмов резистентности, включите в отчёт комментарий: «аминогликозиды часто назначают в комбинации с другими антибиотиками либо для усиления активности аминогликозида, либо для расширения спектра терапии. При системных инфекциях аминогликозид должен назначаться в комбинации с другим антибиотиком». Для получения дополнительной информации см. http://www.eucast.org/guidance_documents/ .
Амикацин (инфекции мочевыводящих путей)	8	8	30	18	18	
Гентамицин (системные инфекции)	(2)	(2)	10	(17)	(17)	
Гентамицин (инфекции мочевыводящих путей)	2	2	10	17	17	
Глицилциклины⁴						
Тигециклин, критерии для <i>E.coli</i> и <i>C.koseri</i>	0,5	0,5	15	18	18	Пограничные зоны задержки роста валидированы только для <i>E.coli</i> . Для <i>C.koseri</i> следует использовать определение МПК. Для других <i>Enterobacterales</i> активность тигециклина варьирует от недостаточной для <i>Proteus</i> spp., <i>Morganella morganii</i> и <i>Providencia</i> spp. до вариабельной для других микроорганизмов. Для получения дополнительной информации см. http://www.eucast.org/guidance_documents/ .
Полимиксины						
Колистин	2	2				Определение МПК колистина следует проводить методом микроразведений в бульоне. Контроль качества должен проводиться как с чувствительным штаммом QC (<i>E.coli</i> ATCC 25922 или <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853), так и с устойчивым к колистину штаммом <i>E.coli</i> NCTC 13846 (mcr-1 положительный). Критерии чувствительности для диско-диффузионного метода не установлены.
Другие антибиотики						
Фосфомицин в/в	32	32	200*	24**	24**	Разведение в агаре является эталонным методом для фосфомицина. МПК должны определяться в присутствии глюкозо-6-фосфата (25 мг/л в среде). Следуйте инструкциям производителя для коммерческих систем. * Диск с 200 мкг фосфомицина должен содержать 50 мкг глюкозо-6-фосфат. ** Зоны подавления роста применимы только для <i>E.coli</i> . Для других энтеробактерий следует определять МПК.
Триметоприм/сульфаметоксазол	2	2	1,25–23,75	14	11	

Примечание. ¹ — количество антибиотика в диске. ² — диаметр подавления роста микроорганизма. ³ — некоторые штаммы, продуцирующие карбапенемазы, относятся к категории чувствительных в соответствии с настоящими критериями и такие же данные следует предоставлять клиницистам, так как наличие или отсутствие карбапенемазы само по себе не влияет на категорию чувствительности/устойчивости. Для задачи проведения скрининга на продукцию карбапенемазы рекомендуется следовать рекомендации EUCAST (табл. 5). ⁴ — нет критериев чувствительности для *K.pneumoniae* и других *Enterobacterales*.

Таблица 5. Клинические пограничные значения резистентности микроорганизмов и пороговые значения для скрининга с целью выявления энтеробактерий — возможных продуцентов карбапенемаз (по методологии EUCAST, 2017) [73]

Карбапенем	МПК, мг/л		Диаметр зоны подавления роста	
	пограничное значение Ч/УР (S/I breakpoint)	пороговое значение для скрининга	пограничное значение Ч/УР (S/I breakpoint) для диско-диффузионного метода, мм (диск 10 мкг)	пороговое значение для скрининга
Меропенем ¹	≤2	>0,125	≥22	<28 ²
Эртапенем ³	≤0,5	>0,125	≥25	<25

Примечание. ¹ — оптимальное соотношение чувствительности и специфичности. ² — изоляты с зоной задержки роста 25–27 мм необходимо исследовать на продукцию карбапенемазы, если они устойчивы к пиперациллину–тазобактаму и/или темоциллину (результаты для темоциллина характеризуются большей специфичностью). Исследование на наличие карбапенемаз всегда оправдано, если диаметр зоны меропенема составляет <25 мм. ³ — высокая чувствительность, но низкая специфичность. Может использоваться в качестве альтернативного скринингового средства, но изоляты, продуцирующие БЛРС и AmpC, могут быть устойчивы без наличия карбапенемаз.

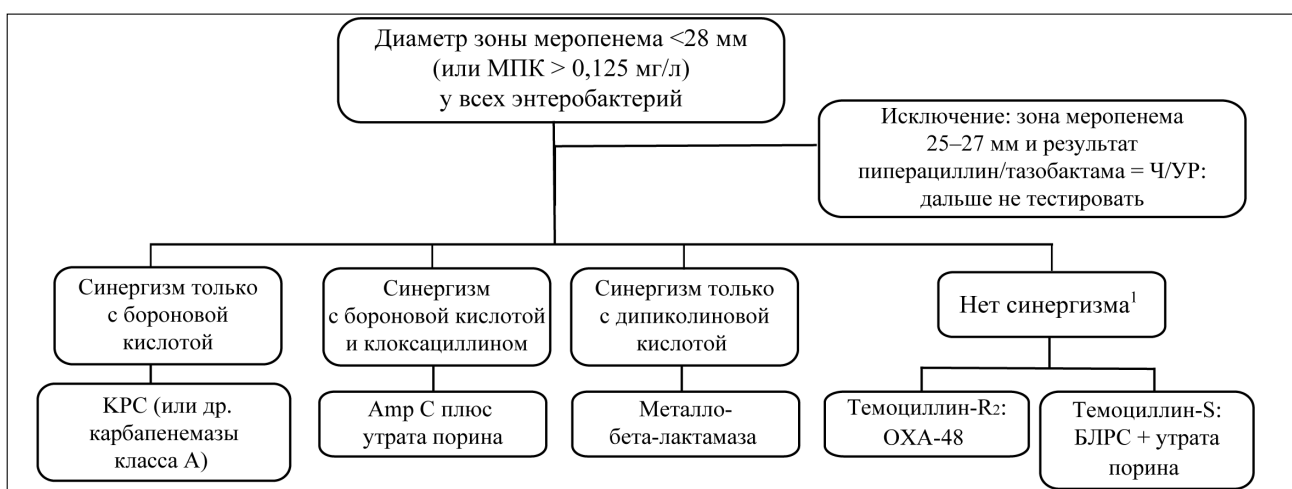


Рис. 2. Алгоритм фенотипической дифференцировки карбапенемаз [35].

Примечание. ¹ — при сочетанной продукции нескольких карбапенемаз, например, КРС и MBL, у одного изолята синергизм может не проявляться. В таких случаях рекомендуются молекулярные методы выявления карбапенемаз. ² — Высокий уровень устойчивости к темоциллину (МПК >128 мг/л, зона подавления <11 мм) является фенотипическим маркером ОХА-48.

чувствительности и скрининге выявлена сниженная чувствительность изолята к карбапенемам. Разработаны коммерческие наборы дисков, содержащие меропенем ± различные ингибиторы: бороновая кислота — ингибитор карбапенемаз класса А; дипиколиновая кислота и этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) — ингибиторы MBL класса В. Клоксациллин, ингибирующий АмрС бета-лактамазы, добавлен к тестовому набору для дифференцирования между гиперпродукцией АмрС в сочетании с утратой порина и продукцией карбапенемаз. Лимитирующим фактором для этого метода является время проведения — 18 ч, т. е. необходима ночная инкубация и результат исследования может быть получен только на следующий день. Алгоритм фенотипической интерпретации этих тестов с ингибиторами представлен на рис. 2.

В последние годы разработаны другие надёжные, но более быстрые методы детекции карбапенемаз, позволяющие предоставить клиницисту результат в тот же день.

Carba-NP тест основан на биохимическом (колориметрическом) методе и позволяет получить ответ о продукции карбапенемаз в течение 2 ч. Так же

возможен анализ гидролиза карбапенемов посредством матрично-ассоциированной лазерной десорбционно-ионизационной времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS), позволяющей подтвердить продукцию карбапенемаз в течение нескольких часов. В практической работе микробиологической лаборатории реально использовать метод инактивирования карбапенемов — CIM тест (Carbapenem Inactivation Method) и его модификацию — EDTA modified CIM test (eCIM) для дифференцирования сериновых карбапенемаз и MBL. Достоинствами этого метода являются простота, доступность и небольшая стоимость, так для его выполнения нужны только пробирка эппендорф, чашка Петри и диск с меропенемом. Время выполнения теста составляет 8 ч, то есть ответ клиницистам может быть предоставлен в тот же день.

В настоящее время разработаны методы ПЦР в режиме реального времени для детекции основных типов карбапенемаз. В нашей стране имеются отечественные коммерческие наборы «АмплиСенс® MDR MBL-FL» и «АмплиСенс® MDR КРС/ОХА-48-FL» для выявления наиболее важных карбапенемаз — КРС, ОХА-48, NDM, VIM.

Таблица 6. Характеристика наиболее распространённых бета-лактамаз у *Enterobacterales* и их чувствительность к ингибиторам [18–20, 74–77]

Бета-лактамазы			Спектр гидролитической активности							Чувствительность к ингибиторам					Локализация
Клинические свойства	Класс Ambler	Ферменты	Пен	ЦС I	ЦС II	ЦС III	ЦС IV	Азт	Карб	СБ	КК	ТБ	Ави	БК*	ЕДТА*
Цефалоспорины	C	AmpC	++	++	++	++	—	++	—	—	—	+	+	—	Хр
	A	TEM, SHV широкого спектра	++	+/-	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	Пл
		TEM, SHV, CTX-M расширенного спектра (ESBL)	++	++	++	++	+/-	++	—	+/-	+	—	—	—	Пл
Карбапенемы		KPC	++	++	—	++	++	+	++	-/+	+	+	—	—	Пл
		GES	++	++	+	+	+	+/-	+	+/-	+	+	—	—	Пл, Хр
		IMI, NMC, SME	++	++	+	+	+	+	++	+/-	+	—	—	—	Хр, Пл
	D	OXA-48 типы	++	++	+/-	+/-	+/-	—	+	-/+	+/-	—	—	—	Пл, Хр
	B	NDM	++	++	++	++	++	—	++	—	—	—	—	+	Пл
		VIM	++	++	++	++	++	—	++	—	—	—	—	+	Пл
		IMP, SPM	++	++	++	++	++	—	++	—	—	—	—	+	Пл

Примечание. Антибиотики: Пен — пенициллины; ЦС I — цефалоспорины I поколения; ЦС II — цефалоспорины II поколения; ЦС III — цефалоспорины III поколения (цефтазидим); ЦС IV — цефалоспорины IV поколения (цефепим); Азт — азтреонам; Карб — карбапенемы. Ингибиторы бета-лактамаз: СБ — сульбактам; КК — клавулановая кислота; ТБ — тазобактам; Ави — авибактам; БК — бороновая кислота; ЕДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота; Хр — хромосомы; Пл — плазмиды. * — применяются только *in vitro* с диагностической целью. Гидролитическая активность бета-лактамаз: «++» — сильная; «+» — умеренная или слабая; «+/-» — переменная; «—» — отсутствует. Чувствительность к ингибиторам бета-лактамаз: «+» — высокая, «+/-» — переменная (чаще есть); «-/+» — переменная (чаще нет); «—» — отсутствует.

Эти наборы доступны для клиники по стоимости, но требуют наличие оснащенной ПЦР лаборатории. Доступные в настоящее время закрытые ПЦР системы (GeneXpert Carba-R) не требуют специальной лаборатории и позволяют проводить анализ в минимальные сроки (около 1 ч), но очень высокая стоимость ограничивает их использование в рутинной клинической практике. Другим недостатком ПЦР метода является отсутствие возможности детекции менее частых и новых карбапенемаз.

Клинико-микробиологическая характеристика карбапенемаз энтеробактерий

Бета-лактамазы характеризуются определёнными химико-биологическими и клиническими свойствами. В зависимости от клинических свойств выделяют цефалоспорины и карбапенемы в зависимости от основной характеристики — способности гидролизовать антибиотики. Бета-лактамазы разделяются на 4 класса и имеют следующие биологические характеристики: химическая структура активного центра, локализация в микробной клетке, субстратный профиль — способность гидролизовать различные бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы), и чувствительность к ингибиторам бета-лактамаз. Комплексная характеристика бета-лактамаз у *Enterobacterales* представлена в табл. 6.

Бета-лактамазы распределены на 4 класса. Классы бета-лактамаз А, С и D представлены сериновыми ферментами, имеющими в активном центре аминокислоту серин; бета-лактамазы

класса В являются металлоэнзимами, содержащими в активном центре атом цинка — Zn^{2+} . Характер активного центра бета-лактамазы имеет важное биологическое, а также клиническое значение, так как металлоэнзимы принципиально отличаются от сериновых бета-лактамаз по степени гидролитической активности, отсутствию чувствительности к доступным в настоящее время ингибиторам.

Хромосомные бета-лактамазы класса С — AmpC являются классическими цефалоспориноазами, они способны эффективно гидролизовать все пенициллины и цефалоспорины, кроме цефепима, а также азтреонам; не активны против карбапенемов. Важной характеристикой AmpC является нечувствительность к ранним ингибиторам — сульбактаму, клавуланату и тазобактаму, но чувствительны к новому ингибитору бета-лактамаз не бета-лактаманной структуры авибактаму, представляющего собой диазобициклооктан. Чувствительность к бороновой кислоте используется в фенотипической дифференции этих энзимов.

Бета-лактамазы класса С локализуется на хромосомах, и экспрессия этих ферментов обычно индуцибельная. Некоторые штаммы энтеробактерий имеют дерепрессированные гены, в результате гиперэкспрессируется ген *AmpC* и происходит гиперпродукция этих бета-лактамаз, что приводит к усиленному гидролизу и снижению эффективности антибиотиков; сочетание гиперпродукции AmpC и другого механизма, например, дефекта поринового канала, может приводить даже к формированию устойчивости энтеробактерий к карбапенемам, по крайней мере,

эртапенему. Ферменты AmpC наиболее характерны для *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, но в последние годы могут выявляться и у других энтеробактерий. Среди бета-лактамаз класса C отсутствуют карбапенемазы.

Бета-лактамазы класса А представлены цефалоспориноазами и карбапенемазами с плазмидной локализацией генов. Среди цефалоспориноаз выделяют бета-лактамазы широкого спектра и расширенного спектра. Бета-лактамазы широкого спектра представлены ферментами TEM-1 и 2 и SHV-1. Они гидролизуют незащищённые пенициллины и цефалоспорины I поколения, в меньшей степени II поколения, и не гидролизуют цефалоспорины III–IV поколений. БЛРС представлены ферментами TEM-3, SHV-2 и другими в этой группе, и уникальной для БЛРС группой CTX-M, которая в последние годы стала доминирующей. БЛРС эффективно гидролизуют пенициллины, цефалоспорины I–III, и в меньшей степени цефепим, однако этот факт не имеет существенного клинического значения из-за наличия инокулюм эффекта; они также гидролизуют азтреонам, но не карбапенемы. Все ферменты класса А чувствительны к ингибиторам бета-лактамаз, но если к авибактаму чувствительность высокая и стабильная, то к ранним ингибиторам может быть переменной. Карбапенемазы класса А представлены наиболее распространёнными ферментами KPC, характерными для *K.pneumoniae*, *E.coli* и *P.mirabilis*, а также более редкими — GES, IMI, NMC, SME, более характерными для других *Enterobacterales* — *E.cloacae*, *S.marcescens*, *M.morganii*. Ферменты KPC эффективно гидролизуют карбапенемы, азтреонам и большинство цефалоспоринов, кроме цефалоспоринов II поколения, однако клиническое значение этого феномена не изучено. Все карбапенемазы класса А проявляют чувствительность к новому ингибитору бета-лактамаз авибактаму, а к ранним ингибиторам чувствительность варьирует от умеренной до низкой. Кроме того, ранние ингибиторы не подавляют другие карбапенемазы класса А.

Бета-лактамазы класса D. Представлены в основном карбапенемазами OXA типа, хотя в линейке этих ферментов есть и цефалоспориноазы, но они мало распространены. Наиболее частой карбапенемазой класса D у *K.pneumoniae*, *E.coli* и *P.mirabilis* является OXA-48, которая также может определяться и у других энтеробактерий. Особенностью карбапенемазы OXA-48 является тот факт, что она слабо гидролизует карбапенемы, то есть часть штаммов энтеробактерий может попадать в микробиологический диапазон чувствительности, несмотря на наличие карбапенемазы. Этот феномен требует дальнейшей клинической оценки, но пока есть данные, что эффективность карбапе-

номов может снижаться в случае продукции энтеробактериями OXA-48 при невысоких значениях МПК. Интересным является тот факт, что карбапенемазы OXA-48 плохо гидролизуют некоторые цефалоспорины, в частности, цефтазидим и цефепим. Вероятно, это имеет клиническое значение и есть возможность эффективного лечения таких инфекций ингибиторозащищёнными бета-лактамами, в частности, цефтазидимом/авибактамом, который проявляет высокую клиническую эффективность при переменной чувствительности OXA-48 к авибактаму. Ещё одним перспективным моментом может быть комбинированное применение при инфекциях OXA-48 ранних ингибиторов с карбапенемами или цефепимом/цефтазидимом (например, меропенем + ампициллин/сульбактам, цефепим/сульбактам). Но эти предположения требуют подтверждения в клинических исследованиях. К сожалению, некоторые новые ингибиторы бета-лактамаз (ваборбактам, релебактам) не проявляют активность в отношении ферментов OXA-48 типа.

Бета-лактамазы класса В представлены исключительно карбапенемазами плазмидной локализации, причём металлоэнзимами — NDM, VIM и менее распространённой IMP. Эти карбапенемазы эффективно гидролизуют все пенициллины, цефалоспорины и карбапенемы, исключая монобактам азтреонам. К сожалению, в настоящее время отсутствуют эффективные ингибиторы этих ферментов. Эффективность азтреонама в лечении инфекций, вызванных продуцентами MBL, подтверждена в клинике. Однако рекомендации по монотерапии азтреонамом мы дать не можем, так как энтеробактерии, в частности, *K.pneumoniae*, наряду с карбапенемазой NDM или VIM, обычно также продуцирует БЛРС, или AmpC, которые эффективно гидролизуют этот монобактам. То есть для эффективного клинического применения азтреонама в случае продукции MBL его надо защитить ингибитором, в частности, авибактамом. Такой подход уже реализован в клинической практике путём комбинирования антибиотиков (например, цефтазидим/авибактам + азтреонам), в перспективе в клинической практике ожидается новый антибиотик — фиксированная комбинация азтреонам/авибактам.

Чувствительность карбапенемостойчивых энтеробактерий к антибиотикам

Сложности лечения инфекций, вызванных CRE во многом связаны с тем, что наряду с устойчивостью к карбапенемам, эти микроорганизмы проявляют устойчивость к большинству других классов антибиотиков, включая цефалоспорины, ингибиторозащищённые бета-лактамы, аминокликозиды, фторхинолоны, а иногда и к поли-

Таблица 7. Активность *in vitro* антибиотиков (МПК₉₀, мкг/мл) в отношении меропенемонечувствительных штаммов *Enterobacterales* (n=1375) в зависимости от наличия и вида карбапенемазы, по данным исследования INFORM [80]

Антибиотики	Сериновые карбапенемазы			Металло-карбапенемазы			Нет карбапенемаз		
	МПК ₉₀	S (%)	I (%)	МПК ₉₀	S (%)	I (%)	МПК ₉₀	S (%)	I (%)
Цефтазидим/авибактам	2	99,8	—	≥256	1,1	—	4	95,9	—
Пиперацillin/тазобактам	≥256	0	0	≥256	1,1	0,5	≥256	4,1	0
Меропенем	≥16	0	25,7	≥16	0	26,4	≥16	0	80,6
Цефтазидим	≥256	2,1	2,5	≥256	0	0	≥256	4,1	2,0
Цефепим	≥32	2,4	3,1	≥32	0,8	2,7	≥32	4,1	4,1
Азтреонам	≥256	2,6	0,1	≥256	15,8	4,1	≥256	4,1	2,0
Колистин	≥16	69,4	—	1	92,1	—	≥16	82,8	—
Тигециклин	2	79,9	14,3	4	71,9	12,3	2	81,6	10,2
Амикацин	≥64	52,3	12,1	≥64	46,6	12,3	≥64	61,2	12,2
Левифлоксацин	≥16	7,9	2,3	≥16	9,3	6,3	≥16	15,3	7,1

Примечание. S — чувствительные штаммы; I — штаммы с промежуточной чувствительностью (чувствительные в увеличенной дозе).

миксинам и тигециклину. Определённые перспективы связаны с разработкой новых ингибиторов бета-лактамаз в сочетании с бета-лактамами, в частности, уже доступного в клинической практике цефтазидима/авибактама, и в перспективе меропенема/ваборбактама, имипенема/релебактама, азтреонама/авибактама.

В России первые данные по чувствительности продуцентов карбапенемаз в Санкт-Петербурге были опубликованы в 2013 г. [78]. Изоляты *K. pneumoniae*, которые продуцировали карбапенемазу NDM-1, проявляли высокий уровень устойчивости к цефалоспорином (МПК > 128 мг/л), карбапенемам (МПК > 16 мг/л), аминогликозидам и фторхинолонам; только 4 изолята сохраняли чувствительность к азтреонаму. Все штаммы продуценты NDM-1 проявляли чувствительность только к двух антибиотикам — полимиксину В (МПК 0,015–0,25 мг/л) и тигециклину (0,12–0,25 мг/л).

В Российском многоцентровом исследовании МАРАФОН, проведённом в 2015–16 гг. [27], представлены данные по чувствительности 2786 нозокомиальных штаммов *Enterobacterales* (большинство — *K. pneumoniae*) с документированной продукцией разных карбапенемаз (79% ОХА-48, 19% NDM-1, остальные — КРС и NDM+ОХА-48). Чувствительность к антибиотикам указана без деления на типы карбапенемаз. Наибольшая чувствительность госпитальных штаммов *Enterobacterales*, продуцирующих карбапенемазы, отмечена к цефтазидиму/авибактаму и колистину — 79,6 и 78,8%; чувствительность к другим антибиотикам была ниже: меропенему — 56,7%, амикацину — 49,3%, имипенему — 45,7%, фосфомидину — 32,9%, гентамицину — 27,5%, ко-тримоксазолу — 20,2%, цефтазидиму — 12,0%, азтреонаму — 11,7%, цефепиму — 9,4%, ципрофлоксацину — 6,0%, эртапенему — 2,7%, пиперацillin/тазобактаму — 0,8%; Значения МПК₅₀ и МПК₉₀ тигециклина для всех карбапенемазопродуцирующих изолятов составляли 1 мг/л и 4 мг/л.

В исследовании М. García-Castillo и соавт. [79] представлена чувствительность энтеробактерий к антибиотикам в зависимости от типа карбапенемазы. В отношении КРС наибольшую активность проявлял цефтазидим/авибактам (100% чувствительность), неожиданно низкая активность отмечена у колистина и тигециклина (61,5 и 30,8%). Также лучшая чувствительность штаммов — продуцентов ОХА-48 отмечена к цефтазидиму/авибактаму (100%), ниже была чувствительность к колистину (87,2%), тигециклину (66,3%), азтреонаму (23,8%). В то же время штаммы — продуценты металлоэнзимов VIM и NDM характеризовались нечувствительностью к цефтазидиму/авибактаму, но хорошей чувствительностью к колистину (83,3%), и существенно меньшей к азтреонаму (50%) и тигециклину (41,7%).

Полученные нами данные [43] также подтверждают 100% активность цефтазидима/авибактама в отношении продуцентов ОХА-48, а чувствительность к другим антибиотикам была ниже: полимиксину В — 94,4%, тигециклину — 88,9%, амикацину — 72,3%, гентамицину — 68,4%; в отношении продуцентов NDM 100% активность проявлял азтреонам/авибактам, чувствительность к полимиксину В и тигециклину была только 50%.

Наиболее интересные данные представлены в табл. 7, где приводится чувствительность *Enterobacterales* к антибиотикам в зависимости от основного механизма устойчивости к карбапенемам — продукция карбапенемаз (MBL или сериновых) и других некарбапенемазных механизмов [80]. В отношении продуцентов сериновых карбапенемаз закономерно наилучшую активность проявлял цефтазидим/авибактам (99,8%), затем тигециклин (79,9%), колистин (69,4); активность других антибиотиков была ниже. Однако неожиданно, но цефтазидим/авибактам также проявлял наилучшую активность против штаммов, устойчивых к карбапенемам, но не продуцирующих карбапенемазы — 95,9%; колистин и тигециклин также проявляли хорошую активность (82,8 и 81,6%). Металлокар-

бапенемазы не чувствительны к авибактаму, поэтому активность комбинированного антибиотика была невысокой. В отношении продуцентов MBL наилучшую активность проявлял колистин (92,1%), меньшую — тигециклин (71,9%).

При добавлении азтреонама к цефтазидиму/авибактаму чувствительность последнего была восстановлена у 86% штаммов энтеробактерий продуцировавших металлокарбапенемазы VIM или NDM в сочетании с БЛРС СТХ-М [81]. Сходный синергизм между азтреоном и цефтазидимом/авибактамом в отношении NDM выявлен и в другой работе [82]. В отношении продуцентов ОХА-48 наибольший синергизм выявлен при комбинации цефтазидим/авибактама с колистином, тобрамицином и тигециклином [83].

Примечательно, что цефтазидим/авибактам характеризуется наилучшей среди других антибиотиков активностью против продуцентов карбапенемаз КРС и ОХА-48, но также к нему чувствительны 100% штаммов *Enterobacterales*, продуцирующих различные распространённые цефалоспорины — БЛРС, AmpC, AmpC+БЛРС [84]. Это является важным обоснованием для применения цефтазидима/авибактама в режиме эмпирической терапии нозокомиальных инфекций в наших стационарах, где традиционно широко распространены цефалоспорины у энтеробактерий.

Важным является факт, что цефтазидим/авибактам сохраняет активность против штаммов *K.pneumoniae*, устойчивых к колистину (МПК₅₀ 0,25 мг/л, МПК₉₀ 2 мг/л, чувствительных штаммов 99,5%), а также XDR штаммов (чувствительных штаммов 97,8%, при более низкой чувствительности к колистину — 61,5%) [85]. Устойчивые к колистину штаммы *E.coli* в результате наличия гена *msc-1* выделены в разных странах мира, в том числе в России (исследование INFORM); колистинорезистентные штаммы проявляли высокую чувствительность к цефтазидиму/авибактаму (97,7%), а также к тигециклину (95,6%) и амикацину (78,6%) [86].

Самая высокая среди всех антибиотиков активность цефтазидима/авибактама в отношении продуцирующих карбапенемазы класса А и D *Enterobacterales* показана также в других исследованиях [87–89].

Антибиотики для лечения инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими энтеробактериями

В настоящее время оптимальные режимы антибактериальной терапии инфекций, вызванных CRE, не определены, хотя имеется достаточно большой выбор антибиотиков, эффективность которых показана в ряде исследований. Однако, большинство таких исследований имеют опреде-

лённые ограничения с позиций доказательной медицины, так как были ретроспективными, не рандомизированными, с включением небольшого числа пациентов. Кроме того, в большинстве исследований изучена эффективность антибиотиков против CRE, продуцирующих КРС карбапенемазу, и не совсем ясно, в какой степени эти результаты могут быть экстраполированы на другие типы ферментов. Возможности проведения метаанализов также пока ограничены из-за значительных различий в методиках проведённых исследований.

В последние годы мы имеем всё большее количество аргументов в пользу комбинированного назначения антибиотиков для лечения инфекций, вызванных CRE [90–91]. В наиболее интересной работе L. S. Tzouveleakis и соавт. [92] обобщены и проанализированы результаты лечения инфекций, вызванных *K.pneumoniae*, продуцирующей различные карбапенемазы (наиболее частыми были КРС и MBL), полученные в 34 исследованиях (всего 301 пациент, самыми частыми инфекциями были ангиогенные — 244 пациента и пневмония — 32). Для лечения применялись различные режимы антибактериальной терапии. Наилучшие результаты получены при применении комбинированного режима антибактериальной терапии с карбапенемом — неуспех терапии был минимальный — 8,3%, по сравнению с комбинированной терапией без карбапенема (28%) и различными режимами монотерапии, различия достоверные (рис. 3). Важно отметить, что результаты лечения тигециклином или колистином в режиме монотерапии были неудовлетворительные и не отличались от результатов при неадекватной терапии.

В другом обзоре этих же авторов [93] систематизированы результаты 20 исследований и проанализированы результаты лечения 889 пациентов с CRE инфекцией (преимущественно КРС). Летальность при комбинированной терапии (24,7%) была достоверно ниже по сравнению с монотерапией (38,7%), $p < 0,001$. При монотерапии карбапенемом, тигециклином и колистином летальность составила, соответственно, 40,1, 41,1 и 42,8%. Также важно отметить, что летальность при комбинированной терапии с карбапенемом была ниже (18,8%), чем при комбинированной терапии без карбапенема (30,7%).

В недавно опубликованной аналитической работе M. J. Lasko и D. P. Nicolau [94] подчёркивается наличие высокого уровня доказательной базы о необходимости назначения комбинированного режима антибактериальной терапии при инфекциях, вызванных карбапенемазопродуцирующими энтеробактериями, за исключением новых антибиотиков цефтазидима/авибактама и имипенема/релебактама, для которых эффективность доказана в режиме монотерапии.

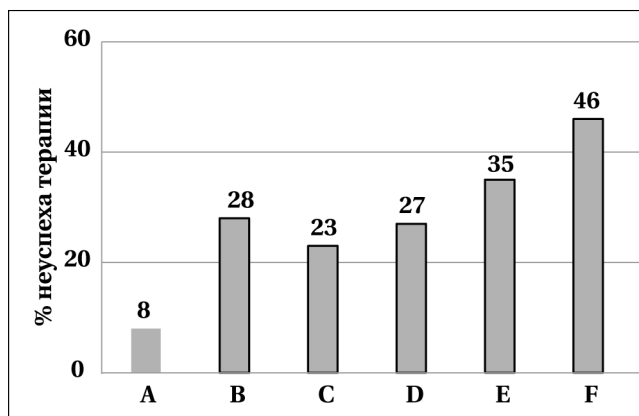


Рис. 3. Результаты лечения инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующей *K. pneumoniae*, в зависимости от режима антибактериальной терапии [92].

Примечание. Режимы терапии: А — комбинация ≥ 2 антибиотиков, один из которых карбапенем; В — комбинация ≥ 2 антибиотиков без карбапенема; С — монотерапия аминогликозидом; D — монотерапия карбапенемом; Е — монотерапия тигециклином; F — монотерапия колистином; G — неадекватная терапия. Достоверные различия: А по сравнению с В, Е, F и G ($p=0,02, 0,03, <0,0001$ и $<0,0001$, соответственно); В, С и D по сравнению с G ($p=0,04, 0,04$ и $0,03$, соответственно).

Для лечения инфекций, вызванных CRE потенциально возможно применение нескольких классов антибиотиков: бета-лактамов (цефтазидим/авибактам, меропенем, имипенем, дорипенем, эртапенем, азтреонам), полимиксинов (полимиксин В и колистин), аминогликозидов (амикацин и гентамицин), глицилциклинов (тигециклин), а также фосфомицина и ко-тримоксазола. Базовая информация об этих антибиотиках приведена в табл. 8. Другие новые антибиотики, в настоящее время не зарегистрированные в РФ (имипенем/релебактам, меропенем/ваборбактам, азтреонам/авибактам, плазомицин, цефидерокол, эравациклин), в настоящем обзоре не рассматриваются.

Карбапенемы. Не рекомендованы в монотерапии. Наряду с этим, карбапенемы могут быть эффективны при назначении в комбинации с другими антибиотиками, одним или двумя, что было отмечено в разных работах. Более того, комбинированные режимы с включением карбапенема были более эффективны по сравнению с комбинациями без карбапенема [95–96]. В работе М. Tumbarello и соавт. [97] также показано, что наименьшая летальность отмечена у пациентов с CRE инфекцией (KPC), получавших комбинированную терапию с меропенемом (24%) по сравнению

с тройной комбинированной терапией без карбапенема (29,7%), монотерапией (52,4%) или неадекватной терапией (64%). Независимыми достоверными предикторами 14-дневной летальности были неадекватная антибактериальная терапия ($OR=1,48$), септический шок (2,45), ангиогенная инфекция (2,09), хроническая почечная недостаточность (2,27), устойчивость к колистину (2,18). В работе G. L. Daikos и соавт. [98] изучена эффективность разных режимов терапии у 205 пациентов при лечении ангиогенной инфекции, вызванной *K. pneumoniae*, продуцирующей карбапенемазы KPC или VIM. Средняя 28-дневная летальность составила 40% и была достоверно ниже при лечении комбинацией двух или трёх антибиотиков по сравнению с монотерапией (27,2 и 44,4%, $p=0,018$), при этом если комбинация антибиотиков включала карбапенем, то летальность была ниже, чем без карбапенема (19,3 и 30,6%).

Очень важные данные, отмеченные в нескольких исследованиях, связаны с зависимостью эффективности карбапенемов с величиной МПК в отношении CRE. На основании фармакодинамического моделирования известно, что эрадикация микроорганизмов на фоне меропенема может быть достигнута в случае не только чувствительных штаммов, но и умеренно резистентных штаммов энтеробактерий в диапазоне МПК от 4 до 16 мг/л [99–100]. В большинстве работ, кроме одной, было показано, что летальность при применении карбапенемов (в комбинированной терапии) достоверно ниже при МПК меропенема ≤ 8 мг/л по сравнению с более высокими значениями (рис. 4), [43, 92, 95–98]. Это показано для CRE инфекций, вызванных продуцентами VIM, KPC, OXA-48, а также в случае некарбапенемазных механизмов резистентности. Ещё в одной работе также показана зависимость эффективности карбапенемов от значений МПК, но использовали другое пограничное значение: летальность при МПК ≤ 1 мг/л

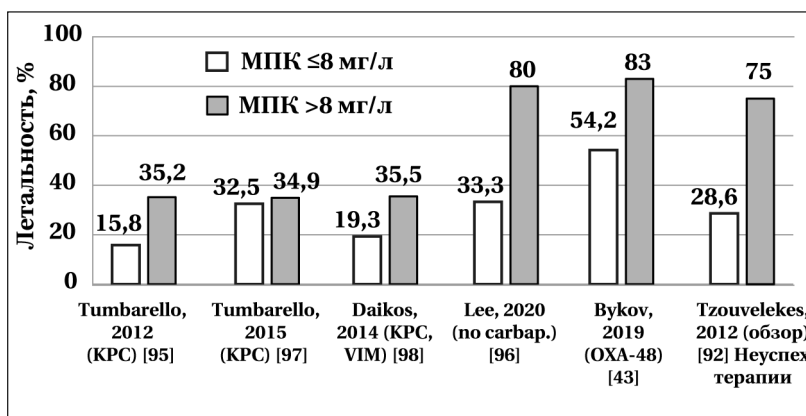


Рис. 4. 30-дневная летальность при инфекциях, вызванных карбапенеморезистентными *Enterobacteriales* в зависимости от МПК меропенема [43, 95–98].

В обзорной работе [92] приведены цифры неуспеха терапии.

Таблица 8. Фармакодинамическая и клиническая характеристика антибиотиков, потенциально эффективных при лечении инфекций, вызванных *Enterobacterales* — продуцентами карбапенемаз

Антибиотик	Фармакодинамическая характеристика характер антимик- робного действия, эффект и его значение	Дозирование	Коррекция дозы при почечном повреждении	НЛР	Примечания
Ингибиторозащитные бета-лактамы					
Цефазидим/ авибактам	Бактерицидный, $IC_{50} > MIC$, время-зависимый. 50–60% ИД ФК параметры: $V_d = 0,36$ л/кг $CB = 10\%$ $T_{1/2} = 2$ ч Выведение с мочой (80% в неизменённом виде) ГЭБ: 15%	В/в 2,5 г (2 г + 0,5 г), 2 ч инфузия с интервалом 8 ч	CrCl 31–50: 1,25 г 3 р/с CrCl 10–30: 0,94 г 2 р/с CrCl <10: 0,94 г каждые 48 ч Гемодиализ: 0,94 г каждые 48 ч, препарат следует вводить после сеанса гемодиализа Продлённая ЗПТ: 1,25 г каждые 8 ч	Аллергические реакции	Наибольшую активность проявляет в отношении продуцентов карбапенемаз классов А (KPC) и D (OXA-48), эффективность показана в монотерапии; в комбинации с азтреонамом активен против продуцентов металлокарбапенемаз (NDM, VIM). При абдоминальных инфекциях следует комбинировать с метронидазолом.
Карбапенемы					
Меропенем	Бактерицидный, $IC_{50} > MIC$, время-зависимый. 40–50% ИД ФК: $V_d = 0,35$ л/кг $CB = 2\%$ $T_{1/2} = 1$ ч Выведение: почки (70%) и метаболизм ГЭБ: 5–20%	В/в 1 г (3 ч инфузия) с интервалом 6 часов или 2 г с интервалом 8 ч	CrCl 30–49: 1 г каждые 8 ч CrCl 10–29: 1 г каждые 12 ч CrCl <10: 1 г каждые 24 ч Гемодиализ: 1 г каждые 24 ч, в день диализа вводить после сеанса Продлённая ЗПТ: 2 г каждые 12 ч	Аллергические реакции; повышение АСТ, АЛТ	Применение меропенема, дорипенема и имипенема при CRE (обязательно в комбинированном режиме с другими антибиотиками) эффективно, если значения МПК возбудителя не превышают 8 мг/л для меропенема. Около 30% штаммов <i>K. pneumoniae</i> , продуцирующих карбапенемазы OXA-48 и NDM имеют МПК меропенема в пределах 8 мг/л; в случае KPC таких чувствительных штаммов значительно меньше. Критерии чувствительности <i>Enterobacterales</i> к дорипенему не установлены (см. табл. 3). При умеренной устойчивости <i>K. pneumoniae</i> к меропенему (ИПК 4–8 мг/л) рекомендованы максимальные дозы карбапенемов (в т.ч. с нагрузочной дозой): меропенем 6 г/сут, имипенем 4 г/сут, дорипенем 3 г/сут. В случае карбапенеморезистентных <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Providencia</i> spp. назначение имипенема не целесообразно из-за низкой природной активности антибиотика против этих бактерий.
Дорипенем	Бактерицидный, $IC_{50} > MIC$, время-зависимый. 40–50% ИД ФК: $V_d = 16,8$ л $CB = 8,1\%$ $T_{1/2} = 1$ ч Выведение: почки (70%) и метаболизм ГЭБ: 1%	В/в 1 г (4 ч инфузия) с интервалом 8 ч	CrCl 30–50: 0,5 г каждые 8 ч CrCl 10–30: 0,25 г каждые 8–12 ч Гемодиализ: 0,5 г каждые 24 ч, вводить после сеанса; продлённая ЗПТ: 0,5 г каждые 8–12 ч	Аллергические реакции; повышение АСТ, АЛТ; головная боль; тошнота, диарея	
Имипенем	Бактерицидный, $IC_{50} > MIC$, время-зависимый. 40–50% ИД ФК: $V_d = 0,2$ л/кг $CB = 20\%$ $T_{1/2} = 1$ ч Выведение: почки (70%) и метаболизм ГЭБ: 30%	В/в 1 г с интервалом 6 ч	CrCl 30–50: 0,5 г каждые 6 ч CrCl 10–30: 0,5 г каждые 8–12 ч Гемодиализ: 0,5 г каждые 24 ч, вводить после сеанса; продлённая ЗПТ: 0,5 г каждые 8–12 ч	Аллергические реакции; судороги, эпилептические припадки, миоклония; психические нарушения и спутанность сознания; нарушение вкуса; повышение АСТ, АЛТ; острое повреждение почек	

Продолжение табл. 8.

Антибиотик	Фармакодинамическая характеристика характера антимикробного действия, ФК	Предиктор эффекта и его значение	Дозирование	Коррекция дозы при почечном повреждении	Н.ПР	Примечания
Эртапенем	Бактерицидный, время-зависимый. ФК: $V_d = 0,12 \text{ л/кг}$ СБ — 95% $T_{1/2} = 4 \text{ ч}$ Выведение: с мочой в неизменённом виде (40%) и в виде метаболитов (40%) ГЭБ: 5–20%	$ft > MIC$, 40–50% ИД	В/в 1 г (0,5 ч инфузия) с интервалом 24 ч. При тяжёлой инфекции в первый день может быть введено 2 г (интервал между дозами 12 ч)	СrCl 30–90: обычная доза СrCl <30: 0,5 г каждые 24 ч Гемодиализ: 0,5 г каждые 24 ч после сеанса; продлённая ЗПТ: 1 г каждые 24 ч	Головная боль, судороги; снижение АД; боли в животе, диарея; повышение АСТ, АЛТ; аллергические реакции	Применение возможно только в сочетании с другим карбапенемом — дорипенемом или меропенемом. Не следует назначать при септическом шоке и выраженной гипотальбуемии
Монобактамы						
Азтреонам	Бактерицидный, время-зависимый. ФК: $V_d = 0,2 \text{ л/кг}$ СБ — 60% $T_{1/2} = 1,7 \text{ ч}$ Выведение: с мочой (70%) и метаболизм в тканях ГЭБ: 40%	$ft > MIC$, 50–60% ИД	В/в 2 г с интервалом 8 ч	СrCl <30: 1 г с интервалом 8 ч Гемодиализ: 2 г с интервалом 24 ч Продлённая ЗПТ: 1 г с интервалом 6–8 ч	ЦНС: судороги, спутанность сознания, головная боль, диплопия; ЖКТ: гепатит, боли в животе, повышение АСТ, АЛТ; аллергические реакции	Азтреонам стабилен к металлокарбапенемам класса В (NDM, VIM), однако клиническая эффективность в монотерапии невысокая, так как, практически все <i>Enterobacteriales</i> , наряду с этими карбапенемами, продуцируют цефалоспорины БЛРС или AmpC, гидролизующие азтреонам. В клинике оправдана комбинация с цефтазидимом/авибактамом.
Полимиксины						
Полимиксин В	Бактерицидный, концентрационно-зависимый. ФК: $V_d = 0,2 \text{ л/кг}$ СБ < 10% $T_{1/2} = 4–6 \text{ ч}$ Выведение: с мочой в неизменённом виде ГЭБ: <5%	AUC: $MIC \geq 60$	В/в 2,5 мг/кг в сутки, интервал дозирования 12 ч. Целесообразна нагрузочная доза 2,5 мг/кг (1 ч инфузия). При менингите, наряду с системным введением, дополнительно следует вводить препарат интратекально в дозе 5 мг 1 раз в сутки.	В соответствии с инструкцией по МП требуется коррекция дозы: СrCl 20–50: 2–2,5 мг/кг в сутки в два введения; СrCl 5–20: 1,25 мг/кг в сутки в два введения; СrCl < 5: 0,375 мг/кг в сутки в два введения. По рекомендациям ESCMID & IDSA и руководств [11–12], при нарушении функции почек коррекция дозы полимиксина В не требуется; также обычные дозы применяются у пациентов, получающих ЗПТ.	Нефротоксичность (острое почечное повреждение, протеинурия, цилиндрурия); нейротоксичность (головокружение, атаксия, нарушение сознания, зрения, сонливость, парестезии, судороги, периферическая полинейропатия); мышечная слабость кожная сыпь; тромбофлебит; бронхоспазм.	Эффективность в монотерапии не превышает 60%, целесообразно сочетать с другими антибиотиками. <i>In vitro</i> показан отчётливый синергизм с карбапенемами при CRE инфекциях [117]. В комбинации с аминогликозидами увеличивается риск развития острого почечного повреждения. Выраженность нефротоксического действия выше у колистина. Для лечения системных инфекций эксперты ESCMID рекомендуют использовать полимиксин В, а при инфекциях мочевыводящих путей предпочтительнее применять колистин из-за особенностей ФК этих антибиотиков [111]. При применении колистина в виде ингаляций целесообразно комбинировать его с другими системными антибиотиками. Негативная тенденция последних лет — появление устойчивости <i>Enterobacteriales</i> к полимиксинам.

Продолжение табл. 8.

Антибиотик	Фармакодинамическая характеристика	Дозирование	Коррекция дозы при почечном повреждении	НЛР	Примечания
характер антибактериального действия, эффект и его значение	предиктор эффекта и его значение				
Колистин (полимиксин Е)	Бактерицидный, концентрационно-зависимый. Является пролекарством — колистиметатом. ФК: $V_d = 0,1 \text{ л/кг}$ $СБ < 50\%$ $T_{1/2} = 9 \text{ ч}$ Выведение: с мочой в неизменённом виде ГЭБ: $< 10\%$	В/в, нагрузочная доза 9 млн ЕД, затем 4,5 млн ЕД с интервалом 12 ч; у пациентов с $CrCl > 90 \text{ мл/мин}$ суточную дозу следует увеличить до 11 млн ЕД. При мембранит, наряду с системным введением, дополнительно следует вводить препарат интратекально в дозе 10 мг 1 раз в сутки. При использовании ингаляционной лекарственной формы препарат вводят в виде ингаляций с помощью небулайзера, присоединенного к контуру аппарата ИВЛ, доза составляет 2 млн ЕД 2 р/сут. Соотношение дозы в ЕД и мг: 1 млн ЕД = 80 мг	Суточная доза в млн ЕД, вводимая с интервалом 12 ч: $CrCl 60 - < 70$: 8,35 $CrCl 50 - < 60$: 7,40 $CrCl 40 - < 50$: 6,65 $CrCl 30 - < 40$: 5,90 $CrCl 20 - < 30$: 5,30 $CrCl 10 - < 20$: 4,85 $CrCl 5 - < 10$: 4,40 Гемодиализ: 3,95 млн ЕД в сутки + дополнительная доза 1,2–1,6 млн ЕД после гемодиализа; Продлённая ЗПТ: 6,5 млн ЕД в сутки, разделённые на два введения		Опосредованная геном mst-1 плазмидной локализации [86, 116], что определяет высокий потенциал для быстрого распространения этого механизма резистентности.
Глициллины					
Тигециклин	Бактериостатический, концентрационно-зависимый. ФК: $V_d = 8 \text{ л/кг}$ $СБ = 89\%$ $T_{1/2} = 42 \text{ ч}$ Выведение: кишечник (60%), почки (30%) ГЭБ: 8%	АUC: $MIC = 1$	Не требуется	Тошнота, рвота, диарея	Не рекомендовано применение в монотерапии. Критерии чувствительности установлены только для <i>E. coli</i> (см. табл. 3). Для других <i>Enterobacteriales</i> клинический эффект при применении тигециклина в стандартной дозе можно ожидать при значениях МПК $\leq 1 \text{ мг/л}$. Не следует применять при инфекциях мочевыводящих путей. При антигенных инфекциях эффективность может быть невысокая из-за низких концентраций в крови. Разрешен для лечения инфекций кожи и мягких тканей, абдоминальных инфекций и внебольничной пневмонии; нозокомиальной пневмонии нет в инструкции по медицинскому применению.

Антибиотик	Фармакодинамическая характеристика характер антимикробного действия, ФК	предиктор эффекта и его значение	Дозирование	Коррекция дозы при почечном повреждении	Н.ЛР	Примечания
Аминогликозиды						
Амикацин	Бактерицидный, концентрацион- но-зависимый. ФК: $V_d = 0,25 \text{ л/кг}$; СБ — <5%; $T_{1/2} = 2 \text{ ч}$ Выведение: почками (95%) в неиз- менённом виде ГЭБ: 20%	$C_{\max}$: $MIC \geq 10$	15 мг/кг в сутки с интервалом 24 ч	CrCl 30–60: 750 мг с интервалом 24 ч CrCl 10–30: 500 мг с интервалом 24 ч CrCl <10: 125 мг с интервалом 24 ч Гемодиализ: 7,5 мг/кг с интервалом 48 ч (вводить после сеанса) Продлённая ЗПТ: 7,5 мг/кг каждые 24 ч	Нефротоксичность; ототоксичность; нейротоксичность; артралгии; лихорадка	Однократный режим дозирования имеет преимущество по сравнению с двух- или трёхкратным из-за особенностей ФД ан- тибиотиков — увеличивается вероят- ность достижения эффекта и снижается риск нефротоксического действия. Не рекомендовано применение в моно- терапии за исключением инфекций ни- жних отделов мочевыводящих путей. Си- нергизм наблюдается в комбинации с бе- та-лактамами. В сочетании с полимикси- нами наблюдается увеличение риска ост- рого почечного повреждения и нейро- токсичности (парестезии, судороги)
Гентамицин	Бактерицидный, концентрацион- но-зависимый. ФК: $V_d = 0,3 \text{ л/кг}$; СБ — <5%; $T_{1/2} = 2,5 \text{ ч}$ Выведение: почками (95%) в неиз- менённом виде ГЭБ: 30%	$C_{\max}$: $MIC \geq 10$	5–7 мг/кг в сутки с интервалом 24 ч	CrCl 30–60: 240 мг с интервалом 24 ч CrCl 10–30: 80 мг с интервалом 24 ч CrCl <10: 20–40 мг с интервалом 24 ч Гемодиализ: 1,25 мг/кг с интервалом 48 ч (вводить после сеанса) Продлённая ЗПТ: 120 мг каждые 24–48 ч		
Другие антибиотик						
Фосфомидин	Бактерицидный, время-зависи- мый. ФК: $V_d = 0,2 \text{ л/кг}$; СБ — 1%; $T_{1/2} = 1,5–2 \text{ ч}$ Выведение: с мочой в неизменён- ном виде ГЭБ: 9–27%	$ft > MIC$, 60–70% ИД	в/в 3 г 3 р/сут или 3 г 4 р/сут. Зару- бежные реком- дации приводят более высокие суточные дозы при CRE инфекциях — от 16 до 24 г [121–122]	CrCl 20–40: 4 г каждые 8–12 ч CrCl 10–20: 2 г каждые 12 ч CrCl <10: 2 г каждые 24 ч	Гипокалемия; сердечная недостаточность; боль в месте введения; головная боль; диарея, тошнота	Не рекомендовано применение в моно- терапии за исключением инфекций мо- чевыводящих путей. Имеются клиниче- ские данные о комбинированном приме- нении с полимиксином В/колистином и тигеклицином
Ко-тримоксазол (триметоприм+ сульфаметок- сазол)	Бактерицидный в первые 8–16 ч, далее бактериостатическое дейст- вие в течение 24–48 ч; concentra- ционно-зависимый. ФК: $V_d = 1,8/0,3 \text{ л/кг}$; СБ — 44–70%; $T_{1/2} = 10/8 \text{ ч}$ Выведение: с мочой (67/85%) в неизменённом виде ГЭБ: 40%	$ft > MIC$, 50% ИД	в/в 960 мг с интер- валом 8 ч или 1920 мг с интервалом 12 ч. При менингите до- зу следует увели- чить до 1920 мг с интервалом 8 ч.	CrCl >30: обычная доза CrCl 15–30: 50% стандартной дозы CrCl <15: не рекомендован	Миелосупрессия: лейкопения, тромбоцитопения; аллергические реакции; повышение АСТ, АЛТ, гиперкалиемия; повышение креатинина/патит	От 15 до 30% штаммов CRE проявляют чувствительность к ко-тримоксазолу, од- нако клиническое значение этого фено- мена не ясно, данных о клинической эф- фективности нет. Даже в случае чувстви- тельности значения МПК обычно превы- шают 1 мг/л, что диктует необходимость до- применения препарата в увеличенной до- зе. Не рекомендован в монотерапии.

Примечание. ФК — фармакокинетика; V_d — объём распределения; СИ — связь с белками плазмы; $T_{1/2}$ — период полувыведения; ГЭБ — проникновение через гематоэнцефалический барьер при менингите; ЗПТ — заместительная почечная терапия. АUC — площадь под фармакокинетической кривой «концентрация — время», MIC — минимальная подавляющая концентрация (МПК); $ft > MIC$ — время в интервале дозирования, в течение которого концентрации антибиотика в крови превышают МПК; ИД — интервал дозирования; $C_{\max}$ — максимальные концентрации в крови; CrCl — клиренс креатинина.

составила 5,6%, а при МПК 2–8 мг/л — 38,9% [101]; в то же время в небольшом исследовании Souli [102] не показано различий в летальности при лечении карбапенемами инфекций, вызванных VIM продуцентами при МПК меропенема ≤ 4 и > 4 мг/л.

Комбинация двух карбапенемов. С. С. Bulik и D. P. Nicolau [103] предложили применять комбинацию эртапенема с большими дозами дорипенема или меропенема для преодоления устойчивости, связанной с продукцией КРС на основании данных, полученных на модели инфекции *in vivo*. Теоретическое обоснование заключалось в том, что эртапенем, как в наибольшей степени подверженный гидролизу карбапенемазами, использовался как суицидная молекула или ингибитор карбапенемаз с высокой аффинностью к КРС, позволяющей сохранить активность другого, более активного карбапенема. Последующие клинические исследования [104–106] показали более высокую клиническую эффективность комбинации двух карбапенемов. Ещё одним возможным объяснением повышения эффективности двойного режима может быть связано с увеличением суммарной дозы карбапенемов, а это может быть определяющим фактором клинического эффекта в случае невысоких МПК. С учётом этого предположения целесообразно изучить *in vitro* комбинацию двух карбапенемов, применяемых в больших дозах, например, имипенема и меропенема. В то же время следует помнить, что эффективность комбинации карбапенемов показана исключительно при карбапенемазах класса А (КРС), и совсем не ясно, можно ли эти данные экстраполировать на карбапенемазы других классов.

Полимиксины. Полимиксины впервые появились в медицине в 1950-х годах прошлого века, когда новые антибиотики подвергались недостаточному контролю со стороны регулирующих органов. Они быстро отошли на вторые позиции в антимикробной терапии из-за выраженной нефротоксичности и, таким образом, их клинический эффект никогда не был полностью изучен. Колистин (полимиксин Е) и полимиксин В содержат в своём составе смесь продуктов, полученных путём ферментации, что приводит к значительной неоднородности конечного продукта. Колистин, к тому же, подвергается дальнейшей химической модификации для получения колистиметата (CMS), представляющего собой пролекарство для внутривенного введения, в результате чего образуется ещё более гетерогенная смесь, содержащая до 30 сульфометилированных производных [107]. Это приводит к вариациям от продукта к продукту и от партии к партии, что может привести к различным фармакокинетическим показателям и клиническим результатам лечения.

Колистин и полимиксин В имеют сходные структуру и эффективность *in vitro*, но они ведут себя по-разному *in vivo*. Полимиксин применяется в активной сульфатной форме. Он быстро достигает терапевтических концентраций при использовании нагрузочной дозы, при этом наблюдается небольшая вариабельность концентраций в сыворотке крови между пациентами [108]. Напротив, колистин вводится в/в как неактивное пролекарство CMS и только около 25% преобразуется в активный колистин *in vivo*. Существует значительная задержка в достижении стационарных терапевтических концентраций в сыворотке крови, даже когда вводится нагрузочная доза и, когда это наконец происходит, то достаточно сложно поддерживать эффективную концентрацию в плазме крови у пациентов с нормальной функцией почек. У пациентов с равным почечным клиренсом при введении одинаковых доз CMS могут наблюдаться 10-кратные различия в сывороточных концентрациях колистина [109].

При применении полимиксинов целесообразно использовать терапевтический лекарственный мониторинг из-за узкого терапевтического окна и концентрационно-зависимого киллинга [90]. Это особенно важно для колистина из-за более вариабельных сывороточных концентраций. Субоптимальные уровни антибиотика в крови могут привести к неудаче терапии, а также могут провоцировать селекцию резистентности. Известно, что колистин способствует развитию гетерорезистентности, и это может эволюционировать до полноценной резистентности при низких концентрациях препарата в крови или отсутствии второго антибиотика в комбинации [110].

Наконец, тактика дозирования колистина чрезвычайно запутана; в то время как в Европе и Индии препарат дозируют в международных единицах (МЕ или IE), в остальном мире дозируют в количестве миллиграммов базовой активности колистина, что отличается от дозы в миллиграммах CMS. 30 мг базовой активности колистина эквивалентны 80 мг CMS и соответствуют примерно 1 млн МЕ. В клинической практике это может привести к ошибкам дозирования со всеми вытекающими последствиями. Более того, в разных инструкциях по медицинскому применению полимиксинов и практических рекомендациях (Guidelines) есть существенные и принципиальные различия в рекомендациях по их дозированию у больных с нарушенной функцией почек [111–113].

Очевидно, что полимиксин В имеет фармацевтические и фармакологические преимущества по сравнению с колистином и менее токсичен. Однако в практической медицине эти препараты расцениваются как эквивалентные или, по крайней мере, сходные, и клиницисты назначают тот,

что доступен [90]. В мире колистин используется более широко, чем полимиксин В. С этим связано тот факт, что в большинстве клинических исследованиях изучен колистин, но не полимиксин В. В недавно опубликованном метаанализе эффективности полимиксинов при CRE инфекциях включено 21 исследование с колистином и только 5 исследований с полимиксином В [114]. В этой работе не показаны различия в эффективности колистина и полимиксина В.

В большинстве сравнительных исследований показана не очень высокая эффективность колистина в режиме монотерапии при CRE инфекциях — чаще <50%. В метаанализе W. Ni и соавт. [114] не выявлено различий в эффективности полимиксинов и других антибиотиков при CRE инфекциях, но в то же время эффективность полимиксина была выше в комбинированной терапии. В другом метаанализе [115] показана более высокая летальность при лечении CRE инфекций колистином по сравнению с другими антибиотиками, относительный риск достижения эффекта был достоверно выше при применении других антибиотиков (RR = 1,71, 95% ДИ 1,36–2,14). Возможно, что не очень высокая эффективность полимиксинов связана с тем, что мы не знаем оптимальный режим их дозирования, так как рекомендованные дозы были прописаны более 40 лет назад, когда не было полирезистентных микроорганизмов.

Таким образом, необходимы исследования как фармакодинамические, для уточнения дозирования полимиксинов, так и клинические по изучению эффективности полимиксина В. По данным микробиологических исследований, устойчивость CRE к полимиксинам невысокая, поэтому потенциально они являются интересными антибиотиками. Определённое беспокойство вызывает появление устойчивости *Enterobacterales* к полимиксинам, опосредованная геном *mcr-1* плазмидной локализации [86, 116], что определяет высокий потенциал для быстрого распространения этого механизма резистентности. Такие штаммы *E.coli* выявлены и в России [86].

Следует помнить, что полимиксины следует применять только в комбинированном режиме с другими антибиотиками, тем более что в исследованиях *in vitro* показан отчётливый синергизм, в частности, с карбапенемами и цефтазидимом/авибактамом [83, 117]. Наиболее отчётливый синергизм колистина выявлен с дорипенемом (в 63%), имипенемом (41%), меропенемом (34%), при этом антагонизм с этими карбапенемами был отмечен в 10, 24 и 9%, соответственно [117].

Важно отметить, что в нашей стране колистин зарегистрирован только в лекарственной форме для ингаляционного введения, и назначение его внутривенно является нарушением инструкции (off-label) и недопустимо по юридическим нор-

мам и этическим соображениям (безопасность и эффективность ингаляционной лекарственной формы антибиотика не может быть экстраполирована на внутривенную). Кроме того, чувствительность микроорганизмов к колистину в соответствии с рекомендациями EUCAST может быть определена только методом серийных разведений (но не диско-диффузионным методом!), который недоступен в рутинной практике большинства микробиологических лабораторий наших медицинских организаций (см. табл. 4).

Тигециклин. Является первым антибиотиком в классе глицилциклинов. Антимикробные характеристики, хорошая тканевая фармакокинетика и данные клинических исследований обосновывают применения тигециклина при CRE инфекциях. Препарат обладает широким спектром, включающим не только энтеробактерии и *Acinetobacter baumannii*, в том числе MDR и XDR штаммы, а также грамположительные микроорганизмы (стафилококки и энтерококки) и анаэробы. Высокая антимикробная активность тигециклина против CRE с различными карбапенемазами (KPC, OXA-48 и MBL) делает перспективным его применение при таких инфекциях. Однако есть ряд лимитирующих факторов, в частности, бактериостатический характер действия, данные о недостаточной клинической эффективности при тяжёлых инфекциях, низкие концентрации в крови. В инструкции по медицинскому применению отсутствует важное показание — нозокомиальная пневмония, поэтому назначение тигециклина по этому показанию является off-label, хотя широко применяется в медицинской практике. Также осложняет применение тигециклина отсутствие официальных критериев чувствительности *K.pneumoniae* и других энтеробактерий, кроме *E.coli*.

В рандомизированных клинических исследованиях и метаанализах показана более высокая эффективность тигециклина в комбинированной терапии [90, 91, 118], а кроме того, обсуждается вопрос адекватности дозирования антибиотика. В частности, в метаанализе W. Ni и соавт. [118] показано, что тигециклин в комбинированном применении не уступает другим антибиотикам при CRE инфекциях, но в то же время тигециклин в комбинации с двумя антибиотиками оказался эффективнее чем комбинация с одним антибиотиком; также относительный риск 30-дневной летальности при применении тигециклина в стандартной дозе (100 мг/сут) был достоверно выше по сравнению с двойной дозой — 200 мг/сут (RR=2,25, 95% ДИ 0,55–9,24, $p=0,26$), а подгруппе пациентов в ОРИТ этот риск составил 12,48 (2,06–75,48). Следует отметить, что в соответствии с инструкцией по медицинскому применению максимально разрешённая суточная доза ти-

гециклина составляет 100 мг. Обнадёживает факт эффективности тигециклина в отдельных клинических исследованиях при CRE инфекциях, и наличие синергизма *in vitro* между тигециклином и колистином [119].

Фосфомицин. Фосфомицин *in vitro* проявляет активность против некоторых штаммов карбапенемазопродуцирующих энтеробактерий, в частности, продуцентов KPC и NDM карбапенемаз с очень большим разбросом данных по количеству чувствительных штаммов — от 36 до 96% [27, 120]. В то же время клинических данных об эффективности фосфомицина при CRE крайне мало, и они ограничиваются отдельными нерандомизированными исследованиями с небольшим количеством пациентов [121]. В обзорных и аналитических статьях, систематизирующих клинические наблюдения, летальность при в/в применении фосфомицина для лечения CRE инфекций существенно варьировала от 18 до 41% [91, 122, 123].

Вероятно, фосфомицин может быть в арсенале антибиотиков для лечения CRE инфекций. Наиболее обосновано применение антибиотика в качестве средства целенаправленной терапии и обязательно в комбинации с другими антибиотиками, так как эффективность фосфомицина в режиме монотерапии не подтверждена в рандомизированных исследованиях. Кроме того, известно, что при монотерапии фосфомицином может быстро формироваться устойчивость к антибиотикам у энтеробактерий [122, 124]. Наконец, оптимальное дозирование фосфомицина при CRE не

установлено. В Российской инструкции по медицинскому применению фосфомицина разрешена суточная доза 12 г, а в зарубежных исследованиях эффективность показана при CRE инфекциях в случае применения более высоких суточных доз — от 16 до 24 г [122, 123].

Цефтазидим/авибактам. Представляет собой комбинацию антипсевдомонадного цефалоспорины III поколения и нового ингибитора бета-лактамаз не бета-лактаманной структуры авибактама. Проявляет высокую активность против энтеробактерий, продуцирующих сериновые карбапенемазы классов A и D, не активен против продуцентов MBL. Характеризуется наиболее высокой среди всех антибиотиков антимикробной активностью против микроорганизмов с карбапенемазами KPC и OXA-48, в том числе штаммов, устойчивых к полимиксинам, а также проявляет активность против продуцентов цефалоспоринов классов A и C (БЛРС и AmpC). Кроме того, активен против *Pseudomonas aeruginosa*, в т. ч. MDR штаммов.

В настоящее время цефтазидим/авибактам является единственным антибиотиком, эффективность которого при лечении CRE инфекций документирована в монотерапии. Причём в большинстве исследований показано его преимущество по сравнению со стандартными комбинированными режимами терапии. В комбинации с азтреоном активен против продуцентов MBL.

Цефтазидим/авибактам может применяться для лечения различных инфекций — нозокоми-

Таблица 9. Результаты сравнительных исследований цефтазидима/авибактама и других антибиотиков

Исследование, год, страна, методология	Число пациентов	Характеристика пациентов	Тип карбапенемазы	Успех лечения/выздоровление, %			30-дневная летальность, %		
				Ц/А	Другие	p	Ц/А	Другие	p
J. J. Castón, 2017 [125] Испания, РС, МЦ	Ц/А – 8 Другие – 23	Гематологические пациенты с нейтропенией и бактериемией	OXA-48 KPC	85,7	34,8	0,03	25	52,2	0,19
R. K. Shields, 2017 [126] США, РС	Ц/А – 13 Другие – 96	Бактериемия	KPC	85	37–48	0,006	8 (90-дн.: 8)	32 (90-дн.: 45)	0,10 0,01
D. van Duin, 2018 [127] США, РС	Ц/А – 38 Колистин – 99	АИ – 46% НП – 22% ИМВП – 14%	KPC	НД	НД	—	9	32	0,001
M. Tumbarello, 2019 [128] Италия, РС, МЦ	Ц/А – 104 Другие – 104	Бактериемия; разные инфекции	KPC	НД	НД	—	36,5 MT: 40,9	55,9 MT: 77,8	0,005 0,008
B. M. Alraddadi, 2019 [129] Саудовская Аравия, РС	Ц/А – 10 Другие – 28	Разные инфекции; 70% с бактериемией	OXA-48 (80%) NDM (10%)	40	39	0,99	50 AL: 20	57,1 AL: 39,3	0,7 0,19
R. Ackley, 2020 [130] США, РС, МЦ	Ц/А – 105 Мер/В – 26	Разные инфекции; 40% с бактериемией	KPC	61,9	69,2	0,49	19,1	11,5	0,57
M. Falcone, 2020 [131] Италия, РС, МЦ	Ц/А+АЗ – 52 Другие – 50	Разные инфекции; 34% – ИСТ; 27% – септический шок	NDM VIM	75	48	0,005	19,2	44	0,007
V. Tsolaki, 2020 [132] Греция, РС	Ц/А – 41 Другие – 33	Пациенты в ОРИТ на ИВЛ, разные инфекции, 1/3 с бактериемией	KPC	80,5 ЭР: 94,3	52,8 ЭР: 67,7	0,01 0,02	14,6	38,3	0,03

Примечание. Методология исследования: РС – ретроспективное; ПС – проспективное; МЦ – многоцентровое. Ц/А – цефтазидим/авибактам; Мер/В – меропенем/ваборбактам; АЗ – азтреонам; АИ – ангиогенная инфекция; НП – нозокомиальная пневмония; ИМВП – инфекция мочевыводящих путей; МТ – монотерапия (один активный антибиотик); AL – атрибутивная летальность; ИСТ – иммуносупрессивная терапия; ЭР – эрадикация.

альной пневмонии, абдоминальных инфекций, инфекций мочевыводящих путей. Важное показание в инструкции — инфекции, вызванные полирезистентными микроорганизмами при ограниченной опции другой терапии, то есть, по существу, имеются в виду инфекции, вызванные карбапенеморезистентными энтеробактериями.

В настоящее время клиническая эффективность цефтазидима/авибактама документирована в 8 сравнительных и 11 несравнительных исследованиях. Результаты сравнительных исследований представлены в табл. 9 [125–132]. В 4 исследованиях [125, 126, 131, 132] документирована достоверно более высокая клиническая эффективность цефтазидима/авибактама по сравнению с другими комбинированными режимами антибактериальной терапии в случае CRE с документированной продукцией карбапенемаз KPC, VIM, NDM, OXA-48. Важно, что эффективность цефтазидима/авибактама подтверждена как в комбинированном режиме, так и монотерапии. В 5 исследованиях [126–128, 131, 132] показано, что лечение цефтазидимом/авибактамом сопровождается достоверно более низкой летальностью по сравнению с другими антибиотиками. В 3 исследованиях [126–128] в многофакторном анализе установлено, что лечение цефтазидимом/авибактамом является независимым предиктором успеха терапии и выздоровления пациентов с CRE инфекциями. В работе М. Falcone и соавт. [131] показано, что цефтазидим/авибактам в комбинации с азтреоном эффективен при инфекциях, вызванных продуцентами MBL — NDM и VIM.

В 10 несравнительных исследованиях [133–142] эффективность цефтазидима/авибактама изучена в режиме монотерапии или в комбинации с другими антибиотиками при лечении инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз KPC и OXA-48. Клиническая эффективность в этих исследованиях составила от 50 до 85%, микробиологический эффект достигнут у 63–91% пациентов; 30-дневная или внутрибольничная летальность была от 16 до 55%. Большой разброс в показателях эффективности можно объяснить разнородностью групп пациентов, у которых проводилось исследование. В работах, изучавших эффективность цефтазидима/авибактама в случае карбапенемазы OXA-48 [136, 139, 142] клиническая эффективность составила 63–77%, микробиологическая — 63–91%.

Равная эффективность цефтазидима/авибактама в режиме монотерапии и комбинированном режиме показана в работах R. K. Shields и соавт. [133] (выздоровление в 58 и 64%), A. Sousa и соавт. [136] (летальность 22 и 27%) и C. De la Calle и соавт. [142] (90-дневная летальность 14,3 и 30%, $p=0,62$). Эффективность цефтазидима/авибактама у иммунокомпрометированных пациентов ранее была про-

демонстрирована в работах J. J. Castón [125] и М. Falcone [131], а также была подтверждена в новом исследовании W. Chen и соавт. [140] у 9 пациентов после трансплантации лёгких: эрадикация была достигнута у 9 из 10 пациентов, и внутрибольничная летальность была низкая — 11,1%.

В Испанском исследовании E. Shaw и соавт. [143] показана эффективность цефтазидима/авибактама в комбинации с азтреоном при лечении инфекций, вызванных продуцентами карбапенемаз NDM+OXA-48: 30-дневная летальность составила 30%, а 60% пациентов выздоровели и были выписаны.

Важные практические результаты показаны в двух исследованиях, подтверждающие, что эффективность цефтазидима/авибактама зависит от сроков его назначения. В работе E. Temkin и соавт. [137] выжившим пациентам цефтазидим/авибактам был назначен раньше (через 10 дней после диагностики инфекции) по сравнению с умершими (15 дней, $p>0,05$); клинический эффект был достигнут также при назначении цефтазидима/авибактама в более ранние сроки (9 и 21 день, $p=0,06$), так же как и эрадикация возбудителя (8 и 29 дней, $p=0,01$). В нашей работе [139] умершие пациенты стали получать цефтазидим/авибактам существенно позже по сравнению с выжившими (через 14,5 и 9,1 дней, $p=0,012$).

В двух ранних метаанализах [144, 145] сравнивали эффективность цефтазидима/авибактама и других антибиотиков при всех инфекциях и возбудителях вне зависимости от их резистентности. При абдоминальных инфекциях достоверных различий в эрадикации и клинической эффективности сравниваемых антибиотиков не выявлено, а при осложнённых инфекциях мочевыводящих путей вероятность достижения эрадикации на фоне цефтазидима/авибактама была выше ($R=1,79$, 0,99–3,22) [144]. В другой работе [145] лечение цефтазидимом/авибактамом не отличалось по клинической и микробиологической эффективности от препаратов сравнения.

В метаанализе H. Zhong и соавт. [146] сравнили результаты лечения инфекций, вызванных CRE, цефтазидимом/авибактамом и другими антибиотиками. Результаты метаанализа показали, что лечение цефтазидимом/авибактамом ассоциируется с достоверно более высокой вероятностью выздоровления ($RR=1,61$, 95% ДИ 1,13–2,29) и более низкой летальностью ($RR=0,29$, 95% ДИ 0,13–0,60). Наиболее отчётливые различия цефтазидима/авибактама по сравнению с другими режимами терапии выявлены при ангиогенных и мочевых инфекциях.

В метаанализе L. Onorato и соавт. [147] показано, что летальность при инфекциях, вызванных продуцентами карбапенемаз KPC и OXA-48, не различалась при применении цефтазидима/ави-

бактама в монотерапии и комбинированном режиме (31,2 и 38,7%), так же как и эрадикация возбудителей — 61,9 и 63,3%.

В систематическом обзоре A. Stewart и соавт. [148] установлено, что в работах, посвящённых применению цефтазидима/авибактама при инфекциях, вызванных продуцентами карбапенемаз ОХА-48, средний показатель эффективности составил 70%.

Таким образом, клинические исследования документировали высокую эффективность цефтазидима/авибактама как в комбинированной, так и монотерапии инфекций, вызванных продуцентами сериновых карбапенемаз ОХА-48 и KPC, а в комбинации с азтреонамом при инфекциях, вызванных продуцентами MBL — NDM, VIM. Причём раннее назначение цефтазидима/авибактама ассоциировалось с выздоровлением пациентов и меньшей летальностью. Цефтазидим/авибактам представляет собой оптимальную опцию лечения CRE инфекций [149]. Следует сделать вывод, что цефтазим/авибактам в настоящее время может быть обоснованно рассматриваться как антибиотик 1-й линии терапии инфекций, вызванных энтеробактериями с документированной или предполагаемой продукцией карбапенемаз.

Таблица 10. Фармакодинамическая и клиническая характеристика антибиотиков, потенциально эффективных при лечении инфекций, вызванных *Enterobacterales* — продуцентами карбапенемаз

Рекомендации		
Микробиологам	Клиницистам	Эпидемиологам
1. Разработать в лаборатории СОПы и алгоритмы тестирования микроорганизмов с предполагаемой или документированной продукцией карбапенемаз	1. При получении информации из лабораторий о выделении CRE необходима срочная консультация специалиста по антимикробной терапии	1. Организовать регистрацию инфекций в стационаре, вызванных проблемными полирезистентными микроорганизмами, прежде всего, продуцентами карбапенемаз
2. Проводить скрининг на карбапенемазы у <i>Enterobacterales</i> в соответствии с рекомендациями EUCAST 2017 г.	2. Извещение зав. отделением и врача эпидемиолога медицинской организации о выделении у пациента CRE	2. Обеспечить в стационаре в рутинной практике детекцию и идентификацию карбапенемаз
3. Проводить детекцию карбапенемаз у штаммов <i>Enterobacterales</i> , устойчивых к карбапенемам — Фенотипическую — тесты CIM, eCIM, Carba-NP — ПЦР — Дифференцировка сериновых и MBL — ЕДТА	3. Планирование проведения расширенного обсуждения тактики ведения пациента с привлечением специалистов разного профиля (консилиум) — начмед, клинический фармаколог, терапевт, микробиолог, эпидемиолог и другие специалисты по мере необходимости	3. С целью понимания эпидемиологического процесса распространения карбапенемаз для некоторых штаммов CRE обеспечить проведение их генотипирования для определения сиквенса-типов карбапенемаз
4. Определять количественную чувствительность CRE к меропенему, полимиксину, тигециклину, цефтазидиму/авибактаму	4. Назначить комбинированную антибактериальную терапию с учётом данных локального микробиологического мониторинга при извлечении из лаборатории о выделении CRE	4. Организовать в отделениях мероприятия по ограничению распространения микроорганизмов, продуцирующих карбапенемазы
5. При подозрении на CRE дальнейшее тестирование микроорганизма должно быть приоритетным с целью выдачи клиницистам промежуточного и окончательного результата в минимальные сроки	5. Назначать антибиотики в максимальных разрешённых дозах с фармакодинамической оптимизацией их введения, особенно у пациентов с сепсисом и получающих ЗПП	5. Проводить обучение медицинского персонала по вопросам профилактики распространения инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими бактериями
6. При выделении CRE необходимо SOS извещение клиницистам	6. При определении длительности антибактериальной терапии целесообразно учитывать не только клинический эффект, но и эрадикацию возбудителя с эпидемиологической целью	6. Регулярно проводить обучение врачей по проблеме диагностики и лечения инфекций, вызванных карбапенеморезистентными бактериями
		7. Ежеквартально проводить аудит правильности лечения пациентов с CRE инфекциями

Тактические вопросы ведения пациентов с инфекциями, вызванными карбапенем-резистентными энтеробактериями

Учитывая широкое распространение карбапенемазы в наших стационарах как в ОРИТ, так и других отделениях, а также появление карбапенемазы в этиологической структуре внебольничных инфекций, необходимо осуществить в медицинских организациях ряд мероприятий по улучшению диагностики этих инфекций и оптимизации антимикробной терапии (табл. 10). В настоящее время экспертами подчеркивается, что вопросы ведения пациентов с CRE инфекциями и профилактики таких инфекций должны быть приоритетными задачами больничных программ Antimicrobial Stewardship [18, 94, 150]. Удивляет тот факт, что в современных зарубежных Guidelines практически не уделяется внимание проблеме антибиотикорезистентности, связанной с карбапенемазопroduцирующими *Enterobacterales* [151, 152]. В Российских рекомендациях по Antimicrobial Stewardship — программе СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии), в документах 2016 г. и 2018 г. приводятся данные о проблеме CRE и представле-

ны базовые алгоритмы ведения таких пациентов [52, 153]. Недавно утверждён документ, разработанный экспертами нескольких общественных организаций в РФ [154], посвящённый диагностике и антибактериальной терапии инфекций, вызванных полирезистентными возбудителями, в том числе CRE.

Алгоритм выбора антибиотиков при CRE инфекциях

В некоторых зарубежных публикациях предприняты попытки сформулировать рекомендации по тактике антибактериальной терапии инфекций, вызванных карбапенеморезистентными энтеробактериями, как общие, так и дифференцированные в зависимости от типа карбапенемазы [34, 35, 47, 155].

На основании приведённых в настоящей работе данных, нам представляется возможным рекомендовать следующие схемы ведения пациентов:

1. Алгоритм ведения пациента с сепсисом и подозрением на инфекцию, вызванную CRE, и эмпирический выбор антибиотиков (рис. 5);

2. Алгоритм микробиологической диагностики CRE и выбора режима антибактериальной терапии (рис. 6)

3. Целенаправленный выбор антибиотиков 1-й и 2-й линии терапии в зависимости от типа карбапенемазы (табл. 11).

В заключение хочется ещё раз подчеркнуть важность проблемы карбапенеморезистентности, которая в настоящее время является одной из важнейших в медицине. Эта проблема в последние годы приобрела особую актуальность вследствие глобального распространения этих микроорганизмов во всех странах мира и крайне ограниченных возможностях эффективного лечения таких инфекций современными антибиотиками. При сохранении этих тенденций антибиотикорезистентности и отсутствия скоординированных усилий медиков, общественности, а также законодательной и исполнительной власти, мы реально окажемся в ситуации



Рис. 5. Алгоритм ведения пациента с сепсисом и подозрением на инфекцию, вызванную карбапенеморезистентными энтеробактериями (CRE).

Примечание. ¹ — подробно основные и дополнительные факторы риска представлены в табл. 3. ² — поездка в ближайшие 3 месяца в регионы с 4–5 эпидемиологическим уровнем распространения карбапенемазы (см. табл. 3).

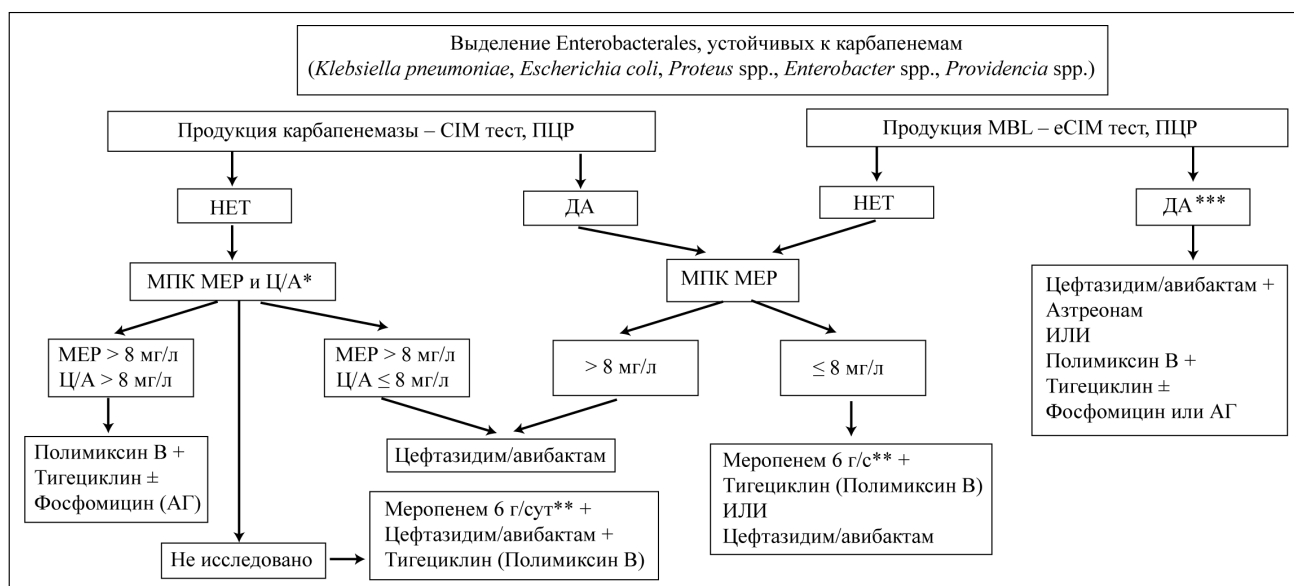


Рис. 6. Алгоритм детекции карбапенемаз при выделении карбапенеморезистентных *Enterobacterales* и антибактериальной терапии в зависимости от типа карбапенемазы.

Примечание. Ц/А – цефтазидим/авибактам; МЕР – меропенем; CIM – Carbapenemase inactivation method – метод инактивации карбапенемов; eCIM – модифицированный CIM тест; MBL – металло-бета-лактамаза. * – или соответствующая зона задержки роста в мм; ** – или дорипенем 3 г/с или имипенем 4 г/с; *** – или не исследовано.

Таблица 11. Выбор антибиотиков при лечении инфекций, вызванных карбапенеморезистентными *Enterobacterales* с установленным типом карбапенемазы

Карбапенемаза	1-я линия терапии	2-я линия терапии
KPC	Цефтазидим/авибактам	Полимиксин + тигециклин ± фосфомицин или аминогликозид; Меропенем* + тигециклин или полимиксин
OXA-48	Цефтазидим/авибактам	Меропенем* + тигециклин или полимиксин
NDM	Цефтазидим/авибактам + азтреонам	Полимиксин + тигециклин ± меропенем (или фосфомицин или аминогликозид)
NDM + OXA-48	Цефтазидим/авибактам + азтреонам	Полимиксин + тигециклин ± фосфомицин или аминогликозид; Меропенем* + тигециклин или полимиксин
VIM	Не определена	Цефтазидим/авибактам + азтреонам; Полимиксин + тигециклин ± фосфомицин или аминогликозид
GES	Не определена	Цефтазидим/авибактам; Меропенем* + тигециклин или полимиксин

Примечание. * – при МПК от 2 до 8 мг/л – 6 г/сут, 3 ч. инфузия; могут быть использованы другие карбапенемы – дорипенем 3 г/сут или имипенем 4 г/сут.

отсутствия эффективных антибиотиков и наступления постантибиотической эпохи, о чем неоднократно предупреждали ВОЗ [15], CDC [16] и различные общественные медицинские организации [154]. По крайней мере, врачи должны осознать сложившуюся ситуацию с антибиотикорезистентностью, понимать ограниченные возможности карбапенемов и других антибиотиков при эмпирической терапии нозокомиальных инфекций. При решении вопроса о назначении анти-

микробной терапии необходимо у каждого пациента оценивать риски полирезистентных возбудителей, прежде всего, устойчивых к карбапенемам, то есть применять на практике рекомендации СКАТ.

Дисклеймер. Статья подготовлена при финансовой поддержке компании Пфайзер. В статье выражена позиция авторов, которая может отличаться от позиции компании Пфайзер.

ЛИТЕРАТУРА

- Sanders C.C., Sanders W.E. Jr. Emergence of resistance to cefamandole: possible role of cefoxitin-inducible beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1979; 15 (6): 792–797.
- Gazouli M., Sidorenko S.V., Tzelepi E., Kozlova N.S., Gladin D.P., Tzouveleki L.S. A plasmid-mediated beta-lactamase conferring resistance to cefotaxime in a *Salmonella typhimurium* clone found in St Petersburg, Russia. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41 (1): 119–121.
- Сидоренко С.В., Страчунский Л.С., Ахмедова Л.И. и др. Результаты многоцентрового исследования сравнительной активности цефепима и других антибиотиков в отношении возбудителей тяжёлых нозокомиальных инфекций (исследование «Micromax»). *Антибиотики и химиотер.* 1999. — № 11. — С. 7. / Sidorenko S.V., Strachunskiy L.S., Akhmedova L.I. i dr. Rezul'taty mnogotsentrovogo issledovaniya sravnitel'noy aktivnosti tsefepima i drugikh antibiotikov v otnoshenii vzbuditelej tyazhelykh nozokomial'nykh infektsij (issledovanie «Micromax»). *Antibiotiki i Khimioter* 1999; 11: 7. [in Russian]
- Jones R.N., Pfaller M.A.; MYSTIC Study Group (Europe). Antimicrobial activity against strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. with resistance phenotypes consistent with an extended-spectrum beta-lactamase in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9 (7): 708–712.

5. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И. и др. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2008. — Т. 10. — № 2. — С. 96–112. / *Reshed'ko G.K., Ryabkova E.L., Krechikova O.I. i dr. Rezistentnost' k antibiotikam gramotritsatel'nykh vozбудitelej nozokomial'nykh infektsij v ORIT mnogoprofil'nykh statsionarov Rossii. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya* 2008; 10 (2): 96–112. [in Russian]
6. Nathisuwan S., Burgess D.S., Lewis J.S. Extended-spectrum beta-lactamases: epidemiology, detection, and treatment. *Pharmacotherapy* 2001; 21 (8): 920–928.
7. Яковлев С.В., Суворова М.П., Белобородов В.Б. и др. Распространённость и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭРГИНИ. Антибиотики и химиотерапия. — 2016. — Т. 61. — № 5–6. — С. 32–42. / *Yakovlev S.V., Suvorova M.P., Beloborodov V.B. i dr. Rasprostranennost' i klinicheskoe znachenie nozokomial'nykh infektsij v lechebnykh uchrezhdeniyakh Rossii: issledovanie ERGINI. Antibiotiki i khimioter* 2016; 61: 5–6: 32–42. [in Russian]
8. Яковлев С.В., Белобородов В.Б., Сидоренко С.В. и др. Анализ адекватности стартовых эмпирических режимов антибактериальной терапии при тяжёлых нозокомиальных инфекциях (исследование АСЭТ). Клиническая фармакология и терапия. — 2006. — Т. 15. — № 2. — С. 1–8. / *Yakovlev S.V., Beloborodov V.B., Sidorenko S.V. i dr. Analiz adekvatnosti startovykh empiricheskikh rezhimov antibakterial'noj terapii pri tyazhelykh nozokomial'nykh infektsiyakh (issledovanie ASSET). Klinicheskaya farmakologiya i terapiya* 2006; 15 (2): 1–8. [in Russian]
9. Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России: Российские национальные рекомендации. Под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда, С.В. Яковлева. — М.: ООО «Компания БОРГЕС», 2012. — 92 с. / *Strategiya i taktika primeneniya antimikrobnnykh sredstv v lechebnykh uchrezhdeniyakh Rossii: Rossijskie natsional'nye rekomendatsii. Pod red. V.S. Savel'eva, B.R. Gelf'anda, S.V. Yakovleva. — M.: OOO «Kompaniya BORGES», 2012; 92. [in Russian]*
10. Авдеев С.Н., Белобородов В.Б., Белоцерковский Б.З. и др. Нозокомиальная пневмония у взрослых. Российские национальные рекомендации. Под ред. Б.Р. Гельфанда. 2-е изд., пер. и дополн. М.: Медицинское информационное агентство, 2016. — 176 с. / *Avdeev S.N., Beloborodov V.B., Belotserkovskij B.Z. i dr. Nozokomial'naya pnevmoniya u vzroslykh. Rossijskie natsional'nye rekomendatsii. Pod red. B.R. Gelf'anda. 2-e izd., per. i dopoln. M.: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2016; 176. [in Russian]*
11. ECDC Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections Programme. Antimicrobial resistance 2010: global attention on carbapenemase-producing bacteria. *Euro Surveill.* 2010;15 (46): 19719. doi:10.2807/ese.15.46.19719-en.
12. Grundmann H., Livermore D.M., Giske C.G. et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts *Euro Surveill* 2010; 15 (46): 19711. doi:10.2807/ese.15.46.19711-en.
13. Kumarasamy K.K., Toleman M.A., Walsh T.R. et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2010; 10 (9): 597–602.
14. Struelens M.J., Monnet D.L., Magiorakos A.P., Santos O'Connor F., Giesecke J.; *European NDM-1 Survey Participants*. New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae: emergence and response in Europe. *Euro Surveill* 2010; 15 (46): 19716. doi:10.2807/ese.15.46.19716-en.
15. Antimicrobial Resistance Global Report on surveillance. Webcast of Q-A Session on global report on surveillance, 2014 (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1).
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Antibiotic resistance threats in the United States (2013). 2014. Web site. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/artthreats-2013-508.pdf>.
17. Doumith M., Ellington M.J., Livermore D.M., Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63 (4): 659–667.
18. Elshamy A.A., Aboshanab K.M. A review on bacterial resistance to carbapenems: epidemiology, detection and treatment options. *Future Sci OA* 2020; 6 (3): FSO438.
19. MacVane S.H. Antimicrobial resistance in the intensive care unit: a focus on gram-negative bacterial infections. *J Intensive Care Med* 2017; 32 (1): 25–37.
20. Bush K. Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62 (10): e01076-18.
21. Potter R.F., D'Souza A.W., Dantas G. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Drug Resist Updat* 2016; 29: 30–46.
22. Yigit H., Queenan A.M., Anderson G.J. et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 (4): 1151–1161.
23. Guh A.Y., Bulens S.N., Mu Y. et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in 7 US Communities, 2012–2013. *JAMA* 2015 Oct 13; 314 (14): 1479–1487.
24. van Duin D., Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence* 2017; 8 (4): 460–469.
25. Albiger B., Glasner C., Struelens M.J., Grundmann H., Monnet D.L., *European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group*. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20 (45): doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062.
26. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S. et al. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44 (2): 152–155.
27. Сухорукова М.В., Эдельштейн М.В., Иванчик Н.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2019. — Т. 21. — № 2. — С. 147–159. / *Sukhorukova M.V., Edel'shtein M.V., Ivanchik N.V. i dr. Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nykh shtammov Enterobacteriales v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya «MARAFON 2015–2016». Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya* 2019; 21 (2): 147–159. [in Russian]
28. Poirel L., Heritier C., Tolun V., Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48:15–22.
29. Baran I., Aksu N. Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a tertiary-level reference hospital in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15: 20.
30. Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K., Walsh T.R. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 5046–5054.
31. Walsh T.R., Weeks J., Livermore D.M., Toleman M.A. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 355–362.
32. Borah V.V., Saikia K.K., Chandra P., Hazarika N.K., Chakravarty R. New Delhi metallo-beta-lactamase and extended spectrum beta-lactamases co-producing isolates are high in community-acquired urinary infections in Assam as detected by a novel multiplex polymerase chain reaction assay. *Indian J Med Microbiol* 2016; 34: 173–182.
33. 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. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68 (5): 1204–1206.
34. Bassetti M., Righi E., Vena A., Graziano E., Russo A., Peghin M. Risk stratification and treatment of ICU-acquired pneumonia caused by multidrug-resistant/extensively drug-resistant/pandrug-resistant bacteria. *Curr Opin Crit Care* 2018; 24 (5): 385–393.
35. Bassetti M., Carnelutti A., Peghin M. Patient specific risk stratification for antimicrobial resistance and possible treatment strategies in gram-negative bacterial infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2017; 15 (1): 55–65.
36. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информационный материал по ее положению. В.И. Покровский, В.Г. Акимкин, Н.И. Брико и др. — Н. Новгород: Издательство «Ремедиум Приволжье», 2012. — 84 с. / *Natsional'naya kontseptsiya profilaktiki infektsij, svyazannykh s okazaniem meditsinskoj pomoshchi, i informatsionnyy material po ee polozheniyam. V.I. Pokrovskij, V.G. Akimkin, N.I. Briko i dr. — N. Novgorod: Izdatel'stvo «Remedium Privolzh'e», 2012. — 84 s. [in Russian]*
37. Fraenkel-Wandel Y., Raveh-Brawer D., Wiener-Well Y., Yinnon A.M., Assous M.V. Mortality due to blaKPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71 (4): 1083–1087.
38. Hauck C., Coker E., Richter S.S. et al. Spectrum of excess mortality due to carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22 (6): 513–519.
39. Mariappan S., Sekar U., Kamalanathan A. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Int J Appl Basic Med Res* 2017; 7 (1): 32–39.
40. Neuner E.A., Yeh J.Y., Hall G.S. et al. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 69 (4): 357–362.
41. Patel G., Huprikar S., Factor S.H., Jenkins S.G., Calfee D.P. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29 (12): 1099–1106.
42. Borer A., Sidel-Odes L., Riesenberk K. et al. Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30 (10): 972–976.
43. Bykov A., Suvorova M., Sychev I. et al. Infections in the intensive care unit caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and

- Acinetobacter baumannii*: clinical and microbiological characteristics and outcome [abstract]. 29th European Conference on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Amsterdam, The Netherlands, April 13–16, 2019. www.escmid.org
44. Anderson D.J., Engemann J.J., Harrell L.J., Carmeli Y., Reller L.B., Kaye K.S. Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (5): 1715–1720.
 45. Falagas M.E., Tansarli G.S., Karageorgopoulos D.E., Vardakas K.Z. Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Emerg Infect Dis* 2014; 20 (7): 1170–1175.
 46. DBen-David D., Kordevani R., Keller N. et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (1): 54–60.
 47. Igbinosa O., Dogho P., Osadiaye N. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A retrospective review of treatment and outcomes in a long-term acute care hospital. *Am J Infect Control* 2020; 48 (1): 7–12.
 48. Falagas M.E., Lourida P., Poulikakos P., Rafailidis P.I., Tansarli G.S. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58 (2): 654–663.
 49. Zilberberg M.D., Nathanson B.H., Sulham K., Fan W., Shorr A.F. Carbapenem resistance, inappropriate empiric treatment and outcomes among patients hospitalized with Enterobacteriaceae urinary tract infection, pneumonia and sepsis. *BMC Infect Dis* 2017; 17 (1): 279.
 50. Lodise T.P., Berger A., Altincatal A. et al. Antimicrobial resistance or delayed appropriate therapy — does one influence outcomes more than the other among patients with serious infections due to carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible Enterobacteriaceae? *Open Forum Infect Dis* 2019; 6 (6): ofz194.
 51. Vargas-Alzate C.A., Higuera-Gutiérrez L.F., López-López L., Cienfuegos-Gallet A.V., Jiménez Quiceno J.N. High excess costs of infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli in an endemic region. *Int J Antimicrob Agents* 2018; 51 (4): 601–607.
 52. Программа SKAT (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Российские клинические рекомендации. Под ред. С.В. Яковлева, Н.И. Брикo, С.В. Сидоренко, Д.Н. Проценко. М.: Издательство «Перо», 2018. — 156 с. / Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnoy Terapii) pri okazanii statsionarnoy meditsinskoy pomoshchi. Rossijskie klinicheskie rekomendatsii. Pod red. S.V. Yakovleva, N.I. Briko, S.V. Sidorenko, D.N. Protsenko. M.: Izdatel'stvo «Pero», 2018; 156. [in Russian]
 53. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение / под ред. академика РАН Б.Р. Гельфанда. — 4-е изд., доп. и перераб. — М:ООО «Медицинское информационное агентство», 2017. — 408 с. / Sepsis: klassifikatsiya, kliniko-diagnosticheskaya kontseptsiya i lechenie / pod red. akademika RAN B.R. Gel'fanda. — 4-e izd., dop. i pererab. — M:ООО «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo», 2017; 408. [in Russian]
 54. Burillo A., Muñoz P., Bouza E. Risk stratification for multidrug-resistant Gram-negative infections in ICU patients. *Curr Opin Infect Dis* 2019; 32 (6): 626–637.
 55. Corcione S., Lupia T., Maraolo A.E., Mornese Pinna S., Gentile I., De Rosa F.G. Carbapenem-sparing strategy: carbapenemase, treatment, and stewardship. *Curr Opin Infect Dis* 2019; 32 (6): 663–673.
 56. Correa L., Martino M.D., Siqueira I. et al. A hospital-based matched case-control study to identify clinical outcome and risk factors associated with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 80.
 57. Giannella M., Trearichi E.M., De Rosa F.G. et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection among rectal carriers: a prospective observational multicentre study. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (12): 1357–1362.
 58. Zhang Y., Guo L.Y., Song W.Q., Wang Y., Dong F., Liu G. Risk factors for carbapenem-resistant *K.pneumoniae* bloodstream infection and predictors of mortality in Chinese paediatric patients. *BMC Infect Dis* 2018; 18 (1): 248.
 59. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (3): 268–281.
 60. Barlam T.F., Cosgrove S.E., Abbo L.M. et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62 (10): e51–e77.
 61. de With K., Allerberger F., Amann S. et al. Strategies to enhance rational use of antibiotics in hospital: a guideline by the German Society for Infectious Diseases. *Infection* 2016; 44 (3): 395–439.
 62. Tseng W.P., Chen Y.C., Yang B.J. et al. Predicting multidrug-resistant gram-negative bacterial colonization and associated infection on hospital admission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2017; 38 (10): 1216–1225.
 63. Vasudevan A., Mukhopadhyay A., Li J., Yuen E.G., Tambyah P.A. A prediction tool for nosocomial multi-drug Resistant Gram-Negative Bacilli infections in critically ill patients — prospective observational study. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 615.
 64. Sánchez-Romero I., Asensio A., Oteo J. et al. Nosocomial outbreak of VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates of multilocus sequence type 15: molecular basis, clinical risk factors, and outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56 (1): 420–427.
 65. Tischendorf J., de Avila R.A., Safdar N. Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A systematic review. *Am J Infect Control* 2016; 44 (5): 539–543.
 66. Tumbarello M., Trearichi E.M., Tumietto F. et al. Predictive models for identification of hospitalized patients harboring KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58 (6): 3514–3520.
 67. Miller B.M., Johnson S.W. Demographic and infection characteristics of patients with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in a community hospital: development of a bedside clinical score for risk assessment. *Am J Infect Control* 2016; 44 (2): 134–137.
 68. Simner P.J., Goodman K.E., Carroll K.C., Harris A.D., Han J.H., Tamma P.D. Using patient risk factors to identify whether carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections are caused by carbapenemase-producing organisms. *Open Forum Infect Dis* 2018; 5 (5): ofy094.
 69. Leblebicioglu H., Rodriguez-Morales A.J., Rossolini G.M. et al. Management of infections in critically ill returning travellers in the intensive care unit-I: considerations on infection control and transmission of resistance. *Int J Infect Dis* 2016; 48: 113–117.
 70. van der Bij A.K., Pitout J.D. The role of international travel in the worldwide spread of multiresistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67 (9): 2090–2100.
 71. Dortet L., Radu I., Gautier V., Blot F., Chachaty E., Arlet G. Intercontinental travels of patients and dissemination of plasmid-mediated carbapenemase KPC-3 associated with OXA-9 and TEM-1. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61 (2): 455–457.
 72. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_10.0_Breakpoint_Tables.pdf
 73. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.01, July 2017. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
 74. Livermore D.M. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med* 2012; 27 (2): 128–142.
 75. Nordmann P., Gniadkowski M., Giske C.G. et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (5): 432–438.
 76. Cantón R., Akova M., Carmeli Y. et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (5): 413–431.
 77. Nordmann P., Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis* 2019; 69 (Suppl 7): S521–S528.
 78. Агеев В.А., Партина И.В., Лисицина Е.С. и др. Чувствительность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, к антибиотикам различных групп. Антибиотики и химиотер. — 2013. — № 3–4. — С. 3–6. / Ageev V.A., Partina I.V., Lisitsina E.S., i dr. Chuvstvitel'nost' gramotritsatel'nykh bakterij, produtsentov karbapenemaz, k antibiotikam razlichnykh grupp. Antibiotiki i Khimioterap 2013; 58 (3-4): 3–6. [in Russian]
 79. García-Castillo M., García-Fernández S., Gómez-Gil R., Pitart C., Oviño M., Gracia-Ahufiger I., Díaz-Regañón J., Tato M., Cantón R.; iCREST Study Group. Activity of ceftazidime-avibactam against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from urine specimens obtained during the infection-carbapenem resistance evaluation surveillance trial (iCREST) in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2018; 51 (3): 511–515.
 80. Spiliopoulou I., Kazmirczak K., Stone G.G. In vitro activity of ceftazidime/avibactam against isolates of carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae collected during the INFORM Global Surveillance Programme (2015–17). *J Antimicrob Chemother* 2020; 75 (2): 384–391.
 81. Emeraud C., Escaut L., Boucly A. et al. Aztreonam plus Clavulanate, Tazobactam, or Avibactam for Treatment of Infections Caused by Metallo-β-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2019; 63 (5): e00010-19.
 82. Jayol A., Nordmann P., Poirel L., Dubois V. Ceftazidime/avibactam alone or in combination with aztreonam against colistin-resistant and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73 (2): 542–544.
 83. Kara E.M., Yilmaz M., Tosun A.I., Celik B.O. Evaluation of the synergy of ceftazidime/avibactam in combination with colistin, doripenem, levofloxacin, tigecycline, and tobramycin against OXA-48 producing Enterobacterales. *J Chemother* 2020 May 7; 1–8.
 84. Nicolau D.P. Focus on ceftazidime-avibactam for optimizing outcomes in complicated intra-abdominal and urinary tract infections. *Expert Opin Investig Drugs* 2015; 24 (9): 1261–1273.

85. Sader H.S., Castanheira M., Shortridge D., Mendes R.E., Flamm R.K. Antimicrobial activity of ceftazidime-avibactam tested against multidrug-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from U.S. Medical Centers, 2013 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61 (11): e01045-17.
86. Wise M.G. et al. Prevalence of mcr-type genes among colistin-resistant Enterobacteriaceae collected in 2014–2016 as part of the INFORM global surveillance program. *PLoS One* 2018; 13: e0195281.
87. Giani T., Antonelli A., Sennati S. et al. Results of the Italian infection-Carapenem Resistance Evaluation Surveillance Trial (iCREST-IT): activity of ceftazidime/avibactam against Enterobacterales isolated from urine. *J Antimicrob Chemother* 2020; 75 (4): 979–983.
88. Shields R.K., Clancy C.J., Hao B., Chen L., Press E.G., Iovine N.M., Kreiswirth B.N., Nguyen M.H. Effects of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase subtypes, extended-spectrum β -lactamases, and porin mutations on the *in vitro* activity of ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant *K.pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59 (9): 5793–5797.
89. Livermore D.M., Meunier D., Hopkins K.L., Doumith M., Hill R., Pike R., Staves P., Woodford N. Activity of ceftazidime/avibactam against problem Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* in the UK, 2015–16. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73 (3): 648–657.
90. Nabarro L.E., Veeraraghavan B. Combination therapy for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Increasing evidence, unanswered questions, potential solutions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015; 34 (12): 2307–2311.
91. Lee C.S., Doi Y. Therapy of Infections due to Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Infect Chemother* 2014; 46 (3): 149–164.
92. Tzouveleakis 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. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25 (4): 682–707.
93. Tzouveleakis L.S., Markogiannakis A., Piperaki E., Souli M., Daikos G.L. Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (9): 862–872.
94. Lasko M.J., Nicolau D.P. Carbapenem-Resistant Enterobacterales: Considerations for Treatment in the Era of New Antimicrobials and Evolving Enzymology. *Curr Infect Dis Rep* 2020; 22 (3): 6.
95. Tumbarello M., Viale P., Viscoli C. et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K.pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis* 2012; 55 (7): 943–950.
96. Lee N.Y., Tsai C.S., Syue L.S. et al. Treatment outcome of bacteremia due to non-carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: role of carbapenem combination therapy. *Clin Ther* 2020; 42 (3): e33–e44.
97. Tumbarello M., Trecarichi E.M., De Rosa F.G. et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70 (7): 2133–2143.
98. Daikos G.L., Tsaousi S., Tzouveleakis L.S. et al. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58 (4): 2322–2328.
99. Dandekar P.K., Maglio D., Sutherland C.A., Nightingale C.H., Nicolau D.P. Pharmacokinetics of meropenem 0.5 and 2 g every 8 hours as a 3-hour infusion. *Pharmacotherapy* 2003; 23 (8): 988–991.
100. Roberts J.A., Kirkpatrick C.M., Roberts M.S., Robertson T.A., Dalley A.J., Lipman J. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64 (1): 142–150.
101. Patel T.S., Nagel J.L. Clinical outcomes of Enterobacteriaceae infections stratified by carbapenem MICs. *J Clin Microbiol* 2015; 53 (1): 201–205.
102. Souli M., Kontopidou F.V., Papadomichelakis E., Galani I., Armaganidis A., Giamarellou H. Clinical experience of serious infections caused by Enterobacteriaceae producing VIM-1 metallo- β -lactamase in a Greek University Hospital. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (6): 847–854.
103. Bulik C.C., Nicolau D.P. Double-carbapenem therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (6): 3002–3004.
104. Cprek J.B., Gallagher J.C. Ertapenem-Containing Double-Carbapenem Therapy for Treatment of Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 60 (1): 669–673.
105. Giamarellou H., Galani L., Baziaka F., Karaikos I. Effectiveness of a double-carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (5): 2388–2390.
106. Souli M., Karaikos I., Masgala A., Galani L., Barmpouti E., Giamarellou H. Double-carbapenem combination as salvage therapy for untreatable infections by KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36 (7): 1305–1315.
107. Nation R.L., Li J., Cars O. et al. Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *Lancet Infect Dis* 2015; 15 (2): 225–234.
108. Nation R.L., Velkov T., Li J. Colistin and polymyxin B: peas in a pod, or chalk and cheese? *Clin Infect Dis* 2014; 59 (1): 88–94.
109. Garonzik S.M., Li J., Thamlikitkul V. et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55 (7): 3284–3294.
110. Teo J., Lim T.P., Hsu L.Y. et al. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a Thai hospital: a molecular epidemiologic analysis and identification of bactericidal Polymyxin B-based combinations. *Antimicrob Resist Infect Control* 2015; 4 (1): 2.
111. Tsuji B.T., Pogue J.M., Zavascki A.P. et al. International Consensus Guidelines for the optimal use of the polymyxins. *Pharmacotherapy* 2019; 39 (1): 10–39.
112. Cuhna B.C., Cuhna B.A. Antibiotic essentials. 15th edition. — Jaypee Brothers Medical Publishers, London, 2017.
113. European Medicines agency. Colistin Product Characteristics. Information to healthcare professionals. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/polymyxin-article-31-referral-european-medicines-agency-completes-review-polymyxin-based-medicines_en.pdf
114. Ni W., Cai X., Wei C. et al. Efficacy of polymyxins in the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a systematic review and meta-analysis. *Braz J Infect Dis* 2015; 19 (2): 170–180.
115. Yahav D., Farbmán L., Leibovici L., Paul M. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18 (1): 18–29.
116. Liu Y.Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016; 16 (2): 161–168.
117. Zúñiga O., Avni T., Leibovici L. et al. Systematic review and meta-analysis of *in vitro* synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (10): 5104–5111.
118. Ni W., Han Y., Liu J. et al. Tigecycline treatment for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95 (11): e3126.
119. Pournaras S., Vriani G., Neou E. et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37 (3): 244–247.
120. Perry J.D., Naqvi S.H., Mirza I.A. et al. Prevalence of faecal carriage of Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66 (10): 2288–2294.
121. Michalopoulos A., Vitzili S., Rafailidis P., Chalevelakis G., Damala M., Falagas M.E. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in critically ill patients: a prospective evaluation. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16 (2): 184–186.
122. Falagas M.E., Vouloumanou E.K., Samonis G., Vardakas K.Z. Fosfomycin. *Clin Microbiol Rev* 2016; 29 (2): 321–347.
123. Morrill H.J., Pogue J.M., Kaye K.S., LaPlante K.L. Treatment options for carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infect Dis* 2015; 2 (2): ofv050.
124. Karageorgopoulos D.E., Miragou V., Tzouveleakis L.S., Spyridopoulou K., Daikos G.L. Emergence of resistance to fosfomycin used as adjunct therapy in KPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: report of three cases. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67 (11): 2777–2779.
125. Castón J.J., Lacort-Peralta I., Martín-Dávila P. et al. Clinical efficacy of ceftazidime/avibactam versus other active agents for the treatment of bacteremia due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in hematologic patients. *Int J Infect Dis* 2017; 59: 118?123.
126. Shields R.K., Nguyen M.H., Chen L. et al. Ceftazidime-Avibactam is superior to other treatment regimens against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61 (8): e00883-17.
127. van Duin D., Lok J.J., Earley M. et al. Colistin versus ceftazidime-avibactam in the treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis* 2018; 66 (2): 163–171.
128. Tumbarello M., Trecarichi E.M., Corona A. et al. Efficacy of Ceftazidime-Avibactam Salvage Therapy in Patients With Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-producing *K.pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 2019; 68 (3): 355–364.
129. Alraddadi B.M., Saeedi M., Qutub M., Alshukairi A., Hassanien A., Wali G. Efficacy of ceftazidime-avibactam in the treatment of infections due to Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *BMC Infect Dis* 2019; 19 (1): 772.
130. Ackley R., Roshdy D., Meredith J. et al. Meropenem-vaborbactam versus ceftazidime-avibactam for treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; 64 (5): e02313–19.
131. Falcone M., Daikos G.L., Tiseo G. et al. Efficacy of ceftazidime-avibactam plus aztreonam in patients with bloodstream infections caused by

- MBL-producing Enterobacterales [published online ahead of print, 2020 May 19]. Clin Infect Dis 2020; ciaa586. doi:10.1093/cid/ciaa586
132. Tsolaki V., Mantzaris K., Mpakalis A. et al. Ceftazidime-avibactam to treat life-threatening infections by carbapenem-resistant pathogens in critically ill mechanically ventilated patients. Antimicrob Agents Chemother 2020; 64 (3): e02320–19.
 133. Shields R.K., Potoski B.A., Haidar G. et al. Clinical outcomes, drug toxicity, and emergence of ceftazidime-avibactam resistance among patients treated for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. Clin Infect Dis 2016; 63 (12): 1615–1618.
 134. Krapp F., Grant J.L., Sutton S.H., Ozer E.A., Barr V.O. Treating complicated carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections with ceftazidime/avibactam: a retrospective study with molecular strain characterization. Int J Antimicrob Agents 2017; 49 (6): 770–773.
 135. Shields R.K., Nguyen M.H., Chen L., Press E.G., Kreiswirth B.N., Clancy C.J. Pneumonia and renal replacement therapy are risk factors for ceftazidime-avibactam treatment failures and resistance among patients with carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62 (5): e02497–17.
 136. Sousa A., Pérez-Rodríguez M.T., Soto A. et al. Effectiveness of ceftazidime/avibactam as salvage therapy for treatment of infections due to OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother 2018; 73 (11): 3170–3175.
 137. Temkin E., Torre-Cisneros J., Beovic B. et al. Ceftazidime-avibactam as salvage therapy for infections caused by carbapenem-resistant organisms. Antimicrob Agents Chemother 2017; 61 (2): e01964–16.
 138. Guimarães T., Nouër S.A., Martins R.C.R. et al. Ceftazidime-avibactam as salvage therapy for infections caused by Enterobacterales co-resistant to carbapenems and polymyxins. Antimicrob Agents Chemother 2019; 63 (10): e00528–19.
 139. Bykov A., Suvorova M., Sychev I., Burmistrova E., Ismagilov A., Protsenko D., Yakovlev S. Clinical experience with ceftazidime-avibactam (CAZ-AVI) in the treatment of infections caused by XDR Klebsiella pneumoniae producing OXA-48 carbapenemase. 30th European Conference on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Paris, France. Abstract Boor 2020, abstract #5161. <https://markterfolg.de/ESCMID/Abstractbook2020.pdf>
 140. Chen W., Sun L., Guo L. et al. Clinical outcomes of ceftazidime-avibactam in lung transplant recipients with infections caused by extensively drug-resistant gram-negative bacilli. Ann Transl Med 2020; 8 (3): 39.
 141. Jorgensen S.C.J., Trinh T.D., Zasowski E.J., Lagnf A.M., Bhatia S., Melvin S.M. et al. Real-World Experience With Ceftazidime-Avibactam for Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. Open Forum Infect Dis 2019 Dec 6; 6 (12): ofz522.
 142. De la Calle C., Rodríguez O., Morata L. et al. Clinical characteristics and prognosis of infections caused by OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in patients treated with ceftazidime-avibactam. Int J Antimicrob Agents 2019; 53 (4): 520–524.
 143. Shaw E., Rombauts A., Tubau F. et al. Clinical outcomes after combination treatment with ceftazidime/avibactam and aztreonam for NDM-1/OXA-48/CTX-M-15-producing Klebsiella pneumoniae infection. J Antimicrob Chemother 2018; 73 (4): 1104–1106.
 144. Zhang Y., Tao L.N., Qu X.Y., Niu J.Q., Ding Y.H., Zhang S.X. Efficacy and safety of ceftazidime-avibactam in the treatment of complicated intra-abdominal infections (CIAIs) and complicated urinary tract infections (CUTIs): A meta-analysis of randomized controlled trials. Rev Assoc Med Bras. (1992) 2018; 64 (3): 253–263.
 145. Sternbach N., Leibovici Weissman Y., Avni T., Yahav D. Efficacy and safety of ceftazidime/avibactam: a systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2018; 73 (8): 2021–2029.
 146. Zhong H., Zhao X.Y., Zhang Z.L. et al. Evaluation of the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam in the treatment of Gram-negative bacterial infections: a systematic review and meta-analysis. Int J Antimicrob Agents 2018; 52 (4): 443–450.
 147. Onorato L., Di Caprio G., Signoriello S., Coppola N. Efficacy of ceftazidime/avibactam in monotherapy or combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: A meta-analysis. Int J Antimicrob Agents 2019; 54 (6): 735–740.
 148. Stewart A., Harris P., Henderson A., Paterson D. Treatment of Infections by OXA-48-Producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62 (11): e01195–18.
 149. Diel B., Martínez L.M., Calbo E., Garau J. Update on the role of ceftazidime-avibactam in the management of carbapenemase-producing Enterobacterales [published online ahead of print, 2020 Apr 17]. Future Microbiol 2020; 10.2217/fmb-2020-0012.
 150. Bassetti M., Poulakou G., Timsit J.F. Focus on antimicrobial use in the era of increasing antimicrobial resistance in ICU. Intensive Care Med 2016; 42 (6): 955–958.
 151. Filice G., Drekonja D., Greer N. et al. Antimicrobial Stewardship Programs in Inpatient Settings: A Systematic Review. Washington (DC): Department of Veterans Affairs (US); 2013.
 152. Barlam T.F., Cosgrove S.E., Abbo L.M. et al. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. Clin Infect Dis 2016; 62 (10): e51–e77.
 153. Яковлев С.В., Журавлева М.В., Проценко Д.Н. и др. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы. Consilium Medicum. — 2017. — Т.19 (7.1. Хирургия). — С. 15–51. / Yakovlev S.V., Zhuravleva M.V., Protsenko D.N. i dr. Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnoj Terapii) pri okazanii statsionarnoj meditsinskoj pomoshchi. Metodicheskie rekomendatsii dlya lechenbo-profilakticheskikh uchrezhdenij Moskvy. Consilium Medicum 2017; 19 (7.1. Khirurgiya): 15–51. [in Russian]
 154. Белобородов В.Б., Гусаров В.Г., Дехнич А.В. и др. Методические рекомендации «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами». Вестник анестезиологии и реаниматологии. — 2020. — Т. 17. — № 1. — С. 52–83. / Beloborodov V.B., Gusarov V.G., Dekhnich A.V. i dr. Metodicheskie rekomendatsii «Diagnostika i antimikrobnaya terapiya infektsij, vyzvannykh polirezistentnymi mikroorganizmami». Vestnik anesteziologii i reanimatologii 2020; 17: 1: 52–83. [in Russian]
 155. Jean S.S., Gould I.M., Lee W.S., Hsueh P.R.; International Society of Antimicrobial Chemotherapy (ISAC). New Drugs for Multidrug-Resistant Gram-Negative Organisms: Time for Stewardship. Drugs 2019; 79 (7): 705–714.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Яковлев Сергей Владимирович — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии №2 Института клинической медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва. ORCID 0000-0001-7606-8608

Суворова Маргарита Петровна — к. м. н., доцент кафедры госпитальной терапии №2 Института клинической меди-

цины Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва. ORCID 0000-0002-1389-6454

Быков Андрей Олегович — ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФДПО ФГАОВ ВО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, врач-реаниматолог ГКБ №40 ДЗ Москвы. ORCID 0000-0001-5244-7769

Биоплёнки микроорганизмов: современные представления

А. А. ХРЯНИН¹

¹ Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск

Microbial Biofilms: Modern Concepts

A. A. KHRYANIN

¹ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk

В обзоре обсуждаются современные представления о биоплёнках микроорганизмов. Рассматриваются фазы развития, строение и компоненты биоплёнок как возможные факторы антибиотикорезистентности (АБР). Приводятся примеры различных типов АБР у биоплёночных бактерий. Рассматривается процесс коллективной регуляции посредством координации экспрессии генов в популяции бактерий, опосредующий специфическое поведение клеток. Оценены различные подходы, оказывающие действие на компоненты биоплёнок с целью снижения уровня их резистентности/целостности с использованием сочетания антибактериальных препаратов и ферментов различного происхождения. Перспективными признаются способы воздействия на компоненты матрикса, сигнальные молекулы и факторы адгезии. Перспективным направлением повышения эффективности влияния антибиотиков на биоплёнки является применение гидролитических ферментов.

Ключевые слова: биоплёнки, матрикс, персистеры, антибиотикорезистентность, чувство кворума, ферменты.

The review discusses modern ideas concerning the biofilms of microorganisms. The development phases, structure and components of biofilms are considered as possible antibiotic resistance factors (ARF). Examples of various types of ADB in biofilm bacteria are given. The process of collective regulation through coordination of gene expression in a bacterial population that mediates the specific behavior of cells is considered. Various approaches that affect the components of biofilms have been evaluated in order to reduce their resistance/integrity using a combination of antibacterial drugs and enzymes of various origins. Promising methods for influencing matrix components, signaling molecules, and adhesion factors are recognized. A promising way to increase the effectiveness of the effect of antibiotics on biofilms is the use of hydrolytic enzymes.

Keywords: biofilms, matrix, persisters, antibiotic resistance, quorum sensing, enzymes.

Введение

Более 30 лет назад была сформулирована концепция микробных сообществ, получивших название «биоплёнки» (англ. — biofilms), которую признают одной из наиболее важных достижений последних лет для микробиологии и для медицины в целом [1]. Жизнь микробов в составе сообществ биоплёнок столь же принципиально отличается от этих давно сформировавшихся представлений, как жизнь охотника-одиночки от существования огромного мегаполиса [2, 3]. Существовавшие с момента открытия микробов Антони ван Левенгуком принципы изучения микроорганизмов базируются на представлениях, будто основной причиной инфекционного процесса и заболевания служит множество одинаковых и самостоятельных микроорганизмов.

Однако уже достоверно установлено, что и в естественных условиях, и в организме человека и животных, и в условиях производств все микробы существуют не как самостоятельные и изолирован-

ные клетки, а находятся в составе биоплёнок [4, 5]. Показано, что микробные сообщества образуют все представители нормальной микрофлоры и возбудители болезней. Формирование и распространение биоплёнок в организме играют важнейшую роль в развитии патологического процесса [6, 7].

В настоящее время доказано, что более 70% инфекционных заболеваний человека сопровождаются или опосредованы образованием биоплёнок (данные Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC)) [8]. К ним относят как основные инфекционные болезни всех систем и органов, так и «терапевтические» инфекции (например, *Helicobacter pylori*). При том, что инфекционные заболевания остаются ведущей причиной смертей во всем мире, очевидно, что именно применение антибиотиков служит основой этиотропной терапии большинства болезней. Появление в арсенале лекарственной терапии антибиотиков позволило за последние 70 лет резко снизить смертность и значительно повысило продолжительность жизни людей. Однако рост антибиотикорезистентности (АБР) в последние годы привлек внимание исследователей к феномену биоплёнок как одной из ведущих причин АБР [7–11].

© А. А. Хрянин, 2020

Адрес для корреспонденции:

E-mail: khryanin@mail.ru

Неуклонно растущий интерес исследователей к проблематике биоплёнок подчёркивается количеством публикаций на тему биоплёнок; например, ресурс PubMed отражает наличие более 38 тыс. публикаций на эту тему, статистика по годам приведена на рис. 1.

Биоплёнки

Явление образования биоплёнок открыто в середине 1980-х гг. [12–13]. Изначально биоплёнки микроорганизмов рассматривались как механизм, позволяющий бактериям выживать в сложных условиях. Однако дальнейшее изучение позволило понять, что биоплёнки служат естественной формой существования микробов, в то время как планктонные (свободные) формы представляют лишь одну из стадий развития микробного сообщества [6, 14–15].

В течение последующих лет исследований биоплёнок было доказано, что биоплёнкообразование присуще массе патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [16–17], а механизм образования биоплёнок расценивается как фактор патогенности [6, 7, 16].

Строение биоплёнок

Микробные биоплёнки — это сообщества, образованные родственными и неродственными бактериями, отграниченными от внешней среды, при этом клетки внутри сообществ имеют специализацию и контактируют между собой.

Ключевыми особенностями биоплёнок считаются:

- изоляция от окружающей среды оболочкой;
- образование внеклеточного матрикса;
- наличие межбактериальных контактов и взаимодействия;

- кооперация клеток, образующих биоплёнку и наличие у них дифференциации признаков.

Все представители нормальной микрофлоры в организме человека существуют в составе биоплёнок. Микробы в составе биоплёнки поддерживают свой состав и расселяются за счёт клеток, которые периодически высвобождаются и мигрируют, способствуя распространению инфекции. Биоплёнки разных микробов имеют сходный принцип строения. Основными компонентами являются собственно бактерии, межклеточный матрикс и поверхностная оболочка, отграничивающая сообщество от окружающей среды [8, 11, 18–19]. В состав поверхностной оболочки и матрикса биоплёнок входят полисахариды в количестве от 40 до 95% (в т.ч. декстран, гиалуроновая кислота, целлюлоза и др.). Концентрация прочих химических компонентов сильно варьирует. Доля белков может составлять до 60%, липидов — до 40% и нуклеиновых кислот (внеклеточной ДНК и РНК) — 1–20%. Данные соединения находятся в гидратированном состоянии, т. к. 80–90% объёма биоплёнки занимает вода [8, 13]. Известно, что внеклеточная ДНК и белки бактериальных биоплёнок играют важную роль в морфогенезе и функциональных изменениях биоплёнок, необходимых для их сохранения [20–21].

Матрикс, внеклеточная полимерная субстанция (extracellular polymeric substances), внутренняя среда сообществ биоплёнок, имеет огромное значение в жизни микробного сообщества: он формирует внутреннюю среду, может связывать или не пропускать, и/или инактивировать антибиотики; обеспечивает циркуляцию питательных веществ и жидкостей, транспорт токсинов, метабо-

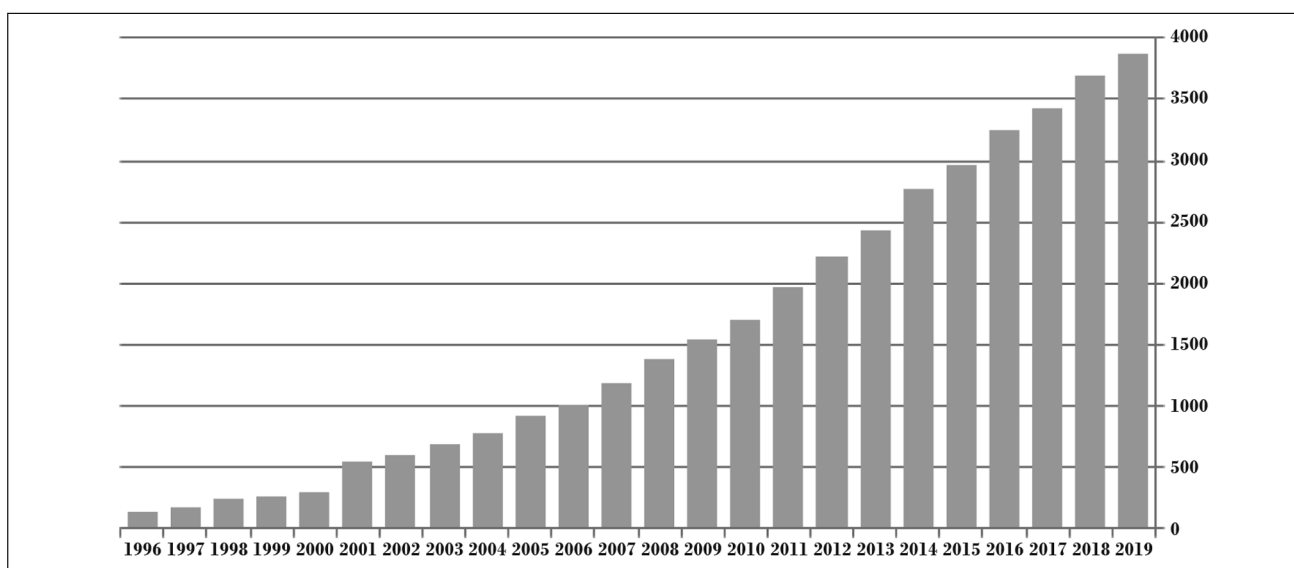


Рис. 1. Динамика числа статей по тематике биоплёнок (biofilms); (дата обращения — 17.04.2020, Pubmed.gov)

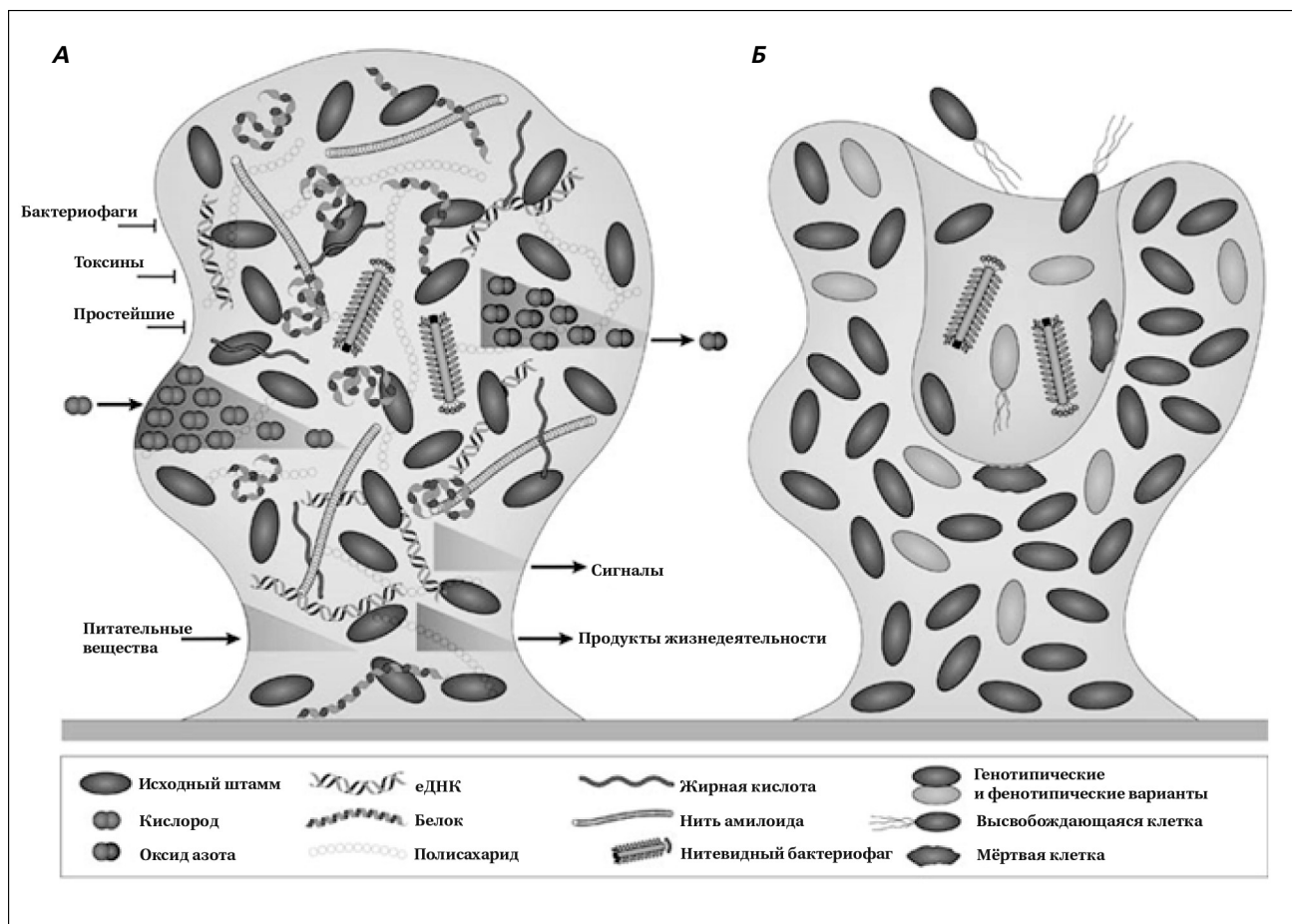


Рис. 2. Ультраструктура биоплёнок (цит. по [22]).

литов, газов, сигнальных молекул и т. п. (рис. 2) [20–23]. На рис. 2 представлено многообразие внутренней среды колоний: помимо собственно клеток с признаками дифференциации, матрикс содержит белки и полисахариды, жирные кислоты и другие продукты жизнедеятельности; фрагменты ДНК, а также массу низкомолекулярных веществ, имеющих регуляторную функцию, т. н. сигнальных молекул.

Поверхностная мембрана состоит из компонентов клеточных мембран участников сообщества и обладает схожими свойствами (рис. 3).

Бактерии внутри изолированных биоплёнок приобретают дополнительные преимущества по сравнению с изолированными клетками. Для практической медицины особенно важно, что микробы в биоплёнках характеризуются повышенной выживаемостью в присутствии антимикробных веществ, факторов иммунного надзора, антибиоти-

ков и антисептиков. Бактерии в биоплёнках выживают в присутствии антибиотиков в дозах, в 500–1000 раз выше их минимальной подавляющей концентрации [10, 16]. Столь разительное изменение устойчивости к антибиотикам у бактерий в биоплёнках является предметом интенсивного изучения. Очевидно, что в основе по-

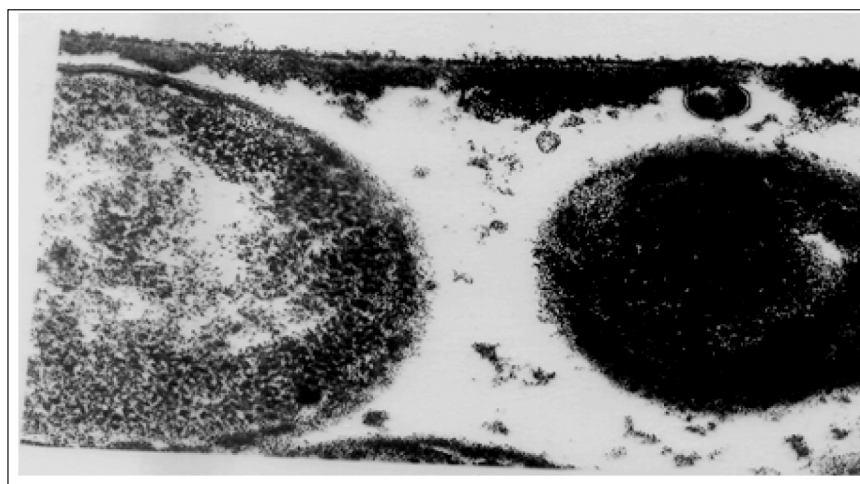


Рис. 3. Ультраструктура поверхностной мембраны биоплёнки *Escherichia coli* (ATCC 25922), (цит. по [2]).

Таблица 1. Компоненты биоплёнок как факторы АБР

Компонент	Функции
Поверхностная плёнка	Защита от внешних воздействий Барьер для веществ, включая антибиотики Обратный транспорт (эффлюкс) Рецепторы
Межклеточное вещество	Создаёт среду сообщества Накопление метаболитов Накопление токсинов Транспорт сигнальных молекул Связывание веществ, проникающих в сообщество, включая антибиотики
Внеклеточная ДНК	Способствует перераспределению генетической информации между клетками

Таблица 2. Примеры различных типов АБР у биоплёночных бактерий

Вариант АБР	Бактерия, у которой обнаружен данный тип устойчивости	Биохимический механизм возникновения устойчивости	Ссылка
Нарушение проницаемости наружной мембраны	<i>Vibrio cholerae</i>	Мутации, ведущие к структурным изменениям порина OmpU	[25]
Активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Гиперэкспрессия MexCD-OprJ эффлюкс-помпы	[26]
Инактивация антибиотика	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Продукция β -лактамаз	[27]
Модификация мишени действия	<i>Staphylococcus aureus</i>	Мутации, изменившие ДНК-зависимую РНК-полимеразу — основную мишень рифампицина	[28]

добной улучшенной выживаемости находятся свойства внеклеточного матрикса и поверхностной мембраны (табл. 1).

Компоненты биоплёнки как факторы АБР

Для отдельных (планктонных) микробных клеток описаны пять основных типов устойчивости к антибиотикам: инактивация антибиотика, модификация мишени, активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс), нарушение проницаемости внешней оболочки микробной клетки, формирование метаболического шунта [24].

Накопленная к настоящему времени научная информация позволяет видеть, что у микробов в биоплёнках присутствуют почти все типы известной «планктонной» резистентности (табл. 2).

Эффективность проникновения антибиотиков в значительной степени связана с их способностью преодолевать поверхностную оболочку и межклеточный матрикс биоплёнок. В составе последних содержится значительное количество различных липидов, по качественному составу аналогичных мембранным [29, 30].

Установлено, например, что в сообщества *Klebsiella pneumoniae* плохо проникает ампициллин, а в биоплёнке *Enterococcus faecalis* — ампициллин, ко-тримаксозол и ванкомицин [31, 32]. В биоплёнке ряда микробов по тем же механизмам затруднено проникновение амоксициллина [33].

Однако в биоплёнках существуют ещё и особые, присущие только им формы устойчивости, которые могут быть связаны по крайней мере с тремя или даже более типами механизмов [34, 35].

Первым из них следует считать формирование клеток-персистеров. Персистеры — это клетки с особым фенотипическим вариантом генотипа, с сильно заторможенным метаболизмом. Подобную метаболическую инертность клеток с выключением биохимических реакций иногда называют бактериальным анабиозом [36]. Именно поэтому персистеры устойчивы практически ко всем препаратам [36–38].

По разным данным и в разных популяциях, доля персистеров сильно различается, составляя от 15 до 85%, при этом отмечается, что в неблагоприятных условиях она значительно возрастает [38–40].

Внутри как мономикробных, так и неродственных (полимикробных) сообществ резистентность может быть связана с фильтрующей способностью матрикса. Матрикс образует внутреннюю среду сообщества, пространственно и функционально связывая клетки в единую структуру, заполняет всё межклеточные пространства, образуя трёхмерную сложнейшую систему, созревающую вместе с сообществом. Всё это позволяет считать поверхностную мембрану и матрикс своеобразным «молекулярным фильтром» и выделять фильтрацию поступающих веществ в качестве одной из важнейших функций биоплёнки [20, 41, 42]. Опубликованы работы, в которых наблюдали замедленную диффузию антибиотиков внутрь биоплёнок. Например, было описано затруднение пенетрации цiproфлоксацина внутрь биоплёнки, сформированной *Pseudomonas aeruginosa* [43]. Показано, что поверхностно (по отношению к мембране биоплёнки) расположенные бактерии сильнее подвержены воздействию антибиотика, чем глубоко расположенные клетки [44]. Механизмом этих эффектов

может быть как связывание антибактериальных агентов, так и их инактивация.

Предложена 3-уровневая систематизация устойчивости бактерий к антибиотикам, учитывающая наличие биоплёнок [45]. Связанный с биоплёнками надклеточный уровень устойчивости определяют как толерантность, она опосредуется трудностями преодоления антибиотиком (-ами) поверхностной оболочки и матрикса биоплёнки, а также отсутствием действия антибиотика на часть популяции клеток (персистеры), которые находятся в неактивном состоянии [46]. Второй уровень устойчивости связан со свойствами клеточной стенки и наличием выкачивающих помп, обеспечивающих резистентность к противомикробным препаратам. Третий уровень — цитоплазматический, ассоциированный с изменением доступности мишени антибиотика и регуляцией генов. Также показано, что спорообразующие бактерии имеют ещё и 4-й уровень, связанный с устойчивостью бактериальных спор к действию антибиотиков и антисептиков/дезинфектантов [35, 47].

К интересным и важным следует отнести и обнаруженный феномен «читинга» (от *англ.* cheating — обман, мошенничество), который заключается в следующем: даже дефектные по способности синтезировать биоплёночный матрикс и формировать самостоятельные биоплёнки микроорганизмы могут участвовать в биоплёнокообразовании, используя компоненты биоплёнок, продуцируемые другими микробами [20, 48]. В данном контексте само понятие «небиоплёнокообразующие микроорганизмы» теряет свой смысл.

Ещё одной ключевой особенностью биоплёнок, как коопераций бактерий, является феномен Quorum sensing (QS), дословно — чувство кворума. QS — это процесс коллективной регуляции при помощи координации экспрессии тех или иных генов, опосредующий специфическое поведение клеток и синтез веществ. Впервые явление межклеточной коммуникации обнаружено и описано у симбиотической морской бактерии *Vibrio fischeri* [49]. Формирование, рост, дифференциация планктонных и биоплёночных фенотипов клеток в биоплёнках регулируются на уровне популяции посредством механизмов межклеточной коммуникации, формируясь при достижении некоей критической массы/количества бактерий-участников [50]. Установлено, что межклеточные взаимосвязи влияют на экспрессию генов вирулентности, регулируют рост участников сообщества, направление и характер подвижности (таксис), а также процессы апоптоза и токсинообразования [34, 35, 50].

Функция QS аналогична гормональной регуляции органов в многоклеточном организме. Разные микробы используют различные сигнальные системы и разные химические передатчики сиг-

налов: 7–8-членные пептиды и циклопептиды характерны для грамположительных, а разнообразные ацилгомосерин лактоны (AHL) — для грамотрицательных микроорганизмов [8]. QS на основе AHL обнаружен у многих грамотрицательных бактерий: *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Vibrio*, *Yersinia* и др. [51]. Именно реакции QS опосредуют «социальные» отношения в микробной популяции, образуется «коммуникационная сеть», при этом важно, что такое «общение» возможно и среди неродственных микроорганизмов.

Биоплёнка так же является идеальной нишей для обмена генетической информацией между бактериями. Антибиотикорезистентные бактерии способны не только выделять защитные ферменты или протеины, которые могут защищать соседние антибиотикочувствительные бактерии в биоплёнке [22], но и передавать другим, даже не родственным по виду, бактериям гены, ответственные за антибиотикорезистентность [29].

Подходы к терапии

Понимание того факта, что микроорганизмы в составе биоплёнок обретают новые свойства, предполагающие существенное снижение чувствительности к стандартным методам этиотропной терапии, включающей антибиотики, заставляет исследовать всё новые способы воздействия. Кратное увеличение дозировок антибактериальных средств малоэффективно, ибо достижение эффективных концентраций в условиях *in vivo* недостижимо по понятным причинам. Поэтому рассматривается масса подходов, оказывающих влияние на компоненты биоплёнок с целью снижения уровня их резистентности/целостности с использованием сочетания антибактериальных препаратов [52], антисептиков [52–54], органических кислот [54, 55], солей металлов [56], микробных метаболитов и бактериофагов [57, 58], ферментов различного происхождения [59–61], муколитиков [62, 63]. Перспективными признаются способы воздействия на компоненты матрикса, сигнальные молекулы, факторы адгезии [64].

Использование в качестве адъювантов антимикробной терапии ферментов насчитывает не одно десятилетие [10, 65–70]. Показана возможность влияния на формирующиеся биоплёнки с помощью лизоцима, альгинатлиазы, целлюлазы [71], различных протеиназ и их комбинаций [65–69], ДНК-азы [72], гиалуронидазы [73].

Сложная организация и состав матрикса биоплёнок, разнообразие сигнальных молекул как возможных объектов воздействия обосновывает применение комбинаций гидролитических энзимов с протео-, липо- и амилолитической активностью и возможностью влияния на нуклеин-со-

державшие компоненты биоплёнок. Официальные препараты (Вобэнзим, Флогэнзим), содержащие требуемые комбинации, объединяются понятием «системная энзимотерапия» и также применяются в сочетании с антибиотиками в терапии многих заболеваний [74]. Исследования действия отдельных протеолитических гидролитических энзимов и их комбинаций на формирование микробных биоплёнок показали дозозависимое угнетение процессов формирования биоплёнок для стандартных штаммов и биоплёнок бактерий, изолированных от больных (тест-штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий из различных коллекций: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 и выделенные от больных с флегмонами и абсцессами в области головы и шеи, а также от больных шигеллезами в клиниках Санкт-Петербурга — *Staphylococcus aureus* VT-38, *Staphylococcus epidermidis* VT-27 и VT-43, *Shigella flexneri* 2a-VT12406). Причём результаты были более выраженные при раннем внесении энзимов (в растущие биоплёнки) полной комбинации энзимов (Вобэнзим) [60]. Эффект антибиотиков в присутствии отдельных энзимов и их комбинаций усиливался: при использовании моноэнзимов (папаин или трипсин) число КОЕ снижалось в среднем в 3 раза, а при использовании Вобэнзима в 5 раз [60]. Немаловажно, что пациенты, от которых производился забор бактерий для данного исследования, в дальнейшем получали терапию антибиотиками и Вобэнзимом и имели достоверно лучшие результаты лечения бактериальных инфекций, чем при стандартной терапии антибиотиками без системной энзимотерапии [75, 76].

Описана способность комплекса гидролитических энзимов, входящих в состав Вобэнзима, уменьшать количество внеклеточного матрикса, что способствовало снижению эффективности

передачи генов (в т. ч., плазмид резистентности) между бактериями биоплёнок [61].

Установлено статистически значимое снижение частоты передачи плазмидных генов антибиотикоустойчивости в бактериальных биоплёнках использованных штаммов (*E.coli* HB101, tetR, имеющие хромосомный ген устойчивости к тетрациклину и *E.coli* DH5 alfa, рuc 19 ampR, несущие ген устойчивости к ампициллину) [61]. Эти данные служат объяснением известной и показанной в клинических исследованиях способности препаратов системной энзимотерапии повышать эффективность антибактериальной терапии [67–69, 74–79].

Заключение

Бактериальные биоплёнки — это сообщества микроорганизмов, встроенных в матрикс внеклеточных полимерных веществ (субстанций), которые продуцируются самими бактериями биоплёнки и включают белки, полисахариды, нуклеотиды в разных соотношениях. Состав внеклеточных полимерных веществ видоспецифичен, а также варьирует в зависимости от условий формирования биоплёнки. Биоплёнка должна рассматриваться как защитная структура, которая благодаря свойствам матрикса, позволяет клеткам пережить неблагоприятные условия. Это нормальная и предпочтительная форма существования консорциума. Наличие биоплёнок является одним из главных факторов развития антибиотикорезистентности. Пути преодоления устойчивости в биоплёнке направлены, во-первых, на предотвращение адгезии, во-вторых, на предотвращение перехода к образованию биоплёнки и подавление роста (антибиотики, биоциды) и, в-третьих, на разрушение сформированной биоплёнки (медиаторы чувства кворума, ферментные препараты).

ЛИТЕРАТУРА

- Characklis W.G., Cooksey K.E. Biofilms and microbial fouling. Adv Appl Microbiol 1983; 29: 93–137. doi: 10.1016/S0065-2164(08)70355-1.
- Клеточные сообщества. Под ред. Тетса В. В. СПб.: 1998. — 220 с. / Kletochnye soobshchestva. Pod red. Tetsa V. V. SPb.: 1998; 220. [in Russian]
- Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленки — город микробов или аналог многоклеточных организмов? Микробиология. — 2007. — Т. 76. — № 2. — С. 125–138. / Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Bioplenki — gorod mikrobov ili analog mnogokletochnykh organizmov? Mikrobiologiya 2007; 76 (2): 125–138. [in Russian]
- Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Биоплёнки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и система регуляции их развития. Генетика. — 2004. — Т. 40. — № 11. — С. 1445–1456. / Il'ina T.S., Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Bioplenki kak sposob sushchestvovaniya bakterij v okruzhayushchej srede i organizme khozyaina: fenomen, geneticheskij kontrol' i sistema reguljatsii ikh razvitiya. Genetika 2004; 40 (11): 1445–1456. [in Russian]
- Тутельян А.В., Юшина Ю.К., Соколова О.В. и др. Образование биологических плёнок микроорганизмов на пищевых производствах. Вопросы питания. — 2019. — Т. 88. — № 3. — С. 32–43. Doi: 10.24411/0042-8833-2019-10027. / Tutel'yan A.V., Jyushina Yu.K., Sokolova O.V. i dr. Obrazovanie biologicheskikh plenok mikroorganizmov na pishchevykh proizvodstvakh. Voprosy pitaniya 2019; 88 (3): 32–43. Doi: 10.24411/0042-8833-2019-10027. [in Russian]
- Stoodley P., Sauer K., Davies D. G., Costerton J. W. Biofilms as complex differentiated communities. Ann Rev Microbiol 2002; 56: 187–209. doi: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
- Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999; 284: 1318–1322. doi: 10.1126/science.284.5418.1318.
- Тец В.В., Тец Г.В. Микробные биоплёнки и проблемы антибиотикотерапии. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. — 2013. — № 4. — С. 60–64. / Tets V.V., Tets G.V. Mikrobnye bioplenki i problemy antibiotikoterapii. Atmosfera. Pul'monologiya i Allergologiya 2013; 4: 60–64. [in Russian]
- Kiechowski M.R., Horswill A. R. New approaches for treating Staphylococcal biofilm infections. Ann NY Acad Sci 2011; 1241: 104–121. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06281.x.
- Кнорринг Г.Ю., Стернин Ю.И., Минаев С.В., Новожилов А.А. Интенсификация антибактериальной терапии при гнойно-воспалительных заболеваниях. Военно-медицинский журнал. — 2008. — № 329 (10). — С. 35–41. / Knorring G.Jyu., Sternin Ju.I., Minaev S.V., Novozhilov A.A. Intensifikatsiya antibakterial'noj terapii pri gnojno-vospalitel'nykh zabolevaniyakh. Voenno-Meditsinskij Zhurnal 2008; 329 (10): 35–41. [in Russian]
- Costerton W., Veeh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. Clin Invest 2003; 112: 1466–1477. doi: 10.1172/JCI20365.
- Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A. Ultrastructure of surface film of bacterial colonies. J Gen Microbiol 1993; 137: 1081–1088. doi: 10.1099/00221287-139-4-855.

13. *Marshag P.A., Loeb G.I., Cowan M.M., Fletcher M.* Response of microbial adhesives and biofilm matrix polymers to chemical treatments as determined by interference reflection microscopy and light section microscopy. *Appl Environ Microbiol* 1989; 55: 2827–831.
14. *Tetz V.V.* Colony-like communities of bacteria. *Microbios.* 1994;80(322):63–5.
15. *O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R.* Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol* 2000; 54: 49–79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49.
16. *Gristina A.G.* Biofilms and chronic bacterial infections. *Clin Microbiol Newslett* 1994; 16 (22): 171–176. doi: //doi.org/10.1016/0196-4399(94)90037-X.
17. *Donlan R.M., Costerton J.W.* Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 167–193. doi: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002.
18. *Sponza D.T.* Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb Technol* 2003; 32: 375–385.
19. *Sutherland I.W.* Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147: 3–9. doi: 10.1099/00221287-147-1-3.
20. *Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Маянский Н.А.* Матрикс микробных биоплёнок. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2016. — Т. 18. — № 1. — С. 9–19. / *Chebota' I.V., Mayanskij A.N., Mayanskij N.A.* Matriks mikrobnkh bioplenok. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya 2016; 18 (1): 9–19. [in Russian]
21. *Тец Г.В., Артеменко Н.К., Вечерковская М.Ф., Тец В.В.* Роль матричных компонентов во взаимодействии бактериофагов с биоплёночными бактериями. Практическая пульмонология. — 2017. — № 3. — С. 55–57. / *Tets G.V., Artemenko N.K., Vechevskaya M.F., Tets V.V.* Rol' matrichnykh komponentov vo vzaimodejstvii bakteriofagov s bioplenochnymi bakteriyami. Prakticheskaya pul'monologiya 2017; 3: 55–57. [in Russian]
22. *McDougald D., Rice S., Barraud N. et al.* Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 39–50. doi: https://doi.org/10.1038/nrmicro2695.
23. *Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A.* Ultrastructural features of microbial colony organization. *J Basic Microbiol* 1990; 30 (8): 597–607. doi: 10.1002/jobm.3620300819.
24. *Стречунский Л.С., Козлов С.Н.* Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. М.: Боргес, 2002. — 432 с. / *Strachunskij L.S., Kozlov S.N.* Sovremennaya antimikrobnaya khimioterapiya. Rukovodstvo dlya vrachej. M.: Borges, 2002; 432. [in Russian]
25. *Pagel M., Simonet V., Li J., Lallemand M. et al.* Phenotypic characterization of pore mutants of the *Vibrio cholerae* porin OmpU. *J Bacteriol* 2007; 189: 8593–8600. doi: 10.1128/JB.01163-07.
26. *Mandsberg L.F., Ciofu O., Kirkby N. et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains with increased mutation frequency due to inactivation of the DNA oxidative repair system. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 2483–2491. doi: 10.1128/AAC.00428-08.
27. *Ciofu O.* *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal betalactamase in patients with cystic fibrosis and chronic lung infection. Mechanism of antibiotic resistance and target of the humoral immune response. *APMIS Suppl* 2003; 116: 41–47.
28. *Yu J., Wu J., Francis K.P. et al.* Monitoring *in vivo* fitness of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* mutants in a mouse biofilm infection model. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 528–534. doi: 10.1093/jac/dki053.
29. *Tetz V.V., Korobov V.P., Artemenko N.K. et al.* Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities Biofilms 2004; 1: 149–155. doi: 10.1017/S147905050400136X.
30. *Chambless J.D., Hunt S.M., Philip S.S.* A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials *Appl Environmental Microbiol* 2006; 72: 2005–2013. doi: 10.1128/AEM.72.3.2005-2013.2006.
31. *Anderl J.N., Franklin M.J., Stewart P.S.* Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1818–1824.
32. *Sandoe J.A.T., Wysome J., West A.P. et al.* Measurement of ampicillin, vancomycin, linezolid and gentamicin activity against enterococcal biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 767–770.
33. *Yang Y., Sreenivasan P.K., Subramanyam R., Cummins D.* Multiparameter assessments to determine the effects of sugars and antimicrobials on a polymicrobial oral biofilm. *Appl Environmental Microbiol* 2006; 72: 6734–6742. doi:10.1128/AEM.01013-06.
34. *Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. и др.* Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2012. — Т. 4. — № 1. С. 51–58. / *Chebota' I.V., Mayanskij A.N., Konchakova E.D. i dr.* Antibiotikorezistentnost' bioplenochnykh bakterij. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya 2012; 4 (1): 51–58. [in Russian]
35. *Тец В.В., Вечерковская М.Ф., Тец Г.В.* Споробактериот: свойства и роль в патологии человека. Лечебное дело. — 2018. — № 4. — С. 90–96. doi: 10.24411/2071-5315-2018-12072. / *Tets V.V., Vechevskaya M.F., Tets G.V.* Sporobacteria: svojstva i rol' v patologii cheloveka. Lechebnoe delo 2018; 4: 90–96. doi: 10.24411/2071-5315-2018-12072. [in Russian]
36. *Lewis K.* Persister cells. *Annu Rev Microbiol* 2010; 64: 357–372. doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134306.
37. *Льюис К.* Персистирующие клетки и загадка выживания биоплёнок. Биохимия. — 2005. — № 70 (2). — С. 327–336. / *Ljyuis K.* Persistiruyushchie kletki i zagadka vyzhivaniya bioplenok. Biokhimiya 2005; 70 (2): 327–336. [in Russian]
38. *Плакунов В.К., Стрелкова Е.А., Журина М.В.* Персистенция и адаптивный мутагенез в биоплёнках. Микробиология. — 2010. — № 79 (4). — С. 447–458. / *Plakunov V.K., Strelkova E.A., Zhurina M.V.* Persistsiya i adaptivnyj mutagenез v bioplenkakh. Mikrobiologiya 2010; 79 (4): 447–458. [in Russian]
39. *Harrison J.J., Ceri H., Roper N.J. et al.* Persister Cells mediate tolerance to metal oxyanions in *Escherichia coli*. *Microbiology* 2005; 151: 3181–3195. doi: 10.1099/mic.0.27794-0.
40. *Shah K.D., Spoering A.N., Lewis K.K.* Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2004; 186: 8172–8180. doi: 10.1128/JB.186.24.8172-8180.2004.
41. *Романова Ю.М., Гинцбург А.Л.* Бактериальная биоплёнка как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2011. — № 3. — С. 99–109. / *Romanova Jy.M., Gintsburg A.L.* Bakterial'naya bioplenka kak estestvennaya forma sushchestvovaniya bakterij v okruzhajushchej srede i organizme khozayina. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii 2011; 3: 99–109. [in Russian]
42. *Dunne W.M. Jr.* Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 155–166. doi: 10.1128/cmr.15.2.155-166.2002.
43. *Suci P.A., Mittelman M.W., Yu F.P., Geesey G.G.* Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2125–2133. doi: 10.1128/aac.38.9.2125.
44. *Amorena B., Gracia E., Monzon M. et al.* Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilms developed *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 43–55. doi: 10.1093/jac/44.1.43.
45. *Zhou G., Shi Q.S., Huang X.M., Xie X.B.* The Three Bacterial Lines of Defense against Antimicrobial Agents. *Int J Mol Sci* 2015; 16 (9): 21711–21733. doi: 10.3390/ijms160921711.
46. *Balcázar J.L., Subirats J., Borrego C.M.* The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Front Microbiol* 2015; 6: 1216. doi: 10.3389/fmicb.2015.01216.
47. *Tetz G.V., Tetz V.V.* Introducing the sporobacteria and sporobiome. *Gut Pathogens* 2017; 9: 38. doi: 10.1186/s13099-017-0187-8.
48. *Boyle K.E., Heilmann S., van Dittmarsch D., Xavier J.B.* Exploiting social evolution in biofilms. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16 (2): 207–212. doi: 10.1016/j.mib.2013.01.003.
49. *Williams P.* Quorum sensing, communication and crosskingdom signalling in the bacterial world *Microbiology* 2007; 153: 3923–3938. doi: 10.1099/mic.0.2007/012856-0.
50. *Mehta P. et al.* Information processing and signal integration in bacterial quorum sensing. *Mol. Syst Biol* 2009; 5: 325. doi: 10.1038/msb.2009.79.
51. *McDougald D. et al.* Signal-mediated cross-talk regulates stress adaptation in *Vibrio* species. *Microbiology* 2003; 149 (7): 1923–1933. doi: 10.1099/mic.0.26321-0.
52. *Davies D.* Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 114–122. doi: 10.1038/nrd1008.
53. *Чекулаев М. В.* Воздействие различных химических и биологических факторов на биоплёнки условно-патогенных микроорганизмов. Наука-2020. — 2019. — № 8 (33). — С. 79–88. / *Chekulaev M. V.* Vozdejstvie razlichnykh khimicheskikh i biologicheskikh faktorov na bioplenki uslovno-patogennykh mikroorganizmov. Nauka-2020 2019; 8 (33): 79–88. [in Russian]
54. *Коломойцева Т.Н.* Опыт применения препарата Гексикон в терапии смешанных бактериально-грибковых инфекций влагалища. Новые технологии в охране репродуктивного здоровья: Материалы региональной научно-практической конференции. Пермь, 2003. — С. 60–61. / *Kolomoitseva T.N.* Opyt primeneniya preparata Geksikon v terapii smeshannykh bakterial'no-gribkovykh infektsij vlagalishcha. Novye tekhnologii v okhrane reproduktivnogo zdorov'ya: Materialy regional'noj nauchno-prakticheskoy konferentsii. Perm', 2003; 60–61. [in Russian]
55. *Кира Е.Ф., Прилепская В.Н., Костава М.Н. и др.* Современные подходы к выбору препарата локального действия в терапии бактериального вагиноза. Акушерство и гинекология. — 2012. — № 7. — С. 59–67. / *Kira E.F., Prilepskaya V.N., Kostava M.N. i dr.* Sovremennye podkhody k vyboru preparata lokal'nogo dejstviya v terapii bakterial'nogo vaginoza. Akusherstvo i ginekologiya 2012; 7: 59–67. [in Russian]
56. *Milani M., Barcellona E., Agnello A.* Efficacy of the combination of oral tinidazole and acidic buffering vaginal gel in comparison with vaginal clindamycin alone in bacterial vaginosis: a randomized, investigator-blinded, controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 109 (1): 67–71.

57. Campanac C., Pineau L., Payard A. et al. Interactions between Biocide Cationic Agents and Bacterial Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1469–1474. doi: 10.1128/aac.46.5.1469-1474.2002.
58. Полягач О.А., Дабизева А.Н., Ворошилова Н.Н. Влияние композиции литических бактериофагов *P.aeruginosa* на формирование и разрушение бактериальных биоплёнок. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2018. — Т. 17. — № 4. — С. 20–25. / *Polygach O.A., Dabizheva A.N., Voroshilova N.N.* Vliyaniye kompozitsii liticheskikh bakteriofagov *P.aeruginosa* na formirovaniye i razrusheniye bakterial'nykh bioplenok. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika* 2018; 17 (4): 20–25. [in Russian]
59. Марков А.А., Тимохина Т.Х., Паромова Я.И. Экспериментальное обоснование применения экзотомоболитов *Bifidobacterium bifidum* для предотвращения биоплёнокообразования на поверхности титановых имплантатов с пористым покрытием. Медицинская наука и образование Урала. — 2018. — Т. 19. — № 1. — С. 153–156. / *Markov A.A., Timokhina T.Kh., Paromova Ya.I.* Eksperimental'noye obosnovaniye primeneniya ekzotomobolitov *bifidobacterium bifidum* dlya predotvrashcheniya bioplenkoobrazovaniya na poverkhnosti titanovykh implantatov s poristym pokrytiem. *Meditinskaya Nauka i Obrazovanie Urala*. — 2018; 19 (1): 153–156. [in Russian]
60. Тец В.В., Кнорринг Г.Ю., Артеменко Н.К. et al. Влияние экзогенных протеолитических ферментов на бактерии. Антибиотики и химиотер. — 2004. — Т. 49. — № 12. — С. 9–13. / *Tets V.V., Knorring G.Jyu., Artemenko N.K.* et al. Vliyaniye ekzogenykh proteoliticheskikh fermentov na bakterii. *Antibiotiki i khimioter* 2004; 49 (12): 9–13. [in Russian]
61. Тец Г.В., Артеменко Н.К., Заславская Н.В. и др. Влияние экзогенных протеолитических ферментов на передачу плазмидных генов в смешанных бактериальных биоплёнках. Антибиотики и химиотер. — 2009. — Т. 54. — № 9–10. — С. 3–5. / *Tets G.V., Artemenko N.K., Zaslavskaya N.V. i dr.* Vliyaniye ekzogenykh proteoliticheskikh fermentov na peredachu plazmidnykh genov v smeshannykh bakterial'nykh bioplenkakh. *Antibiotiki i khimioter* 2009; 54 (9–10): 3–5. [in Russian]
62. Macchi A., Ardito F., Marchese A. et al. Efficacy of N-acetylcysteine in combination with thiamphenicol in sequential (intramuscular/aerosol) therapy of upper respiratory tract infections even if sustained by bacterial biofilms. *J Chemotherapy* 2006; 18: 507–513.
63. Roveta A., Debbia E., Schito G., Marchese A. Comparison of the activity of N-acetylcysteine, ambroxol, bromexine and sobrerol on *Staphylococcus aureus* biofilms. *GIMMOC* 2004; 8: 1–12.
64. Mark D., Becker P., Chatterjee I. et al. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. *Int J Med Microbiol* 2004; 294: 203–212. doi: 10.1016/j.ijmm.2004.06.015.
65. Lueri M., Vignali M. Influence of bromelain on penetration of antibiotics in uterus, salpinx and ovary. *Drugs Expl Clin Res* 1978; 4 (1): 45–48.
66. Barsom S., Sasse-Rollenhagen K., Betrmann A. Erfolgreiche Prostatitisbehandlung mit hydrolytischen Enzymen. *Erfahrungsheilkunde* 1982; 31: 2.
67. Ремезов А.П., Кнорринг Г.Ю. Системная энзимотерапия в комплексной терапии инфекционных болезней. Лечащий врач. — 2003. — № 9. — С. 74–75. / *Remezov A.P., Knorring G.Jyu.* Sistemnaya enzimoterapiya v kompleksnoy terapii infektsionnykh boleznej. *Lechashchij vrach* 2003; 9: 74–75. [in Russian]
68. Ремезов А.П., Кнорринг Г.Ю. Системная энзимотерапия в лечении инфекций, передаваемых половым путем. Клиническая дерматология и венерология. — 2005. — № 1. — С. 83. / *Remezov A.P., Knorring G.Jyu.* Sistemnaya enzimoterapiya v lechenii infektsij, peregdaemykh polovym putem. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya* 2005; 1: 83. [in Russian]
69. Хрянин А.А. Эффективность комплексного применения доксициклина моногидрата и флогэнзима в лечении больных с хронической урогенитальной хламидийной инфекцией. Вестник дерматологии и венерологии. — 2004. — № 5. — С. 37–41. / *Khryanin A.A.* Effektivnost' kompleksnogo primeneniya doksitsiklina monogidrata i flogenzima v lechenii bol'nykh s khronicheskoy urogenital'noy khlamidijnoy infektsiej. *Vestnik dermatologii i venerologii* 2004; 5: 37–41. [in Russian]
70. Гостышев В.К. Энзимотерапия неспецифической хирургической инфекции. Автореф. докт. мед. наук. М.: 1972. / *Gostishchev V.K.* Enzimoterapiya nespetsificheskoy khirurgicheskoy infektsii. *Avtoref. dokt. med. nauk.* М.: 1972.
71. Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention Approaches in the Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2018; 17 (6): 1484–1502. doi: 10.1111/1541-4337.12382
72. Тец Г.В., Артеменко К.Л. Совместное действие антибиотиков и дезоксирибонуклеазы на бактерии. Антибиотики и химиотер. — 2006. — Т. 51. — № 6. — С. 3–6. / *Tets G.V., Artemenko K.L.* Sovmestnoye deystviye antibiotikov i dezoksiribonukleazy na bakterii. *Antibiotiki i khimioter* 2006; 51 (6): 3–6. [in Russian]
73. Тризна Е.Ю., Байдашшина Д.Р., Витицкий А.А., Каюмов А.Р. Влияние *in vitro* изолированного и сочетанного с антибактериальными средствами применения бовгиалуронидазы азоксимер на целостность бактериальной биоплёнки и жизнеспособность микроорганизмов. Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2020. — № 83 (2). — С. 38–44. / *Trizna E.Jyu., Bajdamshina D.R., Vinitckij A.A., Kayumov A.R.* Vliyaniye *in vitro* izolirovannogo i sochetannogo s antibakterial'nymi sredstvami primeneniya bov-gialuronidazy azoksimer na tselostnost' bakterial'noj bioplenki i zhiznesposobnost' mikroorganizmov. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* 2020; 83 (2): 38–44. [in Russian]
74. Михайлов И.Б., Стернин Ю.И. Избранные вопросы клинической фармакологии системной энзимотерапии. Архив внутренней медицины. — 2012. — № 1 (3). — С. 15–19. / *Mikhajlov I.B., Sternin Jyu.I.* Izbrannyye voprosy klinicheskoy farmakologii sistemnoy enzimoterapii. *Arkhiv# vnutrennej meditsiny* 2012; 1 (3): 15–19. [in Russian]
75. Артеменко К.Л., Кнорринг Г.Ю. Опыт применения ферментного комплекса вобэнзим у больных с абсцессами и флегмонами челюстно-лицевой области. Учёные записки С.-Петерб. гос. мед. ун-та им. Павлова. — 2005. — Т. 12. — № 3. — С. 43–47. / *Artemenko K.L., Knorring G.Jyu.* Opyt primeneniya fermentnogo kompleksa vobenzim u bol'nykh s abstsessami i flegmonami cheljustno-litsevoj oblasti. *Uchenyye Zapiski S.-Peterb. Gos. Med. Un-ta im. Pavlova* 2005; 12: 3: 43–47. [in Russian]
76. Хрянин А.А., Решетников О.В., Сафронов И.Д. Роль экзогенных протеолитических ферментов в иммуногенезе при урогенитальных инфекциях. Антибиотики и химиотер. — 2012. — Т. 57. — № 9–10. — С. 25–31. / *Khryanin A.A., Reshetnikov O.V., Safronov I.D.* Rol' ekzogenykh proteoliticheskikh fermentov v immunogeneze pri urogenital'nykh infektsiyakh. *Antibiotiki i Khimioter* 2012; 57: 9–10: 25–31. [in Russian]
77. Кнорринг Г.Ю., Стернин Ю.И., Минаев С.В., Новозhilov А.А. Интенсификация антибактериальной терапии при гнойно-воспалительных заболеваниях. Военно-медицинский журнал. — 2008. — Т. 329. — № 10. — С. 35–41. / *Knorring G.Jyu., Sternin Jyu.I., Minaev S.V., Novozhilov A.A.* Intensifikatsiya antibakterial'noj terapii pri gnojno-vospalitel'nykh zabolevaniyakh. *Voenno-Meditsinskij Zhurnal* 2008; 329: 10: 35–41. [in Russian]
78. Клячкина И.Л., Рыбаченко В.В., Кнорринг Г.Ю., Воронина Е.В. Опыт и перспективы системной энзимотерапии при лечении заболеваний дыхательных путей. Доктор.Ру. — 2006. — № 2 (27). — С. 7–10. / *Klyachkina I.L., Rybachenko V.V., Knorring G.Jyu., Voronina E.V.* Opyt i perspektivy sistemnoy enzimoterapii pri lechenii zabolevaniy dykhatel'nykh putej. *Doktor.Ru* 2006; 2 (27): 7–10. [in Russian]
79. Системная энзимотерапия: Сборник под ред. М.А.Репиной, Г.Ю.Кнорринга. СПб.: Человек. 2002. — 112 с. / *Sistemnaya enzimoterapiya: Sbornik pod red. M.A.Repinoj, G.Jyu.Knorringa.* SPb.: Chelovek. 2002; 112. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хрянин Алексей Алексеевич — д. м. н., профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России; вице-президент РОО «Ассоциация акушеров-гинекологов и дерматовенерологов», Новосибирск. ORCID: 0000-0001-9248-8303

Нейротоксические побочные эффекты антимикробных и противотуберкулёзных препаратов

*Г. Н. МОЖОКИНА, А. Г. САМОЙЛОВА

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний», Москва

Neurotoxic Side Effects of Antimicrobial and Anti-Tuberculosis Drugs

*G. N. MOZHOKINA, A. G. SAMOILOVA

National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Проанализированы данные литературы о частоте и проявлениях нейротоксического действия на центральную и периферическую нервную систему ряда антимикробных препаратов. Выделены предрасполагающие факторы к развитию нейротоксичности и группы риска. Описаны механизмы нейротоксического действия фторхинолонов, аминогликозидов, оксазолидинонов и ряда противотуберкулёзных препаратов. Особое внимание уделено противотуберкулёзным препаратам в связи с необходимостью комплексного применения нескольких препаратов со сходным профилем безопасности. Обоснована необходимость раннего выявления нейротоксичности лекарственных средств и комплексных схем для минимизации побочных эффектов, своевременной коррекции и полноценного лечения пациентов.

Ключевые слова: антимикробные препараты, противотуберкулёзные препараты, нежелательные побочные реакции, нейротоксичность, механизмы нейротоксичности.

The literature data on the frequency and manifestations of neurotoxic effects of a number of antimicrobial drugs on the central and peripheral nervous system are analyzed. The predisposing factors for the development of neurotoxicity and risk groups are identified. The mechanisms of the neurotoxic action of fluoroquinolones, aminoglycosides, oxazolidinones, and a number of anti-tuberculosis drugs are described. Particular attention is paid to anti-tuberculosis drugs due to the need for the complex use of several drugs with a similar safety profile. The necessity of early detection of neurotoxicity of drugs and complex regimens for minimization of side effects, timely correction, and full treatment of patients has been substantiated.

Keywords: antimicrobial drugs, anti-tuberculosis drugs, unwanted side effects, neurotoxicity, mechanisms of neurotoxicity.

Точная частота нейротоксических реакций при использовании противоинфекционных препаратов неизвестна, хотя, по некоторым оценкам, она составляет <1%, в то время как спектр побочных эффектов достаточно широк: от головной боли, тревоги и депрессии до спутанности сознания, делирия, психоза, мании и судорог [1–3].

Предрасполагающими факторами к развитию нейротоксичности являются способность лекарственных средств проникать и накапливаться в ЦНС, определяемая состоянием гемато-энцефалического барьера (ГЭБ), в частности, экспрессией и генетическим полиморфизмом транспортера органических анионов; липофильность препарата, определяемой по соотношению концентрации в спинно-мозговой жидкости (СМЖ) к плазме; эффективность работы эвакуаторных систем ЦНС (Р-гликопротеин; протеин-2 (MRP-2)). Усиливает вероятность нейротоксичности лекар-

ственных средств почечная и/или печёночная недостаточность с нарушением элиминации, отягощённый анамнез по нейропсихическим заболеваниям, пожилой возраст пациентов [3–6].

Нейротоксичность препаратов может проявляться в форме нарушений моторных, сенсорных и когнитивных функций. Сенсомоторные нарушения приводят к появлению мышечной слабости, парезов и параличей. Нередко изменяется тактильная и болевая чувствительность, нарушается слух, зрение. Повреждение механизмов регуляции функций жизненно важных органов и систем, в первую очередь сердечно-сосудистой, могут приводить к гибели пострадавших [3, 7].

В обзоре [8] на основании анализа 391 случая нарушения когнитивной функции или сознания у пациентов было выделено 3 отдельных клинических синдрома антибиотик-ассоциированной энцефалопатии (ААЭ):

Тип 1 ААЭ характеризуется возникновением в течение нескольких дней после начала антибактериальной терапии спазма мускулатуры или судорог, обусловленных ингибированием синапти-

ческой передачи, что приводит к возникновению эксайтотоксичности (т. е. токсичности, развивающейся при возбуждении) и связан с применением пенициллинов и цефалоспоринов. Отмечаются отклонения на ЭЭГ при нормальной МРТ-картине. Энцефалопатия, возникающая на фоне применения цефалоспоринов, наиболее часто развивается при почечной недостаточности. Симптомы разрешаются обычно в течение нескольких дней.

Тип 2 ААЭ возникает на фоне применения бензилпенициллина, сульфаниламидов, фторхинолонов и макролидов. Симптомы возникают в течение нескольких дней после начала антибактериальной терапии и включают психоз и (значительно реже) развитие судорог. Механизм развития симптомов связан с воздействием на D2 рецепторы к дофамину и N-метил-D-аспартат (NMDA) глутаматные рецепторы. Редко регистрируются отклонения на ЭЭГ при нормальной МРТ картине.

Тип 3 ААЭ возникает только на фоне применения метронидазола спустя несколько недель после назначения антибиотика. Синдром часто характеризуется мозжечковой дисфункцией и реже судорогами. Токсичность метронидазола приводит к возникновению характерных обратимых сигнальных изменений на МРТ и на ЭЭГ.

Вне этих 3 типов ААЭ находится изониазид, который приводит к возникновению симптомов спустя недели и даже месяцы после начала применения препарата и характеризуется развитием психоза, но не судорог. На ЭЭГ обычно обнаруживаются отклонения.

Разнообразие побочных эффектов антимикробных препаратов обусловлено различными механизмами действия на ЦНС. Кларитромицин, бета-лактамы, макролиды и фторхинолоны являются антагонистами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК); линезолид дозозависимо ингибирует моноаминоксидазу (МАО), а тетрациклины чаще вызывают токсические эффекты у пациентов со сниженной активностью изоформы цитохрома CYP2C19 [9].

Фторхинолоны. За последнее десятилетие выявлены новые аспекты профиля безопасности фторхинолонов. Ранее наиболее часто (от 1% до 6%), встречались побочные эффекты со стороны ЦНС, вызываемые фторхинолонами, такие как бессонница, головокружение, головная боль, нервозность и беспокойство, которые обычно проходят после прекращения приема препарата, в то время как эпилептические приступы и психозы наблюдались редко (от 0,2 до 2%) [10].

Благодаря недавним исследованиям оказалось, что фторхинолоны могут быть чаще связаны с делирием и психозом, чем считалось ранее. В 2018 г. Агентство по контролю за качеством пище-

вых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) сообщило, что для фторхинолонов классовыми нежелательными лекарственными реакциями являются гипогликемия и психические нарушения — расстройства внимания, дезориентация, ажитация, нервозность, снижение памяти, бред. По данным фармаконадзора Франции, из 590 сообщений о развитии нейропсихических расстройств в 51% случаев указывалась спутанность сознания, в 27% — галлюцинации, в 13% — ажитация, в 12% — бред. В 21,7% случаев нейротоксические реакции были отнесены к категории серьезных, потребовавших госпитализации пациентов. Чаще пациентами являлись люди пожилого возраста. Расстройства деятельности ЦНС наблюдали при использовании всех известных фторхинолонов для перорального применения [11].

Из 57 сообщений о нарушениях психики, зарегистрированных Росздравнадзором, преобладали депрессия и галлюцинации (15 и 14 случаев), тревожное состояние и острый психоз (6 и 5 случаев). В 20 случаях в качестве подозреваемого фторхинолона был указан левофлоксацин, в 9 случаях — моксифлоксацин, в 8 — офлоксацин, в 7 — ципрофлоксацин.

Чаще всего нейропсихические нарушения развивались в течение первых 10 дней приёма фторхинолонов, при этом у 14 из 28 пациентов — в первый день лечения. В большинстве случаев отмена подозреваемого фторхинолона сопровождалась купированием всех симптомов или выраженным улучшением самочувствия больного. Средний возраст пациентов составил 44,4 года [11].

В обзоре [12] приведены сообщения о нейротоксических эффектах ципрофлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина, гемифлоксацина, левофлоксацина и гатифлоксацина, которые проявлялись в виде судорог, спутанности сознания, бессонницы, энцефалопатии, миоклонуса, токсического психоза, а также экстрапирамидных расстройств (нарушение походки, дизартрия). Некоторые исследователи предполагают связь между химической структурой хинолонов и их нейротоксическими эффектами [13]. Например, ципрофлоксацин, норфлоксацин, тосуфлоксацин, клинафлоксацин тесно связаны с эпилепсией. Однако гемифлоксацин, левофлоксацин и моксифлоксацин не имеют специфических структурно-токсических взаимоотношений, но все же вызывают судороги. М. F. Grill и R. K. Maganti [3] отмечают, что способность фторхинолонов проникать в ЦНС не всегда коррелирует с потенциальной эпилептогенностью. Так, например, офлоксацин, чья концентрация в СМЖ составляет 50% от сывороточной, менее нейротоксичен, чем ципрофлоксацин, у которого этот показатель в половину меньше. Авторы обзора [6] указывают, что судорожные реакции

встречаются очень редко (0,9–2%) и главным образом у лиц с судорожной готовностью или как следствие неблагоприятного взаимодействия с другими лекарственными средствами (эффиллин, имипенем, метронидазол).

Механизм этих осложнений видится в ингибировании фторхинолонами связывания ГАМК со своими рецепторами или от активации возбуждающих NMDA рецепторов. Другими рецепторами, которые могут играть роль в возбуждающем действии хинолонов на ЦНС, являются аденозиновые и аминокислотные рецепторы, дофаминовые и опиоидные рецепторы [12]. По мнению S. Pgin и соавт. [14], в качестве возможного механизма нейротоксического действия может выступать повышенный окислительный стресс.

Оксазолидиноны, и особенно линезолид, могут вызывать нейротоксичность в виде энцефалопатии, периферической нейропатии, оптической нейропатии, паралича Белла [15], которые по мнению K.E.Kishor и соавт. [16] могут влиять на приверженность пациента лечению и мешать терапии. Механизм токсического действия линезолида, вероятно, связан с ингибированием фермента МАО, который отвечает за метаболизм моноаминовых нейротрансмиттеров (дофамин, норэпинефрин и серотонин). Продукты, богатые тирамином, и совместное применение линезолида с другими серотонинергическими препаратами могут повысить риск возникновения гипертонических кризов и серотонинового синдрома [9].

Аминогликозиды. Наиболее распространённым нейротоксическим эффектом, связанным с аминогликозидами, является ототоксичность (токсическое действие на внутреннее ухо), а также на вестибулокохлеарный нерв, обусловленные повышенной концентрацией препаратов в жидкостях внутреннего уха и продолжительным сроком его выведения. В результате кохлеотоксического действия развивается разной степени выраженности хроническая сенсоневральная тугоухость; в случае вестибулотоксического действия в течение нескольких лет может сохраняться стойкое нарушение равновесия, мало поддающееся терапевтическому воздействию [17]. Анализ клинических наблюдений показал, что на развитие ототоксичности влияют следующие факторы: доза и длительность назначения препарата; заболевания почек с нарушением выделительной функции, в том числе в результате непосредственного нефротоксического действия аминогликозида; при одновременном назначении аминогликозида и петлевых диуретиков, которые ускоряют проникновение аминогликозида в эндолимфу; при одновременном назначении аминогликозида и другого ототоксического препарата.

Одним из вероятных механизмов ототоксичности является эксайтотоксическая активация

NMDA-рецепторов в улитке, что может привести к окислительному стрессу и гибели клеток [12]. В исследовании [18] установлено, что в механизме развития ототоксичности имеет значение нарушение аминокислотами синтеза митохондриального белка в волосковых клетках внутреннего уха. Кроме ототоксичности известны и другие нарушения, такие как периферическая нейропатия, энцефалопатия, а также нервно-мышечная блокада, в основе которой лежит пресинаптическое ингибирование количественного высвобождения ацетилхолина в нервно-мышечном соединении и связывание аминокислот с комплексом ацетилхолиновых рецепторов с последующим истощением кальция. Нейротоксические осложнения аминокислотами чаще встречаются у пациентов с повышенной проницаемостью ЦНС. Первоначально нейромышечные блокирующие эффекты были установлены со стрептомицином у пациентов с туберкулёзом, а затем обнаружены у амикацина, тобрамицина, гентамицина и канамицина [3].

Противотуберкулёзные препараты (ПТП). Особенность применения ПТП заключается в необходимости использовать комбинацию препаратов с различным механизмом действия в отношении возбудителя туберкулеза, при этом в схему могут входить препараты со сходным профилем безопасности. Изониазид, этамбутол и циклосерин могут вызывать побочные эффекты как центральной, так и периферической нервной системы.

Изониазид — основной препарат, входящий вместе с рифампицином, пиразинамидом и этамбутолом в стандартный режим химиотерапии для лечения впервые выявленных больных при сохранённой чувствительности к ним микобактерий туберкулёза (МБТ) [19]. Поражение нервной системы у впервые выявленных больных туберкулёзом при приёме изониазида может проявляться головной болью, головокружением, нарушением сна, энцефалопатией, невритом или атрофией зрительного нерва, полиневритами, мышечными подергиваниями и судорогами [20, 21]. Основным механизмом токсического действия изониазида является снижение содержания пиридоксальфосфата в тканях головного мозга, от уровня которого зависит процесс декарбоксилирования аминокислот и образование дофамина, ГАМК, серотонина. Изониазид вызывает угнетение активности моноаминоксидазы и повышение в ЦНС уровня биогенных аминов, что сопровождается нарушением процессов возбуждения—торможения ЦНС [21].

Циклосерин и теризидон (содержит в своем составе две молекулы циклосерина) используется в схемах лечения больных туберкулёзом при наличии устойчивости МБТ к основным препаратам, особенно в схемах по лечению больных с множественной и широкой лекарственной устойчивостью

(МЛУ МБТ, ШЛУ МБТ) [22]. Нейротоксичность циклосерина может проявляться головной болью, головокружением, нарушением сна, дизартрией, нарушением ориентации, сопровождающейся потерей памяти, психозом, приступами клонических судорог, нарушением зрения [20, 23–25].

Оптическая нейропатия является известным нейротоксическим проявлением этамбутола. Считается, что нейропатия зрительного нерва вторична по отношению к митохондриальной дисфункции, вызванной этамбутолом. При патоморфологических исследованиях были выявлены демиелинизирующие поражения зрительного нерва и хиазмы у пациентов с этамбутол-индуцированной оптической нейропатией [12].

Наибольшим потенциалом периферического нейротоксического действия обладают (по убывающей): изониазид, линезолид, циклосерин, протионамид, этамбутол, аминогликозиды. Вероятность развития и выраженность симптоматики периферической полинейропатии зависят от дозы, длительности и пути введения препарата, сочетания нескольких нейротоксичных ПТП в составе режима [26].

Частота нейротоксических реакций у больных туберкулёзом. В структуре нежелательных побочных реакций (НПР), возникающих при химиотерапии туберкулёза, на неврологические симптомы приходится от 12 до 24% [27, 28].

Как показал анализ НПР у больных туберкулёзом с МЛУ МБТ, получавших лечение по схеме из 6 препаратов с включением капреомицина, офлоксацина, циклосерина, головные боли отмечались у 25,7% пациентов, психические расстройства (психозы и депрессии) встречались в 13,6% случаев; в 10,3% — нарушения сна, периферическая нейропатия — у 4,9%, судороги и судорожные припадки — у 4,4%. Редкими побочными реакциями были необычные реакции со стороны органов зрения — вспышки в глазах (1,2%) [29].

По данным исследования [30], в группе больных туберкулёзом (437 человек) с МЛУ возбудителя, получавших химиотерапию по аналогичной схеме, и лечение которых осложнялось хотя бы одной НПР, неврологические нарушения встречались почти у каждого второго пациента (50,8%) из группы. Наиболее часто встречались нарушения сна (64,9%) и головная боль (32,0%). Депрессивные расстройства в виде тревоги (39,6%) и подавленности (22,1%) встречались почти у каждого третьего пациента, при этом 6 пациентам требовалась отмена ПТП и назначение антидепрессантов. Авторы представили хронологию появления неврологических симптомов: в начале интенсивной терапии появлялись раздражительность, возбуждение, нарушение сна, затем сменялись подавленностью, тревогой и появлением головной боли. Выраженное нарушение психической деятельности

в виде психоза развивалось в конце интенсивной или в начале поддерживающих фаз лечения.

При лечении больных с МЛУ/ШЛУ возбудителя и включением линезолида в схемы химиотерапии, наряду с фторхинолонами и аминогликозидами, преобладали нейротоксические реакции в виде периферического неврита и зрительного неврита [31–33], причём отмена линезолида была только в случаях применения дозы в 600 мг или выше [34]. Для линезолид-ассоциированной невропатии характерна последовательность появления симптомов — от ног к рукам, от дистальных к проксимальным отделам, что обусловлено митохондриальным повреждением с последующей аксональной дегенерацией так называемых мелких (немиелинизированных) волокон и, в первую очередь, самых длинных, идущих к дистальным отделам нижних конечностей [26].

Коллективом авторов [35] представлена характеристика безопасности новых схем химиотерапии с включением нового препарата бедаквилин. В комбинацию также входили линезолид, фторхинолоны, аминогликозиды и другие ПТП. Наиболее частыми осложнениями со стороны ЦНС являлись головная боль и головокружение (10,2%), со стороны периферической нервной системы — периферическая нейропатия и парестезии (4,2%). Наиболее частыми психиатрическими нежелательными реакциями являлись нарушения сна (10,5%), беспокойство (3,2%) и депрессия (2,7%). Авторы отмечают, что у всех пациентов с такими нарушениями схема лечения содержала производное циклосерина — теризидон.

Заключение

Нейротоксические побочные эффекты, вызванные антибиотиками, могут иметь множество неврологических проявлений. Пациенты с предшествующим заболеванием ЦНС, почечной недостаточностью и пожилым возрастом могут быть особенно уязвимы. Другими важными факторами, которые следует учитывать, является совместное применение препаратов с нейротоксическим действием с другими лекарственными средствами с нейротоксическим и/или нефротоксическим эффектом. Такая ситуация характерна для лечения больных туберкулёзом, особенно с МЛУ и ШЛУ возбудителя. Важно учитывать особенности метаболизма препаратов, обусловленных полиморфизмом генов ферментов биотрансформации, и состояние органов, ответственных за обезвреживание и выведение токсичных метаболитов. Поэтому ранняя диагностика проявлений нейротоксичности лекарственных средств и комплексных схем необходима для минимизации побочных эффектов, своевременной коррекции и полноценного лечения пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- Bangert M.K., Hasbun R. Neurological and Psychiatric Adverse Effects of Antimicrobials. *CNS Drugs* 2019 Aug; 33 (8): 727–753.
- Warstler A., Bean J. Antimicrobial-induced cognitive side effects. *Ment Health Clin* 2016; 6 (4): 207–214.
- Grill M.F., Maganti R.K. Neurotoxic Effects Associated With Antibiotic Use: Management Considerations. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72 (3): 381–393.
- Stahlmann R., Lode H. Safety considerations of fluoroquinolones in the elderly: An update. *Drugs Aging* 2010; 27: 193–209.
- Bandettini di Poggio M., Anfosso S., Audenino D., Primavera A. Clarithromycin-induced neurotoxicity in adults. *J Clin Neurosci* 2011; 18: 313–318.
- Постников С.С., Костылева М.Н., Грацианская А.Н., Ермилин А.Е. и др. Нейротоксичность лекарств. Качественная клиническая практика. — 2017. — № 4. — С. 68–72. / Postnikov S.S., Kostyleva M.N., Gratsianskaya A.N., Ermilin A.E. i dr. Nejtoksichnost' lekarstv. Kachestvennaya klinicheskaya praktika 2017; 4: 68–72. [in Russian]
- Bhattacharyya S., Darby R., Berkowitz A.L. Antibiotic-induced neurotoxicity. *Curr Infect Dis Rep* 2014; 16: 448.
- Bhattacharyya S., Darby R.R., Raibagkar P., Gonzalez Castro L.N., Berkowitz A.L. Antibiotic-associated encephalopathy. *Neurology* 2016 Feb; 17.
- Skelly M.K., Wattenge B.A., Starr K.E., Sellick J. A., Mergenhagen K.A. Psychiatric Adverse Effects of Antibiotics. <https://www.psychiatric-times.com/special-reports/> November 29, 2019.
- Sowell R.S., Pinner N. A. Quinolone Neurotoxicity: How to Avoid or Minimize the Risk. *Patient Care* 2009; 49: 17.
- Кузьмина А. В., Титова А. Р., Поликарпова Т. С., Асеева И. Л., Поливанов В. А. Классовые эффекты фторхинолонов: дисгликемия и психические нарушения. Лечащий врач. — 2018. — № 10. — С. 87–90. / Kuz'mina A. V., Titova A. R., Polikarpova T. S., Aseevskaya I. L., Polivanov V. A. Klassovye efekty f'torkhinolonov: disglukemiya i psikhicheskie narusheniya. Lechashchij Vrach 2018; 10: 87–90. [in Russian]
- Rezaei N.J., Bazzazi A.M., Naseri Alavi S.A. Neurotoxicity of the antibiotics: A comprehensive study. *Neurol India* 2018; 66: 1732–1740.
- Kamath A. Fluoroquinolone induced neurotoxicity: A review. *J Adv Pharm Edu Res* 2013; 3: 72–75.
- Ilgin S., Can O.D., Atli O., Ucel U.I., Sener E., Guven I. Ciprofloxacin-induced neurotoxicity: Evaluation of possible underlying mechanisms. *Toxicol Mech Methods* 2015; 25: 374–381.
- Fletcher J., Aykroyd L.E., Feucht E.C., Curtis J.M. Early onset probable linezolid-induced encephalopathy. *J Neurology* 2010; 257: 433–435.
- Kishor K., Dhasmana N., Kamble S.S., Sahu R.K. Linezolid Induced Adverse Drug Reactions — An Update. *Curr Drug Metab* 2015; 16 (7): 553–559.
- Вавилова А.А., Кочергин Г.А. К вопросу о вестибулотоксическом действии антибиотиков-аминогликозидов. *РМЖ*. 2017. — № 6. — С. 435–438. / Vavilova A.A., Kochergin G.A. K voprosu o vestibulotoksicheskom dejstviy antibiotikov-aminoglikozidov. *RMZh* 2017; 6: 435–438. [in Russian]
- Barnhill A.E., Brewer M.T., Carlson S.A. Adverse effects of antimicrobials via pre-dictable or idiosyncratic inhibition of host mitochondrial components. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56 (8): 4046–4051.
- Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулёза органов дыхания. М.: 2014. — 43 с. / Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya. M.: 2014; 43. [in Russian]
- Kass J.S., Shandera W.X. Nervous system effects of antituberculosis therapy. *CNS Drugs* 2010 Aug; 24 (8): 655–667.
- Тюлькова Т. Е. Влияние пиридоксина и препаратов гидразидов изоникотиновой кислоты на нервную систему при лечении туберкулёза. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96. — № 11. — С. 69–73. / Tyul'kova T. E. Vliyaniye piridoksina i preparatov gidrazida izonikotinovoy kisloty na nervnuyu sistemu pri lechenii tuberkuleza. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh* 2018; 96: 11: 69–73. [in Russian]
- Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулёза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Издание третье. М.: 2015. — 68 с. / Federal'nye klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya s mnozhestvennoy i shirokoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. Izdanie tret'e. M.: 2015; 68. [in Russian]
- lecheniyu tuberkuleza organov dykhaniya s mnozhestvennoy i shirokoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. Izdanie tret'e. M.: 2015; 68. [in Russian]
- Kwon H.M., Kim H.K., Cho J., Hong Y.H., Nam H. Cycloserine-induced encephalopathy: evidence on brain MRI. *Eur J Neurol* 2008; 15: 60–61.
- Kim S., Kang M., Cho J.H., Choi S. Reversible magnetic resonance imaging findings in cycloserine-induced encephalopathy: A case report. *Neurology Asia* 2014; 193: A3792.
- Jain M., Lewis C., Moriarty M., Hussain S. Neuropsychiatric toxicity of cycloserine in multidrug tuberculosis patient with reversible MRI changes. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 19 (4): 417–419.
- Иванова Д.А., Заруди Ж.Х., Иванова Т.И. Периферическая полиневропатия на фоне противотуберкулёзной химиотерапии. Туберкулёз и социально значимые заболевания. — 2014. — № 3. — С. 58–64. / Ivanova D.A., Zarudi Zh.Kh., Ivanova T.I. Perifericheskaya polinevropatiya na fone protivotuberkuleznoj khimioterapii. *Tuberkulez i Sotsial'no Znachimye Zabolevaniya* 2014; 3: 58–64. [in Russian]
- Баласабянц Г. С., Суханов Д. С. Побочные действия противотуберкулёзных препаратов и методы их устранения. Изд. 3-е дополненное. СПб.: 2014. — 64 с. / Balasanyants G. S., Sukhanov D. S. Pobochnye dejstviya protivotuberkuleznykh preparatov i metody ikh ustraneniya. Izd. 3-e dopolnennoe. SPb.: 2014; 64. [in Russian]
- Иванова Д. А., Борисов С. Е. Спектр и факторы риска нежелательных побочных реакций при лечении впервые выявленных больных туберкулёзом. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2017. — Т. 95. — № 6. — С. 22–29. / Ivanova D. A., Borisov S. E. Spekr i faktory riska nezhe-latel'nykh pobochnykh reaksij pri lechenii vperve vyuyav-lennykh bol'nykh tuberkulezom. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh* 2017; 95: 6: 22–29. [in Russian]
- Токтогунова А. А. Частота и характер побочных реакций на противотуберкулёзные препараты второго ряда у больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2017. — Т. 95. — № 10. — С. 63–67. / Toktogonova A. A. Chastota i kharakter pobochnykh reaksij na protivotuberkuleznye preparaty vtorogo ryada u bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh* 2017; 95: 10: 63–67. [in Russian]
- Шегерцов Д. Ю., Филинук О. В., Буйнова Л. Н., Земляная Н. А., Кабанец Н. Н., Аллилуев А. С. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96. — № 3. — С. 35–43. / Shchegertsov D. Jyu., Filinjuk O. V., Bujnova L. N., Zemlyanaya N. A., Kabanets N. N., Alliluev A. S. Nezhe-latel'nye pobochnye reaksii pri lechenii bol'nykh tuberkulezom s mnozhestvennoy lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh* 2018; 96: 3: 35–43. [in Russian]
- Abbate E., Vescovo M., Natiello M., Cufre M. et al. Successful alternative treatment of extensively drug-resistant tuberculosis in Argentina with a combination of linezolid, moxifloxacin and thioridazine. *Antimicrob Chemother* 2012 Feb; 67 (2): 473–477.
- Singla R., Caminero J.A., Jaiswal A., Singla N., Gupta S., Bali R.K., Behera D. Linezolid: an effective, safe and cheap drug for patients failing multidrug-resistant tuberculosis treatment in India. *Eur Respir J* 2012 Apr; 39 (4): 956–962.
- Koh W.J., Kang Y.R., Jeon K., Kwon O.J., Lyu J., Kim W.S., Shim T.S. Daily 300 mg dose of linezolid for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: updated analysis of 51 patients. *Antimicrob Chemother* 2012 Jun; 67 (6): 1503–1507.
- Sotgiu G., Centis R., D'Ambrosio L., Alifanar J.W., Anger H.A., Caminero J.A. et al. Efficacy, safety and tolerability of linezolid containing regimens in treating MDR-TB and XDR-TB: Systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2012; 40: 1430–1442.
- Скрягина Е. М., Гуревич Г. Л., Солодовникова В. В., Дюсмыкеева М. И., Сеткина С. Б., Журкин Д. М. Опыт применения новых режимов лечения туберкулёза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в Республике Беларусь. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96. — № 8. — С. 5–14. / Skryagina E. M., Gurevich G. L., Solodovnikova V. V., Djus'mikeeva M. I., Setkina S. B., Zhurkin D. M. Opyt primeneniya novykh rezhimov lecheniya tuberkuleza s mnozhestvennoy i shirokoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya v Respublike Belarus'. *Tuberkulez i Bolezni Legkikh* 2018; 96: 8: 5–14. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Можокина Галина Николаевна — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний», Москва

Самойлова Анастасия Геннадьевна — д. м. н., заместитель директора по науке, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний», Москва

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

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

1. Статьи направляются по адресу: journalngn-sa@yandex.ru или размещаются **ЧЕРЕЗ САЙТ** журнала после регистрации в личном кабинете автора. 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 статьи, инициалы, фамилии авторов, наименование учреждений всех авторов.

3. Статья печатается на одной стороне стандартного листа **через 1,5 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 100 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. В конце статьи приводятся «**Сведения об авторах**»: фамилия, имя, отчество полностью, учёная степень, звание, должность, место работы. Для автора, ответственного за переписку, указываются: почтовый адрес для корреспонденции, e-mail и телефон.

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. В рукописи 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 приведённых 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), чётко 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 (ТЕТ).

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-изготовителя и их международным непатентованным названием.

13. **Цитируемые источники литературы** во всех видах публикаций нумеруются в порядке их упоминания в тексте статьи арабскими цифрами и заключаются в квадратные скобки. В пристатейном списке литературы каждый источник следует помещать с новой строки под порядковым номером. Количество цитируемых работ в оригинальных статьях и лекциях допускается до 40 источников, в обзорах — до 100 источников. В библиогра-

фическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. 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, издательство, год, количество страниц.

Недопустимо сокращать название статьи и название отечественного журнала. Название англоязычных журналов следует приводить в сокращении в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine, если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название.

Оформление списка литературы должно удовлетворять требованиям РИНЦ и международных баз данных. В связи с этим, в ссылках на русскоязычные источники необходимо дополнительно указывать информацию для цитирования на латинице. То есть, библиографические описания ссылок на русскоязычные источники должны состоять из двух частей: русскоязычной и латиноязычной (подряд). При этом сначала следует приводить русскоязычную часть описания, затем — латиноязычную (через слеш). Желательно вставлять Doi статьи.

Таким образом, если статья написана на латинице, то она должна быть процитирована в оригинальном виде:

Lang P.O., Michel J.P., Zekry D. Frailty syndrome: A transitional state in a dynamic process. Gerontology 2009; 55 (5): 539–549.

Если статья написана на кириллице и у статьи есть официальный перевод названия, его нужно вставить в квадратных скобках после оригинального написания библиографической ссылки на источник. Если нет официального перевода, то нужно привести транслитерацию всей ссылки сразу после ссылки в оригинальном исполнении. В конце ссылки в квадратных скобках вставляется in Russian, без точки в конце:

Ткачева О.Н., Рунихина Н.К., Остапенко В.С. Валидация опросника для скрининга синдрома старческой астении в амбулаторной практике. Успехи геронтологии. — 2017. — Т. — 30. — №2. — С.236–242. / Tkacheva O.N., Runikhina N.K., Ostapenko V.S. Validacija oprosnika dlja skrininga sindroma starcheskoj astenii v ambulatornoj praktike. Uspekhi gerontologii 2017; 30 (2): 236–242. [in Russian]

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.

Wobenzym®
Вобэнзим

Вобэнзим



Антибиотик



Теперь в новой
упаковке!

**Вобэнзим.
Повышение эффективности
антибиотикотерапии.**



СДЕЛАНО
В ГЕРМАНИИ

www.wobenzym.ru



**Доказал не только повышение
концентрации антибиотика в очаге
воспаления, но и снижение риска развития
антибиотикорезистентности^{1,2}**

Вобэнзим способствует:

- разрушению биопленок³
- ускорению выздоровления
и восстановления^{4,5}
- уменьшению частоты рецидивов болезни¹
- уменьшению риска фиброза и спаек^{1,6,7}

5 × 3 × 4-12 нед.

5 табл. 3 р./день от 4 нед.
до 3 мес., в зависимости
от тяжести процесса⁶

1. Ткачук В.Н. и соавторы «Место системной энзимотерапии в комплексном лечении больных хроническим простатитом». Врачебное сословие, 2007, №5.
2. Тец В.В. и соавторы «Влияние экзогенных протеолитических ферментов на бактерии». Антибиотики химиотерапия, 2004, т.49, №12. 3. Хрянин А.А.
«Биопленки микроорганизмов: Современные представления». Антибиотики и химиотерапия, 2020; 65; 5-6. 4. Ордянец И.М., Коган Е.А. под ред. Радзинского
В.Е. «Пути преодоления привычного невынашивания». Status Praesens, 2019. 5. Пестрикова Т.Ю., Молодцова Л.Ю. «Эффективность терапии с использованием
протеолитических энзимов в лечении бактериального вагиноза и вагинального кандидоза у беременных». Практическая медицина, 2015. 6. Трунин Е.М.,
Кандалова И.Г. Практическая медицина, 2012. №3.- с.122-125. 7. Бурлев В.А., Дубинская Е.Д., Гаспаров А.С. Перитонеальные спайки от патогенеза до
профилактики. Проблемы репродукции, 2009, 3: 36-44.

Вобэнзим. Лекарственный препарат. Рег. уд. в России П N 011530/01.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОКОНСУЛЬТИРУЙТЕСЬ СО СПЕЦИАЛИСТОМ И ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ.

Реклама

кагоцел

Современное противовирусное средство с широким диапазоном противовирусной активности для профилактики и лечения ОРВИ и гриппа у взрослых и детей с 3 лет.



ВЫБОР СПЕЦИАЛИСТОВ¹

Лечение гриппа и ОРВИ для всей семьи

	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день	6-й день	7-й день
Взрослым	● ● 3 раза в день	● ● 3 раза в день	● 3 раза в день	● 3 раза в день	Курс лечения – 4 дня		
Детям с 6 лет	● 3 раза в день	● 3 раза в день	● 2 раза в день	● 2 раза в день	Курс лечения – 4 дня		
Детям с 3 до 6 лет	● 2 раза в день	● 2 раза в день	● 1 раз в день	● 1 раз в день	Курс лечения – 4 дня		

Профилактика гриппа и ОРВИ для всей семьи

Взрослым	● ● 1 раз в день	● ● 1 раз в день	5 дней – перерыв, затем курс повторить				
Детям с 3 лет	● 1 раз в день	● 1 раз в день	5 дней – перерыв, затем курс повторить				

Лечение герпеса

Взрослым	● ● 3 раза в день	● ● 3 раза в день	● ● 3 раза в день	● ● 3 раза в день	● ● 3 раза в день	Курс лечения – 5 дней
----------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	-----------------------

¹ По результатам голосования российских врачей в рамках премии Russian Pharma Awards 2019 (Рашн Фарма Эвордс 2019) Кагоцел – противовирусное средство №1 в России от гриппа и ОРВИ для взрослых и детей с 3 лет; по результатам голосования специалистов аптечной индустрии в рамках премии «Зеленый крест 2018» Кагоцел – препарат выбора для профилактики и лечения ОРВИ и гриппа.



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

ООО «НИАРМЕДИК ФАРМА», 249030, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, д. 4, офис 402

Тел./факс: +7 (495) 741-49-89. Рег. уд. Р N002027/01 от 19.11.2007

Информация предназначена для медицинских и фармацевтических работников.