

ISSN 0235-2990

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 65



9-10'2020

Научно-практический журнал

# МАКСИКТМ®-АФ

## МОЩНЫЙ ОТВЕТ ТЯЖЕЛЫМ ГОСПИТАЛЬНЫМ ИНФЕКЦИЯМ

Цефепим 1000 мг + Сульбактам 1000 мг



- Уникальная комбинация Цефепима и Сульбактама<sup>1,4</sup>
- Направлен на борьбу с полирезистентными возбудителями, включая БЛРС-продуценты, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*<sup>1</sup>
- Рекомендован для эмпирической терапии нозокомиальных инфекций<sup>2</sup>
- Способствует бережному использованию карбапенемов, не нарушая экологию стационара<sup>2,3</sup>

РАЗРАБОТАНО И ПРОИЗВЕДЕНО  
В РОССИИ

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Максиктам®-АФ. Фармакотерапевтическая группа: антибиотик-цефалоспорины + ингибитор бета-лактамаз. Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения. Показания: инфекционно-воспалительные заболевания у взрослых, вызванные чувствительными к цефепиму + сульбактаму микроорганизмами: инфекции нижних дыхательных путей, включая пневмонию и бронхит; инфекции мочевыводящих путей, как осложненные, включая пиелонефрит, так и неосложненные; инфекции кожи и мягких тканей; инфекции брюшной полости, включая перитонит и инфекции желчных путей; воспалительные заболевания органов малого таза; септицемия; фебрильная нейтропения. Профилактика инфекций области хирургического вмешательства при проведении полостных хирургических операций. Инфекционно-воспалительные заболевания у детей старше 2-х месяцев, вызванные чувствительными к цефепиму + сульбактаму микроорганизмами: пневмония; инфекции мочевыводящих путей, как осложненные, включая пиелонефрит, так и неосложненные; инфекции кожи и мягких тканей; септицемия; фебрильная нейтропения; бактериальный менингит. Противопоказания: повышенная чувствительность к цефепиму, а также к другим цефалоспорином, пенициллинам, другим бета-лактамам, аргинину, сульбактаму. Детский возраст до 2 месяцев. Способ применения и дозы: препарат применяется внутривенно, внутримышечно. Дозы и путь введения зависят от чувствительности возбудителей, тяжести инфекции, состояния функции почек и общего состояния пациента. Внутривенное введение рекомендуется для пациентов с тяжелыми или угрожающими жизни инфекциями, особенно при угрозе возникновения септического шока. Препарат можно вводить болюсно или в виде инфузий в течение не менее 30 минут. Взрослые и дети с массой тела более 40 кг с нормальной функцией почек: при легкой и средней тяжести (0,5 -1 г в/в или в/м каждые 12 часов), тяжелые инфекции (2 г в/в каждые 12 часов), очень тяжелые и угрожающие жизни инфекции (2 г в/в каждые 8 часов). Пациентам, получающим цефепим + сульбактам в соотношении 1:1, может потребоваться дополнительное введение цефепима. Дети от 2-х месяцев с массой тела до 40 кг: при инфекциях кожи и мягких тканей, мочевых путей, пневмонии рекомендуемая доза составляет 50 мг/кг цефепима каждые 12 часов в течение 10 дней. В случае тяжелых инфекций – каждые 8 часов. Рекомендуемая максимальная суточная доза сульбактама составляет 4 г. Продолжительность лечения в среднем составляет 7-10 дней. Условия отпуска: отпускают по рецепту. Срок годности: 3 года. РУ: ЛП-005253. Производитель: ООО «Русфарма». Перед назначением лекарственного препарата ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению лекарственного препарата Максиктам®-АФ. Информация для специалистов здравоохранения. Литература: 1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Максиктам®-АФ, ЛП-005253. 2. Резолюция Совета экспертов по вопросу использования ингибиторозащитных бета-лактамов в лечении внебольничных и нозокомиальных инфекций. Антибиотики и химиотерапия, 2019, №1-2, С. 34-36. 3. Sfeir MM, Askin G, Christos P. Beta-lactam/beta-lactamase inhibitors versus carbapenem for bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: systematic review and meta-analysis. International Journal of Antimicrobial Agents. 2018;52(5):554-570. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.07.021. 4. Патент на изобретение №2377985, 2006 г. Электронная версия <http://bd.patent.su/2377000-2377999/pat/serv/servlet04bb.html> (дата посещения 17.07.2019).

ООО «АлФарма»  
127238, г. Москва, проезд Нижнихлихоборский 3-й,  
дом 1А, эт. 4, пом. X, ком. 12

на правах рекламы

**AP**  
ALPHARMA

M-CP-010/PM-02.2020

Учредители:

Министерство здравоохранения  
Российской Федерации

Государственный научный  
центр по антибиотикам

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

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

**АДРЕС РЕДАКЦИИ:**

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а.  
ГНЦА  
Тел.: 8-925-472-30-38  
E-mail: journalgnca@yandex.ru  
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова  
Корректор: Е. А. Крыкова  
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

**ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:**

Тел.: 8-925-472-30-38  
E-mail: gncajournal@yandex.ru  
Л. И. Гусак

**ИЗДАТЕЛЬ:**

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

# АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 65

9—10'2020

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
MONTHLY JOURNAL

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

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

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

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

#### Оригинальные статьи

- Гостев В. В., Сопова Ю. В., Калиногорская О. С., Велижанина М. Е., Лазарева И. В., Старкова П. С., Сидоренко С. В.  
Влияние шоковых концентраций ванкомицина на формирование гетерорезистентности у *Staphylococcus aureus*  
Леонова Г. Н., Майстровская О. С., Лубова В. А.  
Ингибирование репликации вируса клещевого энцефалита препаратами эпросартан и рибавирин *in vitro* и *in vivo*  
Переверзева Э. Р., Трещалин М. И., Трещалин И. Д.  
Аскорбиген — модификатор токсичности рифабутина  
Митрохин С. Д., Орлова О. Е., Гостева И. В., Шкода А. С.  
Потребление антимикробных лекарственных средств в стационаре в зависимости от результатов микробиологического мониторинга ИСМП

#### В помощь практикующему врачу

- Камбачокова З. А., Хамурзова М. А., Арамисова Р. М., Тиммеева Л. М., Шогенова Ж. Л., Шокуева А. Г., Кипкеева Т. Б., Дадаев М. Х.  
Иммунопатогенетические нарушения у больных герпесвирусными инфекциями  
Коломиец В. М., Коваленко А. Л., Павленко Е. П., Таликова Е. В.  
Эффективность сукцинатсодержащего препарата в терапии сопровождения при лечении коморбидного туберкулёза в условиях пенитенциарного учреждения  
Струтынская А. Д., Карнаушкина М. А., Тюрин И. Е., Суворова М. П., Яковлев С. В.  
Септическая тромбоэмболия лёгочной артерии у пациентки с генерализованным сальмонеллёзом: клинический случай и метаанализ  
Чукина М. А., Вистовская Н. В., Лукина М. В., Журавлева М. В.  
Реализация программы Стратегии и контроля антимикробной терапии в Российском научном центре хирургии им. академика Б. В. Петровского

#### Стандартизация и контроль безопасности лекарственных средств

- Мельникова Е. В., Хорольский М. Д., Рачинская О. А., Меркулов В. А.  
Особенности проведения доклинических исследований препаратов клеточной терапии

#### Обзоры

- Белобородов В. Б., Ковалев И. А., Сапронов Г. В.  
Актуальные вопросы эмпирической терапии тяжёлой бактериальной внебольничной пневмонии в сезон респираторных вирусных инфекций

#### Original Papers

- 3 Gostev V. V., Sopova Yu. V., Kalinogorskaya O. S., Velizhanina M. E., Lazareva I. V., Starkova P. S., Sidorenko S. V.  
The Effects of Shock Vancomycin Concentrations on the Formation of Heteroresistance in *Staphylococcus aureus*  
8 Leonova G. N., Maistrovskaya O. S., Lubova V. A.  
Inhibition of Tick-Borne Encephalitis Virus Replication with Eprosartan and Ribavirin *In Vitro* and *In Vivo*  
13 Pereverzeva E. R., Treshchalin M. I., Treshchalin I. D.  
Ascorbigen — Rifabutin Toxicity Modifier  
21 Mitrokhin S. D., Orlova O. E., Gosteva I. V., Shkoda A. S.  
Appointment of Antimicrobial Medications in a Hospital Depending on the Results of Microbiological Monitoring of HAI

#### Guidelines for Practitioners

- 28 Kambachokova Z. A., Khamurzova M. A., Aramisova R. M., Timmoeva L. M., Shogenova Zh. L., Shokueva A. G., Kipkeeva T. B., Dadaev M. Kh.  
Immunopathogenetic Disorders in Patients with Herpesvirus Infections  
32 Kolomiets V. M., Kovalenko A. L., Pavlenko E. P., Talikova E. V.  
The Effectiveness of a Succinate-Containing Medication in Accompanying Therapy of Comorbid Tuberculosis in a Penitentiary Institution  
37 Strutynskaya A. D., Karnauzhkina M. A., Tyurin I. E., Suvorova M. P., Yakovlev S. V.  
Septic Pulmonary Embolism in a Patient with Generalized Salmonellosis: a Clinical Case and Meta-Analysis  
44 Chukina M. A., Vistovskaya N. V., Lukina M. V., Zhuravleva M. V.  
Strategy and Control of Antimicrobial Therapy Program Implementation at the B.V. Petrovsky National Research Center of Surgery

#### Drug Standardization and Control

- 51 Melnikova E. V., Khorolsky M. D., Rachinskaya O. A., Merkulov V. A.  
Features of Preclinical Studies of Cell Therapy Products

#### Reviews

- 64 Beloborodov V. B., Kovalev I. A., Sapronov G. V.  
Current Issues of Empirical Therapy of Severe Bacterial Community-Acquired Pneumonia During the Season of Respiratory Viral Infections

\* 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.

# Влияние шоковых концентраций ванкомицина на формирование гетерорезистентности у *Staphylococcus aureus*

\*В. В. ГОСТЕВ<sup>1,2</sup>, Ю. В. СОПОВА<sup>3,4</sup>, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ<sup>1</sup>, М. Е. ВЕЛИЖАНИНА<sup>4</sup>,  
И. В. ЛАЗАРЕВА<sup>1</sup>, П. С. СТАРКОВА<sup>1</sup>, С. В. СИДОРЕНКО<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

## The Effects of Shock Vancomycin Concentrations on the Formation of Heteroresistance in *Staphylococcus aureus*

\*V. V. GOSTEV<sup>1,2</sup>, YU. V. SOPOVA<sup>3,4</sup>, O. S. KALINOGORSKAYA<sup>1</sup>, M. E. VELIZHANINA<sup>4</sup>,  
I. V. LAZAREVA<sup>1</sup>, P. S. STARKOVA<sup>1</sup>, S. V. SIDORENKO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of Federal Medical-Biological Agency, St. Petersburg

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I.Mechnikov, St. Petersburg

<sup>3</sup> St. Petersburg branch of Vavilov Institute of General Genetics, St. Petersburg

<sup>4</sup> St. Petersburg University, St. Petersburg

Гликопептиды являются основой для лечения инфекций, вызываемых MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). Ранее было продемонстрировано, что при селекции устойчивости под воздействием высоких концентраций антибиотиков формируется антибиотикотолерантные фенотипы. В настоящем исследовании была использована аналогичная модель селекции *in vitro* с ванкомицином. В опыт были включены клинические изоляты MRSA, принадлежащие к генетическим линиям ST8, ST239, и штамм MSSA (ATCC29213). В течение пяти часов тестируемые изоляты инкубировали в среде с высокой концентрацией ванкомицина (50 мкг/мл). После каждого воздействия тестируемые культуры выращивали на среде без антибиотика в течение 18 ч. Всего проведено десять циклов воздействия. Ванкомицин характеризовался бактериостатическим действием, доля выживших клеток после воздействия составляла 70–100%. После селекции наблюдался незначительный рост МПК к ванкомицину (МПК 2 мкг/мл), тейкопланину (МПК 1,5–3 мкг/мл) и даптомицину (МПК 0,25–2 мкг/мл). После селекции все штаммы демонстрировали увлечение площади роста в зависимости от концентрации ванкомицина, по результатам популяционного анализа (PAP), при этом гетерорезистентный фенотип (при PAP/AUC ≥ 0,9) был выявлен у трёх изолятов. У всех изолятов были выявлены мутации в *walK* (T188S, D235N, E261V, V380I и G223D). Воздействие кратковременными шоковыми концентрациями ванкомицина способствует формированию гетерорезистентности как у MRSA, так и MSSA. Возможно формирование VISA фенотипов на фоне терапии ванкомицином.

**Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, ванкомицин, гетерорезистентность, селекция, *walK*.

Glycopeptides are the basis of the treatment of infections caused by MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). Previously, it was demonstrated that antibiotic tolerant phenotypes are formed during selection of resistance under the influence of high concentrations of antibiotics. The present study uses a similar *in vitro* selection model with vancomycin. Clinical isolates of MRSA belonging to genetic lines ST8 and ST239, as well as the MSSA (ATCC29213) strain, were included in the experiment. Test isolates were incubated for five hours in a medium with a high concentration of vancomycin (50 µg/ml). Test cultures were grown on the medium without antibiotic for 18 hours after each exposure. A total of ten exposure cycles were performed. Vancomycin was characterized by bacteriostatic action; the proportion of surviving cells after exposure was 70–100%. After selection, there was a slight increase in the MIC to vancomycin (MIC 2 µg/ml), teicoplanin (MIC 1.5–3 µg/ml) and daptomycin (MIC 0.25–2 µg/ml). According to the results of PAP analysis, all strains showed an increase in the area under curve depending on the concentration of vancomycin after selection, while a heteroresistant phenotype (with PAP/AUC ≥ 0.9) was detected in three isolates. All isolates showed *walK* mutations (T188S, D235N, E261V, V380I, and G223D). Exposure to short-term shock concentrations of vancomycin promotes the formation of heteroresistance in both MRSA and MSSA. Formation of VISA phenotypes is possible during therapy with vancomycin.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, vancomycin, heteroresistance, selection, *walK*.

## Введение

На сегодняшний день можно выделить несколько стратегий ухода бактерий от действия ан-

тибиотиков. Резистентность, как конечный этап формирования устойчивости, проявляющийся в полной нечувствительности к конкретному антибиотику всех бактериальных клеток в конкретной клеточной популяции. Другие стратегии — это гетерорезистентность и персистентность. В обоих случаях только часть клеток проявляют, соответ-

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Профессора Попова, д. 9, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, 197022

ственно, устойчивость или толерантность (способность пережить) к воздействию конкретного антибиотика при фенотипической чувствительности исследуемой бактериальной культуры [1, 2]. Существует точка зрения, что формирование устойчивости проходит последовательно через этапы гетерорезистентности, толерантности к полной резистентности [3]. Гетерорезистентность и персистенция связаны с неудовлетворительной антибиотикотерапией [4].

Гликопептиды являются основой для лечения инфекций, вызываемых MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). По результатам недавно опубликованного метаанализа [5], включающего анализ 155 публикаций со всех континентов и охватывающих более 75 000 изолятов за 20-летний период было показано, что частота выделения VISA (Vancomycin intermediate *S.aureus*) изолятов составляла более 6,3%, а VRSA (Vancomycin resistant *S.aureus*) — 1,5%. Авторы также подчёркивали увеличение количества частоты встречаемости VISA за последние десять лет. Механизм формирования VISA достаточно сложный и связан с накоплением мутаций в генах, ответственных за биосинтез клеточной стенки. Снижение чувствительности к гликопептидам также связано с феноменом гетерорезистентности [6].

В работах [7, 8] был впервые предложен новый подход к селекции устойчивости *in vitro*. Так, было показано, что при кратковременном циклическом воздействии высоких концентраций бактерицидных антибиотиков на *Escherichia coli* это способствовало появлению толерантности, за счёт значительного увеличения lag-фазы роста, и появлению персистенции как частного варианта гетерорезистентности. В настоящем исследовании, используя аналогичный подход, при воздействии высоких концентраций ванкомицина, была проведена оценка формирования резистентности и гетерорезистентности у *S.aureus*.

## Материал и методы

**Бактериальные изоляты.** В работу были включены клинические изоляты MRSA из музея культур ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России: SA0077, SA0422, SA0739 (генетические линии ST8) и SA0085 (ST239), выделенные в 2011–2013 гг. Также в работу был включен изолят MSSA — ATCC29213 (ST5).

**Воздействие шоковыми концентрациями ванкомицина.** За основу эксперимента был взят опыт [7]. Согласно предложенной схеме, изначально получали ночной инокулом исследуемых изолятов, далее делали разведения клеточной биомассы в соотношении 1:100 в жидкой питательной среде ВНИ (Brainheart infusion, Bio-Rad, France). При этом оценивали плотность клеточной биомассы с подсчётом КОЕ/мл. После в среду добавляли антибиотик ванкомицин (Molekula, UK) в концентрации 50 мкг/мл, с последующей инкубацией в течение пяти часов при 37°C и орбитальном шейкировании 250 rpm. После пяти часов воздействия антибиотиком снова проводили оценку плотности клеточной биомассы с подсчётом КОЕ на плотной питательной среде. Далее весь объём среды и клеток (в нашем опыте 100 мл) дважды отмывали от антибиотика

в PBS-буфере, получали клеточный осадок и ресуспендировали в свежей жидкой среде ВНИ для получения ночного инокулома. Все вышеописанные манипуляции составляли один цикл селекции. Всего было проведено десять циклов селекции. В каждом цикле была подсчитана доля выживших клеток, исходя из разности значений КОЕ/мл до и после пятичасового воздействия ванкомицином, выраженная в процентах от числа КОЕ/мл до воздействия ванкомицином.

**Оценка чувствительности к антибиотикам.** Минимальные подавляющие концентрации (МПК) ванкомицина и даптомицина определяли методом серийных разведений в бульоне Мюллера–Хинтона (Bio-Rad, France) МПК тейкопланина определяли с помощью E-test (bioMérieux, Франция).

**Популяционный анализ.** Популяционный анализ (Population analysis profile, PAP) проводили в микроварианте по методике [9] на агаре ВНИ (Bio-Rad, France). Использовали ряд разведений ванкомицина от 0 до 16 мкг/мл (9 разведений). Использовали стартовую взвесь микроорганизмов с плотностью 2,5 по шкале мутности McFarland. Учёт результатов проводили в течение 24–72 ч. Оценивали следующие параметры — зависимость роста клеточной биомассы (КОЕ/мл) от концентрации ванкомицина и площадь под кривой (Area under curve, AUC). Параметр AUC рассчитывали методом трапеций. Для предсказания фенотипа VISA рассчитывали соотношение PAP/AUC относительно референсного штамма Mu50 по формуле: AUC (тестируемый штамм) / AUC (референсный штамм). Интерпретацию результатов осуществляли исходя из следующих критериев: при получении PAP/AUC < 0,9 — оценивали как VSSA (vancomycin susceptible *S.aureus*) фенотип, при PAP/AUC > 0,9 — оценивали как VISA.

**Секвенирование генов, ассоциированных с устойчивостью к ванкомицину.** ДНК бактерий выделяли с использованием набора ДНК-сорб Б (ИнтерЛабСервис, Россия) с предварительной инкубацией клеточной взвеси при 99°C в течение часа. Для секвенирования были выбраны следующие гены — *graS*, *graR*, *walK*, *walR*, *rpoB*, *vraS*, *vraR*. Для этого были сконструированы праймеры (синтезированы в ЗАО Евроген, Россия), перекрывающие всю длину интересующих генов. ПЦР проводили с использованием наборов ScreenMix-HS (ЗАО Евроген, Россия), сиквеновую реакцию проводили с помощью набора BrilliantDye Terminator v 3.1 (NimaGen, The Netherlands). Секвенирование проводили на приборе 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Japan). Сборку секвенированных генов проводили в программе Contig Express Vector NTI™ (Invitrogen, USA), выявление мутаций проводили путём выравнивания нуклеотидных последовательностей генов изолятов до и после воздействия ванкомицином в программе Unipro UGENE [10].

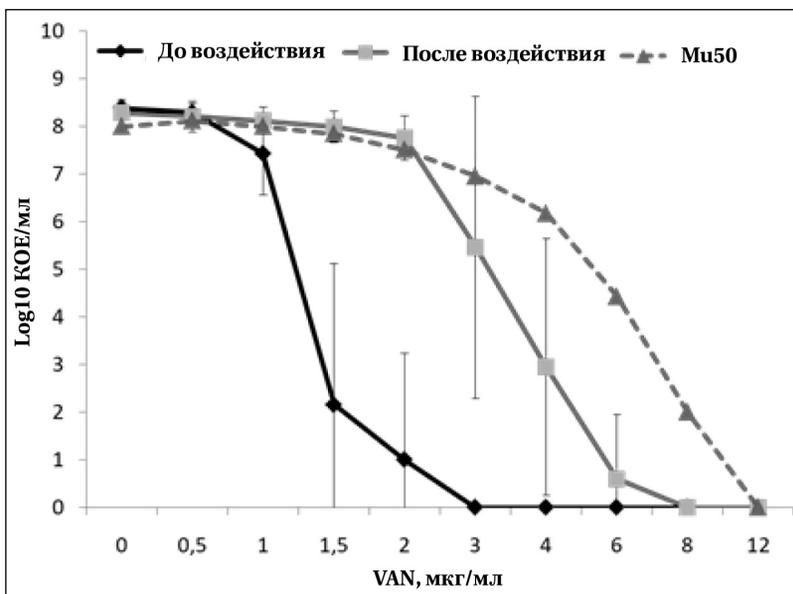
## Результаты

После десяти циклов воздействия шоковыми концентрациями ванкомицина для всех изолятов отмечалось незначительное увеличение МПК к гликопептидам, а также появление гетерорезистентности (таблица). Так, диапазон МПК ванкомицина и тейкопланина у изолятов до воздействия составлял 0,5–2 мкг/мл и 0,75–2 мкг/мл, соответственно. После селекции эти значения МПК были для ванкомицина 2 мкг/мл и тейкопланина 1,5–3 мкг/мл. Уровень МПК даптомицина менялся с 0,25–1 мкг/мл до 0,25–2 мкг/мл после воздействия. По результатам PAP — анализа было отмечено изменение характера кривых роста в зависимости от увеличивающихся концентраций ванкомицина (рис. 1). Для изолятов до воздействия ванкомицином максимальная ингибирующая концентрация составляла 3 мкг/мл.

## Фенотипические изменения у изолятов после воздействия шоковыми концентрациями ванкомицина

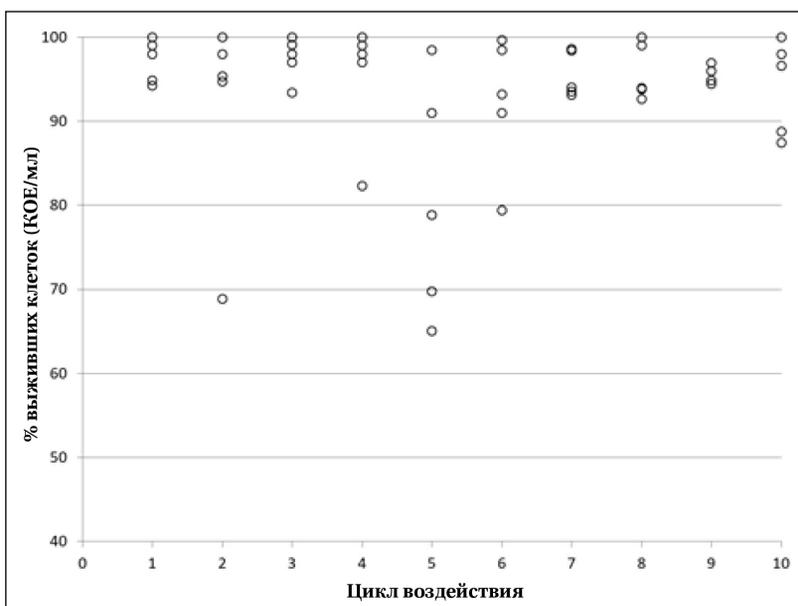
Изоляты	До воздействия				После воздействия				
	VAN	ТЕС	DAP	РАР/AUC	VAN	ТЕС	DAP	РАР/AUC	Мутации* WalK
ATCC29213	0,5	0,75	0,25	0,36 (V)	2	1,5	0,25	0,62 (V)	<b>T188S</b>
SA0077	2	2	0,5	0,56 (V)	2	3	1	0,93 (H)	<b>D235N</b>
SA0085	1	1	0,25	0,45 (V)	2	2	0,25	0,92 (H)	<b>E261V</b>
SA0422	2	2	1	0,38 (V)	2	3	2	0,88 (H)	V380I
SA0736	1	1,5	0,5	0,33 (V)	2	2	1	0,75 (V)	G223D

**Примечание.** VAN – ванкомицин; ТЕС – тейкопланин; DAP – даптомицин; РАР/AUC – в скобках представлены интерпретации РАР-анализа, V-VSSA; H – гетерорезистентность, фенотип VISA. \* – жирным шрифтом выделены ранее не описываемые аминокислотные замены.



**Рис. 1.** РАР-анализ с ванкомицином (VAN).

Представлены средние значения популяционного анализа по пяти изолятам до и после воздействия ванкомицином (50 мкг/мл).



**Рис. 2.** Доля выживших клеток после каждого цикла воздействия ванкомицином.

После селекции отмечался рост на концентрациях 4–8 мкг/мл.

Для всех изолятов было характерно увеличение параметра РАР/AUC после селекции. Так, среднее значение РАР/AUC до селекции составляло  $0,42 \pm 0,1$ , после селекции это значение возросло до  $0,82 \pm 0,13$  ( $p < 0,05$ ). При этом для изолятов SA0077, SA0085 и SA0422 был определен гетерорезистентный фенотип по параметру РАР/AUC при сравнении с контрольным штаммом Mu50.

Была проведена оценка доли выживших клеток после каждого воздействия шоковых концентраций ванкомицина. Результаты измерений представлены на графике рис. 2. Для ванкомицина был характерен бактериостатический эффект после пяти часов воздействия высокими концентрациями антибиотика. В среднем на протяжении всех 10 циклов количество выживших клеток либо не изменялось (100%), либо сокращалось в пределах 70–90%.

Было выявлено, что у всех изолятов после воздействия ванкомицином, появились значимые мутации в гене *walK*, затрагивающие разные аминокислотные остатки, и локализованные в разных доменах (см. таблицу). Мутации в остальных анализируемых генах *graS*, *graR*, *walR*, *rpoB*, *vraS* и *vraR* обнаружены не были.

## Обсуждение

Известно, что длительное воздействие субингибирующих концентраций антибиотиков влияет на формирование устойчивости, в том числе и к гликопептидам [11]. На этом основаны многие схемы селекции устойчивости *in vitro* бактерий к

антибиотикам. В настоящем исследовании была проведена селекция под воздействием высокой концентрации антибиотика. Такая стратегия имеет ряд отличий перед традиционными схемами селекции. К их числу можно отнести: вовлечение в процесс селекции всей клеточной массы и наличие этапа свободного роста популяции, что отражается в ускоренном накоплении возможных мутаций (за счёт роста в среде без антибиотика). Высокие концентрации антибиотика способствуют гибели подавляющей части популяции и являются мощным стимулом для положительного эволюционного отбора [7]. В настоящем исследовании была использована концентрация ванкомицина 50 мкг/мл, что в 25–100 раз выше начального уровня МПК у исследуемых изолятов. Также это значение близко к пиковой сывороточной концентрации ванкомицина 20–40 мкг/мл при стандартных схемах антибиотикотерапии [12]. После проведения селекции у трёх из четырёх клинических изолятов MRSA удалось получить гетерорезистентный фенотип при минимальных сдвигах в уровне МПК ванкомицина и тейкоплатина. Наше исследование подтверждает также, что ванкомицин больше характеризуется как бактериостатический антибиотик с медленным эффектом киллинга [13]. Так, при воздействии ванкомицина доля выживших клеток в каждом цикле селекции составляла 70–100%. Эти и другие фармакокинетические/фармакодинамические характеристики ванкомицина отражаются на возможном формировании VISA фенотипов в процессе лечения, что может опосредовать неудовлетворительный исход терапии.

После селекции у всех изолятов были обнаружены миссенс-мутации в ключевом гене *walk*. Ген *walk* (*vicK*) входит в важнейшую гистидин-киназную двухкомпонентную систему *walkKR*, принимающую участие в регуляции метаболизма и биосинтеза клеточной стенки у *S. aureus* [14]. Мутации в генах системы *walkKR* ассоциированы со снижением чувствительности к гликопептидам и даптомицину [15]. В настоящей работе были обнаружены как хорошо охарактеризованные, так и новые мутации в этом гене. В частности, мутация в позиции V380I впервые была описана у клинического изолята VISA, выделенного в США в 2000-х годах и относящегося к эпидемической линии ST5 [16]. Мутация в позиции G223D достаточно хорошо изучена и ассоциирована со снижением чувстви-

тельности к гликопептидам и даптомицину, описана среди многих клинических изолятов, а также мутантов производных штаммов, полученных при селекции устойчивости *in vitro* [17, 18]. Аминокислотные замены в положениях D235N, E261V и T188S могут рассматриваться как потенциально новые мутации и ассоциированы с формированием устойчивости к ванкомицину. Все эти новые аминокислотные замены, за исключением позиции 261, локализованы в функциональных доменах белка *WalK* и мутации в этих доменах, как правило, ассоциированы с VISA фенотипом [17]. После селекции у тестируемых изолятов незначительно повысилась МПК к даптомицину, однако для изолята SA0422 уровень МПК составлял 2 мкг/мл (устойчивый фенотип). Данное наблюдение подчёркивает возможность появления ассоциированной устойчивости к даптомицину на фоне селекции на ванкомицине [19, 20].

Проведённое исследование имеет ряд ограничений, во-первых, в исследовании не была проведена оценка ростовых свойств изолятов с выявлением возможного увеличения lag-фазы роста. Во-вторых, по полученным результатам нельзя чётко дифференцировать гетерорезистентность и толерантность к ванкомицину. И в третьих, был проведён поиск мутаций только в нескольких ключевых генах, существует возможность того, что помимо мутаций в *walk*, будут обнаружены другие генетические события в других локусах генома.

Таким образом, воздействие кратковременными шокowymi концентрациями ванкомицина способствует формированию гетерорезистентности без значительных изменений в фенотипической чувствительности как у MRSA, так и MSSA. Снижение чувствительности к гликопептидам было опосредовано мутациями в одном из ключевых генов, ассоциированным с устойчивостью к гликопептидам — *walk*. Данные наблюдения могут свидетельствовать о возможном формировании фенотипов со сниженной чувствительностью к ванкомицину на фоне терапии этим препаратом.

**Работа была выполнена в рамках гранта Российского научного фонда, проект № 18-75-10114 «Новые механизмы устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам и гликопептидным антибиотикам, связанные с внутриклеточными мессенджерами c-di-AMP и гетерорезистентностью».**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brauner A., Fridman O., Gefen O., Balaban N.Q. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microb* 2016; 14 (5): 320–330. doi: 10.1038/nrmicro.2016.34
2. Andersson D.I., Nicoloff H., Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nat Rev Microb* 2019; 17 (8): 479–496. doi: 10.1038/s41579-019-0218-1
3. Levin-Reisman I., Ronin I., Gefen O., Braniss I., Shores N., Balaban N.Q. Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. *Science* 2017; 355 (6327): 826–830. doi: 10.1126/science.aaj2191
4. Band V.I., Weiss D.S. Heteroresistance: A cause of unexplained antibiotic treatment failure? *PLoS Pathog* 2019; 15 (6): e1007726.
5. Shariati A., Dadashi M., Moghadam M.T., van Belkum A., Yaslianifard S., Darban-Sarokhalil D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. *Scic Rep* 2020; 10 (1): 12689.
6. Hiramatsu K., Kayayama Y., Matsuo M., Aiba Y., Saito M., Hishinuma T., Iwamoto A. Vancomycin-intermediate resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist* 2014; 2 (4): 213–224. doi: 10.1016/j.jgar.2014.04.006

7. Fridman O., Goldberg A., Ronin I., Shores N., Balaban N.Q. Optimization of lag time underlies antibiotic tolerance in evolved bacterial populations. *Nature* 2014; 513 (7518): 418–421. doi: 10.1038/nature13469
8. Van den Bergh B., Michiels J.E., Wenseleers T., Windels E.M., Boer P.V., Kestemont D., De Meester L., Verstrepen K.J., Verstraeten N., Fauvar M. et al. Frequency of antibiotic application drives rapid evolutionary adaptation of *Escherichia coli* persistence. *Nat Microbiol* 2016; 1: 16020. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.20
9. Pfeltz R.F., Schmidt J.L., Wilkinson B.J. A microdilution plating method for population analysis of antibiotic-resistant staphylococci. *Microbial Drug Resist* 2001; 7 (3): 289–295. doi: 10.1089/10766290152652846
10. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., Team U. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 2012; 28 (8): 1166–1167. doi: 10.1093/bioinformatics/bts091
11. Laureti L., Matic I., Gutierrez A. Bacterial Responses and Genome Instability Induced by Subinhibitory Concentrations of Antibiotics. *Antibiotics* 2013; 2 (1): 100–114. doi: 10.3390/antibiotics2010100
12. Giuliano C., Haase K.K., Hall R. Use of vancomycin pharmacokinetic-pharmacodynamic properties in the treatment of MRSA infections. *Expert Rev Anti-Infect Ther* 2010; 8 (1): 95–106. doi: 10.1586/eri.09.123
13. Stevens D.L. The role of vancomycin in the treatment paradigm. *Clin Infect Dis: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006; 42 Suppl 1: S51–57. doi: 10.1086/491714
14. Ji Q., Chen P.J., Qin G., Deng X., Hao Z., Wawrzak Z., Yeo W.S., Quang J.W., Cho H., Luo G.Z. et al. Structure and mechanism of the essential two-component signal-transduction system WalKR in *Staphylococcus aureus*. *Nat Commun* 2016; 7: 11000. doi: 10.1038/ncomms11000
15. Yin Y., Chen H., Li S., Gao H., Sun S., Li H., Wang R., Jin L., Liu Y., Wang H. Daptomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is conferred by IS256 insertion in the promoter of *mprF* along with mutations in *mprF* and *walK*. *Int J Antimicrob Agents* 2019; 54 (6): 673–680. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.08.021
16. Watanabe Y., Cui L., Katayama Y., Kozue K., Hiramatsu K. Impact of *rpoB* mutations on reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (7): 2680–2684/ doi: 10.1128/JCM.02144-10
17. Howden B.P., McEvoy C.R., Allen D.L., Chua K., Gao W., Harrison P.F., Bell J., Coombs G., Bennett-Wood V., Porter J.L. et al. Evolution of multidrug resistance during *Staphylococcus aureus* infection involves mutation of the essential two component regulator WalKR. *PLoS Pathog* 2011; 7 (11): e1002359. doi: 10.1371/journal.ppat.1002359
18. Howden B.P., Smith D.J., Mansell A., Johnson P.D., Ward P.B., Stinear T.P., Davies J.K. Different bacterial gene expression patterns and attenuated host immune responses are associated with the evolution of low-level vancomycin resistance during persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *BMC Microbiol* 2008; 8: 39. doi: 10.1186/1471-2180-8-39
19. Cui L., Tominaga E., Neoh H.M., Hiramatsu K. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (3): 1079–1082. doi: 10.1128/AAC.50.3.1079-1082.2006
20. Camargo I.L., Neoh H.M., Cui L., Hiramatsu K. Serial daptomycin selection generates daptomycin-nonsusceptible *Staphylococcus aureus* strains with a heterogeneous vancomycin-intermediate phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52 (12): 4289–4299. doi: 10.1128/AAC.00417-08

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Гостев Владимир Валерьевич* — к. б. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

*Сопова Юлия Викторовна* — к. б. н., Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

*Калиногорская Ольга Серафимовна* — к. м. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

*Велижанина Мария Евгеньевна* — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

*Лазарева Ирина Владимировна* — к. м. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

*Старкова Полина Сергеевна* — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

*Сидоренко Сергей Владимирович* — д. м. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

# Ингибирование репликации вируса клещевого энцефалита препаратами эпросартан и рибавирин *in vitro* и *in vivo*

\*Г. Н. ЛЕОНОВА, О. С. МАЙСТРОВСКАЯ, В. А. ЛУБОВА

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова», Владивосток

## Inhibition of Tick-Borne Encephalitis Virus Replication with Eprosartan and Ribavirin *In Vitro* and *In Vivo*

\*G. N. LEONOVA, O. S. MAISTROVSKAYA, V. A. LUBOVA

Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok

В настоящее время ведется активный поиск новых противовирусных веществ. Цель работы — выявление ингибирующей активности препарата эпросартан в сравнении с рибавирином *in vitro* и *in vivo* по отношению к вирусу клещевого энцефалита. Установлено значение половинной максимальной цитотоксической концентрации (CC<sub>50</sub>) для эпросартана (8,8±1,2 мг/мл) и рибавирина (1,074±0,16 мг/мл). Для получения среднеэффективной вирусингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) препаратов использовали данные ИФА. С помощью нелинейного регрессионного анализа показателей процента антиген положительных проб получены значения IC<sub>50</sub> изучаемых веществ, которое для эпросартана при лечебной схеме составило 0,64±0,23 мг/мл. Селективный индекс (SI) или химиотерапевтический индекс (ХТИ) составил 13,7. IC<sub>50</sub> рибавирина составила 0,0067±0,0015 мг/мл, SI или ХТИ равен 160. На культуре клеток СПЭВ подавление репродукции вируса ≥2,0 log TCID<sub>50</sub> происходило под действием эпросартана при концентрациях 1,2–3,0 мг/мл (лечебная схема), рибавирина — 0,2 мг/мл (профилактическая схема) и 0,2–0,0125 мг/мл (лечебная схема). На модели *in vivo* пробы с эпросартаном (1,5 и 0,6 мг/мл) по сравнению с контролем вируса показали увеличение выживаемости мышей до 50 и 20% и, соответственно, увеличение СПЖ на 5,2 и 2,1 дней. Пробы с рибавирином (0,05 и 0,025 мг/мл) увеличивали выживаемость мышей на 60 и 40% и, соответственно, увеличивали СПЖ на 7,3 и 4,8 дней. Полученные данные позволяют наряду с рибавирином рекомендовать препарат эпросартан в качестве активного средства против вируса КЭ.

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита, эпросартан, рибавирин, противовирусная активность.

Active search for new antiviral substances is currently underway. The purpose of this work is to identify the inhibitory activity of eprosartan medication in comparison with ribavirin *in vitro* and *in vivo* in relation to tick-borne encephalitis virus. The value of the half the maximum cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) for eprosartan (8.8±1.2 mg/ml) and ribavirin (1.074±0.16 mg/ml) was established. To obtain a medium effective virus-inhibiting concentration (IC<sub>50</sub>) of the medications, EIA data were used. Using nonlinear regression analysis of the percentage of antigen positive samples, IC<sub>50</sub> values of the studied substances were obtained, which for eprosartan was 0.64±0.23 mg/ml in the treatment regimen. The selective index (SI) or chemotherapeutic index (CTI) was 13.7. The IC<sub>50</sub> of ribavirin was 0.0067±0.0015 mg/ml, SI or CTI was 160. The suppression of viral reproduction ≥2.0 log TCID<sub>50</sub> occurred in PEK cell culture under the influence of eprosartan at concentrations of 1.2–3.0 mg/ml (treatment regimen), under the influence of ribavirin — 0.2 mg/ml (prophylactic regimen) and 0.2–0.0125 mg/ml (treatment regimen). Samples with eprosartan (1.5 and 0.6 mg/ml) showed an increase in survival of mice by 50% and 20% compared with the virus control group in the *in vivo* model and, accordingly, an increase in average life expectancy of 5.2 and 2.1 days. Samples with ribavirin (0.05 and 0.025 mg/ml) increased the survival of mice by 60% and 40% and, accordingly, increased the life expectancy by 7.3 and 4.8 days. The data obtained allow recommending eprosartan as an active agent against tick-borne encephalitis virus along with ribavirin.

**Keywords:** tick-borne encephalitis virus, eprosartan, ribavirin, antiviral activity.

## Введение

Роль РНК-содержащих вирусов в патологии человека сложно переоценить, в эту группу относят более десяти вирусных семейств, представители которых вызывают случаи заболеваний с тяжёлыми формами инфекционного процесса. Изучение флавивирусов необходимо для решения фундаментальных и прикладных вопросов

вирусологии, таких как лабораторная диагностика, создание живых ослабленных вакцин и противовирусных препаратов нового поколения. Вирус клещевого энцефалита относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. Род *Flavivirus* включает около 80 различных видов вирусов, многие из которых являются патогенными для человека. Это вирус Зика, широко распространённый в Южной и Центральной Америке, вирусы Западного Нила и жёлтой лихорадки, циркулирующие в тропической Африке, вирус лихорадки Денге — в Азии, вирус японского энцефалита — на Дальнем Востоке и другие [1].

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская 1, НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток, 690087. E-mail: galinaleon41@gmail.com

Клещевой энцефалит (КЭ) — опасная природно-очаговая инфекция, характерная для лесной зоны Евразийского континента. В Российской Федерации эта инфекция имеет распространение от Балтийского побережья до берегов Тихого океана [2–4]. Благодаря колоссальному сходству принципов организации геномов и высокой структурно-функциональной консервативности белков-мишеней вирусов этого рода и семейства, полученные фундаментальные и прикладные знания о вирусе КЭ можно с уверенностью экстраполировать на всех представителей рода *Flavivirus* и на некоторых из семейства *Flaviviridae*. Ограниченный выбор специфических препаратов против вируса КЭ и других флавивирусов определяет актуальность поиска новых средств терапии этой болезни [5].

Цель работы — выявление ингибирующей активности препарата эпросартан в сравнении с рибавирином *in vitro* и *in vivo* по отношению к вирусу клещевого энцефалита.

## Материал и методы

Использовали таблетки Геветен, содержащие 600 мг действующего вещества эпросартан, производитель Майлан Лэбораториз САС, Франция. Исходный раствор (60 мг/мл) был приготовлен в диметилсульфоксиде (ДМСО) (ПанЭко, Москва), затем разведение его делали на среде 199.

Использовали капсулы Рибавирина, содержащие в каждой капсуле 200 мг действующего вещества рибавирин, производитель ЗАО «Вертекс», Россия, г. Санкт-Петербург. Исходный раствор (100 мг/мл) был приготовлен в диметилсульфоксиде (ДМСО) (ПанЭко, Москва), затем разведение его делали на среде 199.

**Клетки и вирус.** Использована клеточная линия почек эмбриона свиней (СПЭВ), которую культивировали на среде 199 (производитель ООО НПП «ПанЭко»), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (производитель Nu Clone® South American original). Для проведения экспериментов клетки культуры СПЭВ высевали на 96-луночные микропланшеты и инкубировали при 37°C в присутствии 5% CO<sub>2</sub>. опыты проводили на односуточной культуре клеток.

В работе использовали штамм Dal'negorsk (Dal') вируса КЭ, выделенный из мозга пациента, умершего от КЭ. При изучении биологических свойств штамм был охарактеризован как высоковирулентный, по данным полногеномного секвенирования, отнесён к типичным представителям ВКЭ дальневосточного субтипа и зарегистрирован в GeneBank №FJ402886 [6]. Для проведения экспериментов после предварительного титрования готовили исходный запас штамма вируса КЭ, который хранили при -70°C. Во всех модельных схемах исследований клетки СПЭВ инфицировали вирусом КЭ при множественности инфекции (МОИ 0,01 TCID<sub>50</sub>/кл).

**Анализ цитотоксичности вещества (CC<sub>50</sub>) *in vitro*.** Цитотоксическую активность вещества определяли с использованием анализа МТТ. На односуточный монослой клеток в 96-луночных микропланшетах наносили различные концентрации вещества в 3 повторях. Обработанные клетки инкубировали с веществом в течение 4 сут при 37°C с последующим добавлением в каждую лунку по 15 мкл раствора МТТ (метилтиазолилтетразолия бромид) в концентрации 5 мг/мл и инкубировали в течение 2 ч при 37°C. Затем добавляли изопропиловый спирт, подкисленный 0,4М HCl (150 мкл/лунку). Оптическую плотность (ОП) измеряли на 96-луночном ридере (Labsystems Multiscan RC, Финляндия) при длине волны 540 нм. Жизне-

способность клеток оценивали как  $CC_{50} = \text{ОП опыта} / \text{ОП клеточного контроля} \times 100\%$ .

**Модельные схемы экспериментальных исследований механизмов действия вещества.**

**Внеклеточное вирулицидное действие:** равное количество выбранных доз вещества и ВКЭ соединяли (контакт 2 ч), смесью заражали монослой клеток СПЭВ, через 1 ч контакта трижды отмывали и заливали поддерживающей средой без сыворотки.

**Профилактическое действие:** разными дозами вещества заливали монослой клеток СПЭВ, через 2 ч контакта вещество убирали и добавляли ВКЭ, через 1 ч монослой отмывали и заливали поддерживающую среду.

**Прямое антивирусное действие:** монослой клеток заражали ВКЭ и одновременно добавляли вещество, через 1 ч отмывали и заливали поддерживающую среду.

**Внутриклеточная ингибция:** монослой клеток заражали ВКЭ, через 1 ч отмывали и добавляли вещество, приготовленное на поддерживающей среде.

Каждую пробу исследовали в 4 повторях на 96-луночном планшете. Культуральную жидкость опытных проб собирали через 48 ч в один сток из 4 лунок. Дальнейшие исследования по определению ингибции ВКЭ проводили следующими методами: определение ОП в ИФА, определение титра вируса по цитопатическому действию (ЦПД). Проверку инфекционности отдельных проб проводили на модели беспородных белых мышей (16–18 г) путём подкожного заражения по 0,2 мл (10 экз. на каждую точку).

**Статистический анализ.** Для расчёта половины максимальной цитотоксической концентрации (CC<sub>50</sub>), а также половинной максимальной ингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) тестируемых соединений использовали программное обеспечение Graph Pad Prism для Windows, версия 7 (Graph Pad Software Inc., Сан-Диего, Калифорния, США). Данные анализировали с помощью нелинейного регрессионного анализа.

Значение индекса селективности (SI) определяли как отношение CC<sub>50</sub> к IC<sub>50</sub>.

## Результаты и обсуждение

Токсичность эпросартана и рибавирина измеряли с помощью анализа МТТ относительно клеток СПЭВ. Установлено, что значение половинной максимальной цитотоксической концентрации (CC<sub>50</sub>) для эпросартана составило 8,8±1,2 мг/мл, для рибавирина — 1,074±0,16 мг/мл. Получено, что рибавирин в 8 раз токсичнее эпросартана. Установленные, а также меньшие концентрации веществ не цитотоксичны и могут хорошо переноситься клетками СПЭВ.

Для получения среднеэффективной вирусингибирующей концентрации (IC<sub>50</sub>) препаратов использовали данные ИФА. Получены показатели оптической плотности (ОП) антигена ВКЭ при разных модельных схемах эксперимента с разными концентрациями вещества. В таблице показана ингибирующая активность обоих веществ, которая выявлена только в четвертой опытной схеме (внутриклеточная ингибция вируса или условно при лечебной схеме применения препаратов).

С помощью нелинейного регрессионного анализа показателей процента антиген положительных проб получены значения IC<sub>50</sub> изучаемых веществ. Среднеэффективная вирусингибирующая концентрация эпросартана при лечебной

**Противовирусная активность эпросартана и рибавирина по отношению к вирусу клещевого энцефалита при модельной схеме эксперимента — внутриклеточная ингибция**

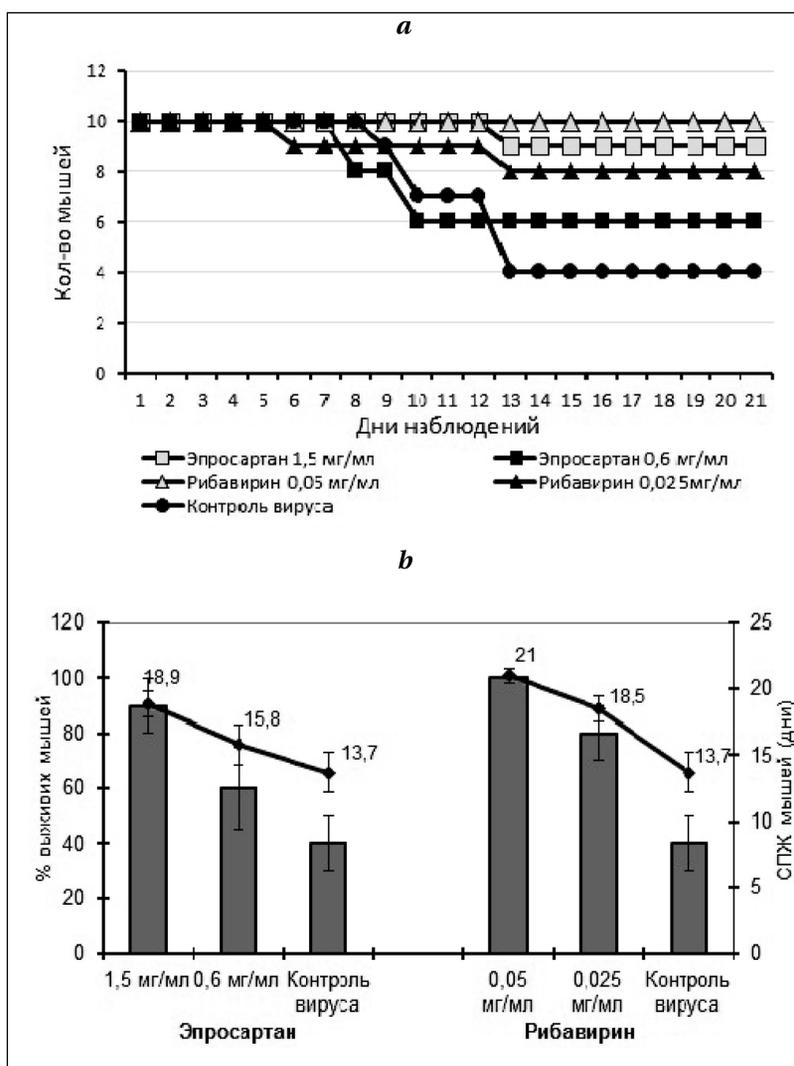
Вещества	Концентрация, мг/мл	ИФА		Титрование вируса в пробах		
		Показатель ОП антигена ВКЭ	антиген + пробы (%)	Титр вируса log TCID <sub>50</sub> ±SD	Подавление репродукции вируса Δ logTCID <sub>50</sub>	Ки, %
Эпросартан	3,0	0,2	2,3	0	5,5	100
	1,5	0,2	2,4	0	5,5	100
	1,2	1,9	27,8	3,0±0,1	2,5	45,4
	0,6	6,5	91,3	4,5±0,2	1,0	18,1
Рибавирин	0,2	0,21	2,9	0	5,5	100
	0,1	0,23	3,2	1,0±0,1	4,5	81,8
	0,05	0,26	3,6	1,5±0,2	4,0	72,7
	0,025	0,4	5,6	2,0±0,2	3,5	63,6
	0,0125	1,5	21,1	3,0±0,2	2,5	45,4
Контроль репликации вируса спустя 48 ч после заражения клеток	0,0075	5,3	74,6	4,5±0,3	1,0	18,1
		7,1		5,5±0,3		

схеме составила  $0,64 \pm 0,23$  мг/мл. Исходя из этих данных, получен селективный индекс (SI) или химиотерапевтический индекс (ХТИ), который составил 13,7.

Среднеэффективная вирусингибирующая концентрация рибавирина при лечебной схеме составила  $0,0067 \pm 0,0015$  мг/мл. Исходя из этих данных, получен SI или ХТИ, который равен 160.

Выявление неингибированного вируса КЭ с помощью титрования этих проб на культуре клеток СПЭВ показало, что подавление репродукции вируса  $\geq 2,0$  log TCID<sub>50</sub> происходило под действием эпросартана при концентрациях 1,2–3,0 мг/мл (лечебная схема), рибавирина — 0,2 мг/мл (профилактическая схема) и 0,2–0,0125 мг/мл (лечебная схема). На модели *in vivo* получены данные по сравнительному действию на вирус КЭ исследуемых препаратов (рисунок).

Пробы с эпросартаном (1,5 и 0,6 мг/мл) по сравнению с контролем вируса показали увеличение выживаемости до 50 и 20% и, соответственно, увеличение жизни животных на 5,2 и 2,1 дней. Пробы с рибавирином (0,05 и 0,025 мг/мл) увеличивали выживаемость на 60 и 40% и, соответственно, увеличивали жизнь животных на 7,3 и 4,8 дней. Результаты *in vivo* подтвердили данные исследований *in vitro*, полученные в ИФА, и по титрованию неингибированного вируса на культуре клеток СПЭВ (таблица).



**Показатели инфекциозности проб *in vivo* при экспериментальной схеме — внутриклеточная ингибция вируса клещевого энцефалита под действием эпросартана и рибавирина:**

*a* — динамика гибели животных, срок наблюдения 21 день; *b* — степень выживаемости (%) и средней продолжительности жизни (СПЖ) белых мышей, зараженных пробами с препаратами эпросартан и рибавирин, ингибирующими вирус КЭ.

В настоящих исследованиях мы руководствовались правилами проведения доклинических исследований лекарственных средств [7], а также опытом подобной работы, проведённой нами ранее [8, 9].

В медицинской практике в числе противовирусных препаратов используют структурные аналоги природных нуклеозидов, таких как ацикловир, рибавирин, которые демонстрируют высокую противовирусную активность. Известно, что рибавирин (синтетический аналог нуклеозидов 1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) характеризуется широким спектром противовирусного действия в отношении ДНК- и РНК-содержащих вирусов. Отмечено ингибирующее действие этого препарата на репликацию ряда флавивирусов в различных клеточных культурах [10, 11]. При этом исследователи [12, 13] считают, что противовирусная активность рибавирина может быть обусловлена ингибированием фермента инозинмонофосфат дегидрогеназы клеток хозяина, который снижает внутриклеточные запасы гуанозинтрифосфата, в результате чего опосредованно угнетается синтез нуклеиновых кислот вируса с последующим нарушением его транскрипции.

Полученные выше результаты при высокой дозе рибавирина (0,2 мг/мл) в профилактической модельной схеме косвенно указывали на приобретённые качественные изменения ферментативной активности клеток СПЭВ, которые могли оказать негативное влияние на синтез нуклеиновых кислот вируса (Ки=54,5%). Прямое угнетающее действие рибавирина на активность полимеразы вируса КЭ показано в опытах четвёртой модельной схемы, результаты которой непосредственно свидетельствовали о внутриклеточной ингибции вируса.

Выбор другого препарата с активно действующим веществом эпросартан был основан на исследованиях творческой группы специалистов [14], которые, используя конвейер виртуального скрининга, сконструировали структуры протеазы NS3 и полимеразы NS5 вируса Зика, представителя рода *Flavivirus*. Авторы показали, что некоторые из обнаруженных лигандов продемонстрировали тесное сродство к уязвимым сайтам в обоих белках. Препарат против гипертонии эпросартан вошёл в число такого выбранного лиганда. На основе предыдущих исследований па-

тогенных свойств вируса КЭ было определено, что уязвимый сайт NS3 полимеразы расположен между белком NS3 и кофактором NS2B [6, 15]. Результаты расчётов виртуального скрининга структуры протеазы NS3 и полимеразы NS5 вируса Зика [14] показали возможность экстраполировать их для вируса КЭ и, очевидно, для других представителей вирусов рода *Flavivirus*. На основании этих расчётов эпросартан был использован нами для изучения его ингибирующей активности против высоковирулентного штамма вируса КЭ в сравнении с известным и хорошо изученным противовирусным препаратом рибавирин для многих РНК- и ДНК-патогенных вирусов. Результаты комплексного исследования *in vitro* и *in vivo* действия препаратов эпросартан и рибавирин на вирус КЭ наглядно продемонстрировали внутриклеточную ингибцию репликации вируса. Несмотря на то что противовирусная активность рибавирина была выше более чем в 10 раз (ХТИ=160) по сравнению с эпросартаном (ХТИ=13,7), этот изученный препарат можно отнести к числу перспективных ингибиторов вируса КЭ.

## Заключение

Представленные данные позволяют наряду с рибавирином рекомендовать препарат эпросартан в качестве ингибирующего средства против вируса КЭ. Для получения комплексного представления о противовирусной активности препарата целесообразно продолжить исследования с использованием низковирулентного штамма вируса КЭ, что позволит обосновать эффективность поиска противовирусных препаратов методом молекулярного моделирования. Подбор и применение химических соединений, ингибирующих репликацию вирусов и идентифицированных на основе методов молекулярного моделирования, представляют современное направление в поиске эффективных противовирусных препаратов.

**Работа поддержана научным проектом (0545-2019-0007) Федерального Государственного бюджетного научного учреждения.**

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

## ЛИТЕРАТУРА

- Lindenbach B.D., Thiel H.J., Rice C.M. *Flaviviridae: the viruses and their replication*. In: Knipe D.M., Howley P.M. (Eds.) *Fields Virology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 1101–1152.
- Злобин В.И. Эпидемиологическая обстановка и проблемы борьбы с клещевым энцефалитом в Российской Федерации. Бюлл. сиб. мед. — 2006/ — 5. — Прил. 1. — С. 16–23. / Zlobin V.I. Epidemiologicheskaya obstanovka i problemy borby s kleshchevym entsefalitom v Rossiyskoy Federatsii. Byull Sib Med 2006; 5: 1: 16–23. [in Russian]
- Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит: актуальные аспекты. М. Издатель И.В. Балабанова, 2009. / Leonova G.N. Kleshchevoy entsefalit: aktualnyye aspekty. M. Izdatel I.V. Balabanova, 2009. [in Russian]
- Иерусалимский А.П. Клещевые инфекции в начале XXI века. Неврологический журнал. — 2009. — № 3. — С. 17–21. / Ierusalimskiy A.P. Tick-borne infections in the beginning of the XXI century. *Nevrologicheskiy Zhurnal* 2009; 3: 17–21. [in Russian]
- Логонова С.Я., Борисевич С.В., Русинев В.Л., Уломский У.Н., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Изучение противовирусной активности триазавирина в отношении возбудителя клещевого энцефалита в культуре клеток. Антибиотики и химиотер. — 2014. — № 1–2. — С. 3–5. /

- Loginova S.Ja., Borisevich S.V., Rusinov V.L., Ulomskij U.N., Charushin V.N., Chupahin O.N.* Izuchenie protivovirusnoj aktivnosti triazavirina v otnoshenii vzbuditelja kleshhevogo jencefalita v kul'ture kletok. *Antibiotiki i khimioter* 2014; 1–2: 3–5. [in Russian]
6. *Belikov S.I., Kondratov I.G., Potapova U.V., Leonova G.N.* The Relationship between the Structure of the Tick-Borne Encephalitis Virus Strains and Their Pathogenic Properties. *PLoS One* 2014. Apr 16; 9 (4): e94946. doi: 10.1371/journal.pone.0094946. eCollection 2014
  7. *Миронов А.Н., Буятыян Н.Д.* Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. — 944 с. / *Mironov A.N., Buniatyay N.D.* Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast pervaya. М.: Grif i K; 2012; 944. [in Russian]
  8. *Крылова Н.В., Леонова Г.Н.* Противовирусная активность препаратов с различным механизмом действия при экспериментальном клещевом энцефалите. *Вопр. вирусол.* — 2016. № 61 (3). — С. 139–144. doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-3- 139-144. / *Krylova N.V., Leonova G.N.* Protivovirusnaya aktivnost preparatov s razlichnym mekhanizmom deystviya pri eksperimentalnom kleshhevom entsefalite. *Vopr virusol* 2016; 61 (3): 139–144. doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-3- 139-144. [in Russian]
  9. *Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Лубова В.А., Майстровская О.С.* Ингибирующая активность флавоноидов байкальского шлемника относительно вируса клещевого энцефалита. *Бюлл эксперим биологии и*
  - медицины. — 2019. — Т. 168. — № 11. — С. 611–614. / *Leonova G.N., Shutikova A.L., Lubova V.A., Maistrovskaya O.S.* Ingibiruyushchaya aktivnost flavonoidov baykalskogo shlemnika otnositelno virusa kleshhevogo entsefalita. *Byull Eksperim Biologii i Meditsiny* 2019; 168: 11: 611–614. [in Russian]
  10. *Huggins J.W.* Prospects for treatment of viral hemorrhagic fevers with ribavirin, a broad-spectrum antiviral drug. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 4): 750–761.
  11. *Jordan J., Briese T., Fischer N., Lau J.Y., Lipkin W.I.* Ribavirin inhibits West Nile virus replication and cytopathic effect in neural cells. *J Infect Dis* 2000; 182 (4): 1214–1217.
  12. *Dixit N.M., Perelson A.S.* The metabolism, pharmacokinetics and mechanisms of antiviral activity of ribavirin against hepatitis C virus. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63 (7–8): 832–842.
  13. *Parker W.B.* Metabolism and antiviral activity of ribavirin. *Virus Res* 2005; 107: 165–71.
  14. *Feranchuk S., Potapova U., Belikov S.* Virtual screening of inhibitors for the Zika virus proteins. bioRxiv 060798; doi: <http://dx.doi.org/10.1101/060798>
  15. *Potapova U.V., Feranchuk S.I., Potapov V.V., Kulakova N.V., Kondratov I.G., Leonova G.N., Belikov S.I.* NS2B/NS3 protease: allosteric effect of mutations associated with the pathogenicity of tick-borne encephalitis virus. *J Biomol Struct Dyn* 2012; 30: 638–651.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Леонова Галина Николаевна* — д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории природно-очаговых инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

*Майстровская Ольга Сергеевна* — младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых инфекций

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

*Лубова Валерия Александровна* — младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток

# Аскорбиген — модификатор токсичности рифабутина

\*Э. Р. ПЕРЕВЕРЗЕВА, М. И. ТРЕЩАЛИН, И. Д. ТРЕЩАЛИН

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

## Ascorbigen — Rifabutin Toxicity Modifier

\*E. R. PEREVERZEVA, M. I. TRESHCHALIN, I. D. TRESHCHALIN

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

**Актуальность.** Показания к применению рифабутин постоянно расширяются. Он используется в терапии чрезвычайно сложных нозологических форм инфекционных заболеваний. Однако побочные эффекты препарата, такие как гастроинтестинальная токсичность и миелосупрессия, во многих случаях не позволяют завершить лечение и ослабляют приверженность больного к терапии. Это определяет необходимость поиска средств, позволяющих ослабить токсические свойства рифабутин. **Цель.** Исследование возможности коррекции гастроинтестинальной и гематологической токсичности рифабутин с помощью аскорбигена. **Материал и методы.** Исследования проведены на крысах самцах линии Wistar. Препараты вводили перорально в терапевтических дозах (50 мг/кг ежедневно в течение 15 сут). Аскорбиген вводили за 30 мин до введения рифабутин. В ходе исследования определяли массу тела, проводили клинический и биохимический анализ крови, анализ мочи, снимали ЭКГ. На 1- и 30-е сутки по окончании курса по пять животных из каждой группы подвергали эвтаназии. Проводили патоморфологическое исследование внутренних органов. **Результаты.** Показано, что применение рифабутин в сочетании с аскорбигеном приводит к ослаблению повреждающего действия антибиотика на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и ускорению процессов восстановления её структуры, что клинически выражается в нормализации прироста массы тела животных. При комбинированном применении рифабутин с аскорбигеном уменьшается глубина цитопении, а количество лейкоцитов в периферической крови крыс восстанавливается быстрее. Признаки атрофии лимфоидной ткани селезёнки отсутствуют. Введение аскорбигена до рифабутин оказывает протекторный эффект в отношении тканей почек и семенников. **Заключение.** Пероральное введение аскорбигена за 30 мин до рифабутин достоверно ослабляет гастроинтестинальную токсичность и гематотоксичность последнего, препятствует развитию процессов нарушения сперматогенеза. Это позволяет рекомендовать его для комбинированного применения с целью улучшения переносимости противотуберкулёзной терапии.

**Ключевые слова:** рифабутин, аскорбиген, гастроинтестинальная токсичность, гематотоксичность, крысы.

**Relevance.** Indications for rifabutin use are constantly expanding. It is used in the treatment of extremely complex nosological forms of infectious diseases. However, side effects of the medication, such as gastrointestinal toxicity and myelosuppression, in many cases do not allow the completion of treatment and weaken the patient's adherence to therapy. This determines the need to find means to reduce the toxic properties of rifabutin. **Objective.** The aim of the study was to investigate the possibility of correction of gastrointestinal and hematological toxicity of rifabutin with ascorbigen. **Material and Methods.** The study was performed in male Wistar rats. The drugs were administered per os at therapeutic doses (50 mg/kg daily for 15 days). Ascorbigen was administered 30 minutes before rifabutin. Body weight dynamics, hematological parameters, blood biochemical parameters, electrocardiography, and urinalysis were performed for all animals during the study. Five animals in each group were euthanized on the 1st and 30<sup>th</sup> days after the end of the treatment course. The internal organs were subjected to histological evaluation. **Results.** It has been shown that combined treatment with rifabutin and ascorbigen leads to a weakening of the damaging effect of the antibiotic on the mucous membrane of the gastrointestinal tract and accelerates the processes of restoration of its structure. Clinically, this is expressed in the normalization of body weight gain of animals. The combined use of rifabutin with ascorbigen reduces the depth of cytopenia. The number of leukocytes in the peripheral blood of the rats was restored faster. There were no signs of atrophy of spleen's lymphoid tissue. The administration of ascorbigen before rifabutin has a protective effect on the tissues of the kidneys and testes. **Conclusion.** Oral administration of ascorbigen 30 minutes before rifabutin significantly reduces the gastrointestinal toxicity and hematotoxicity of rifabutin and prevents the development of spermatogenesis disorders. This allows us to recommend it for combined use in order to improve tolerance to anti-TB treatment.

**Keywords:** rifabutin, ascorbigen, gastrointestinal toxicity, hematotoxicity, rats.

## Введение

Проблема повышения эффективности лечения туберкулёза имеет особую актуальность в связи с высоким уровнем заболеваемости во

всём мире, в том числе, и в России. Туберкулёз остаётся в числе 10 инфекционных болезней, лидирующих по показателям смертности. По данным, приведённым в последнем докладе ВОЗ, каждый год в мире туберкулёзом заболевает около 10 млн человек [1]. В России в 2018 г. было зарегистрировано 65,2 тыс. пациентов с диагнозом активного туберкулёза, установленным впервые

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1. ФГБНУ «НИИНА им. Г. Ф. Гаузе», г. Москва, 119021

в жизни [2]. Отмечается всё большее распространение лекарственно устойчивых форм туберкулёза. В 2018 г. было диагностировано около 0,5 млн новых случаев рифампициноустойчивого туберкулёза, из которых 78% составляют мультирезистентные формы [3]. Кроме того, в связи с распространением ВИЧ-инфекции выделилась группа больных с повышенным риском развития как туберкулёза, так и нетуберкулёзных микобактериозов, характеризующихся тяжёлым диссеминированным течением.

Антибиотикотерапия является основным методом лечения туберкулёза и заключается в длительном применении комбинации лекарственных препаратов. Для лечения лекарственно чувствительного туберкулёза в качестве препаратов первого ряда рекомендованы антибиотики группы рифамицинов (рифампицин, рифабутин, рифапентин), изониазид, пипразинамид, этамбутол, стрептомицин [4].

Выбор антибиотиков группы рифамицинов обусловлен их высокой активностью в отношении микобактерий, быстрым проникновением в клетку без повреждения её фагоцитарной функции, что особенно важно при лечении микобактериозов, вызываемых внутриклеточными возбудителями. Рифампицин и рифабутин структурно близки и сравнимы по спектру антимикробного действия, однако рифабутин имеет гораздо более узкий диапазон показаний по сравнению с рифампицином. Одобрённый в 1992 г. FDA, в 2009 г. он был официально признан ВОЗ основным лекарственным средством (Essential Medicine). Показания к применению рифабутина ограничивались лечением туберкулёза в случае непереносимости рифампицина и диссеминированной инфекции *Mycobacterium avium complex* (MAC) [5].

Результаты многоцентровых клинических исследований показали, что рифабутин по сравнению с рифампицином имеет более низкий потенциал межлекарственных взаимодействий при лечении ВИЧ-инфицированных больных, получающих одновременно антиретровирусную и противотуберкулёзную терапию [6]. Это связано с тем, что рифабутин является более слабым индуктором микросомальных ферментов печени, чем рифампицин [7], поэтому ВОЗ рекомендовал включение рифабутина в схему противотуберкулёзной терапии ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих антиретровирусную терапию ингибиторами протеаз, а также пациентов, получающих иммуносупрессивные препараты при трансплантации органов [8].

Важным свойством рифабутина, определяющим возможность его применения при туберкулёзе, обусловленном микобактериями, устойчивыми к рифампицину (PM-R), является отсутствие полной перекрёстной устойчивости возбуди-

телей к этим антибиотикам. Показано, что от 25 до 50% PM-R микобактерий сохраняют чувствительность к рифабутину [9, 10]. Опираясь на эти данные, ВОЗ включила рифабутин в группу препаратов первого ряда для лечения туберкулёза, вызванного микобактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) [11].

Таким образом, показания к применению рифабутина постоянно расширяются. Он используется в терапии чрезвычайно сложных нозологических форм инфекционных заболеваний. Однако побочные эффекты препарата, такие как гастроинтестинальная токсичность и миелосупрессия, во многих случаях не позволяют завершить лечение и ослабляют приверженность больного к терапии [12]. Это определяет необходимость поиска средств, позволяющих ослабить токсические свойства рифабутина.

В качестве модификатора токсичности рифабутина был выбран аскорбиген — природное соединение, главный продукт трансформации алкалоида глюкобрассицина, который содержится в высоких концентрациях в овощах семейства крестоцветных. Аскорбиген обладает способностью усиливать активность ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, и ослаблять токсические эффекты ряда веществ [13]. Он был синтезирован в НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе. По данным ЯМР, ВЭЖХ и ТСХ синтетический продукт полностью идентичен природному [14]. При изучении влияния аскорбигена на степень выраженности побочных реакций циклофосамида было установлено, что соединение обладает токсикомодифицирующей активностью и может быть использовано для защиты организма от токсического воздействия цитостатика или для ускорения репарации вызванных ими повреждений [15].

Цель работы — исследование возможности коррекции гастроинтестинальной и гематологической токсичности рифабутина с помощью аскорбигена.

## Материал и методы

Работа выполнена в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей [16].

Исследования проведены на крысах самцах линии Wistar, массой 130–140 г, полученных из Центрального питомника «Андреевка». Животные содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИНА» на стандартном рационе брикетированных экструдированных кормов со свободным доступом к питьевой воде. После двухнедельного карантина было сформировано 4 группы животных по 10 голов в каждой: 1 — интактный контроль; 2 — аскорбиген 50 мг/кг 15-кратно ежедневно; 3 — рифабутин 50 мг/кг 15-кратно ежедневно; 4 — аскорбиген 50 мг/кг 15-кратно ежедневно за 30 мин до введения рифабутина в разовой дозе 50 мг/кг. Аскорбиген и рифабутин вводили с помощью зонда в желудок в виде 2% раствора в водопроводной воде. Крысы 3- и 4-й экспериментальных групп полу-

чали рифабутин в разовой дозе, эквивалентной одной терапевтической, рассчитанной с помощью  $km$ -фактора, исходя из терапевтической дозы для человека [17]. Доза аскорбигена была выбрана на основании предыдущих исследований токсикомодифицирующих свойств соединения [15].

Субстанция рифабутин была получена из АО «Валента Фарм». Аскорбиген был синтезирован в лаборатории химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИНА».

Оценку токсического воздействия препаратов на структуру и функцию органов и тканей животных осуществляли в соответствии с правилами экспериментального изучения фармакологических веществ [18].

Перед началом введений препаратов у животных определяли фоновые показатели (масса тела, клинический анализ крови, ЭКГ). Ежедневно на всём протяжении эксперимента следили за состоянием и поведением животных, один раз в неделю определяли массу тела при помощи весов «Ohaus» (США). На 7- и 15-е сутки в процессе введений препаратов и на 3-, 5-, 7-, 15- и 30-е сутки после окончания курса введений при помощи автоматического гематологического анализатора «Abacus Junior Vet» (Швейцария) производили клинический анализ крови (лейкоциты и формула крови, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты). На 1- и 30-й день после окончания курса введений препаратов в сыворотке крови определяли уровни аланиновой трансаминазы (АЛТ), аспарагиновой трансаминазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), креатинина, мочевины, билирубина (прямого и общего), общего белка, альбумина, глюкозы, проводили исследование мочи (суточный диурез, клинический анализ), снимали ЭКГ. При биохимическом исследовании сыворотки крови использовали автоматический биохимический анализатор ChemWell (США), при исследовании мочи (рН, лейкоциты, эритроциты, кетоновые тела, белок, уробилиноген, удельный вес) — автоматический анализатор мочи Laura Smart (Лаксма, Чехия). ЭКГ во втором стандартном отведении регистрировали с помощью электрокардиографа ЭКГТ-07 (Россия).

На 1- и 30-е сутки после окончания курса введений препаратов половину животных из каждой группы подвергали эктаназии. При вскрытии макроскопически оценивали состояние органов и тканей. При помощи электронных весов «Ohaus» (США) определяли массу сердца, почек, печени, селезёнки и тимуса и рассчитывали их массовые коэффициенты. Статистическую обработку данных проводили по критерию  $t$  Стьюдента при помощи программы Microsoft Excel. Отличия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Для патоморфологического исследования брали участки различных органов и тканей, фиксировали в 10% нейтральном формалине, по стандартной методике заливали в парафин. Короткие серии срезов окрашивали гематоксилин-эозином.

## Результаты и обсуждение

На основании длительного опыта использования рифабутин в клинике были определены

его наиболее значимые побочные эффекты, среди которых особое значение имеют гастроинтестинальные симптомы, цитопения и поражения печени [19].

Признаки гастроинтестинальной токсичности рифабутин в нашем эксперименте были выявлены при исследовании массы тела животных. В группе крыс, получавших рифабутин, было отмечено значительное замедление прироста массы тела по сравнению с остальными группами. К концу курса введений препарата прирост массы тела составил всего 17,6%, тогда как в контрольной группе он составлял 65,9% (табл. 1). Восстановление этого показателя не происходило до конца наблюдения. В группе животных, получавших аскорбиген, уровень прироста массы был близок к контрольным значениям. При комбинированном применении рифабутин с аскорбигеном прирост массы тела на протяжении всего эксперимента практически не отличался от контроля.

Влияние рифабутин на структуру органов желудочно-кишечного тракта было подтверждено патоморфологическими исследованиями, которые показали, что препарат вызывает изменения структуры желудка, тощей, подвздошной кишки.

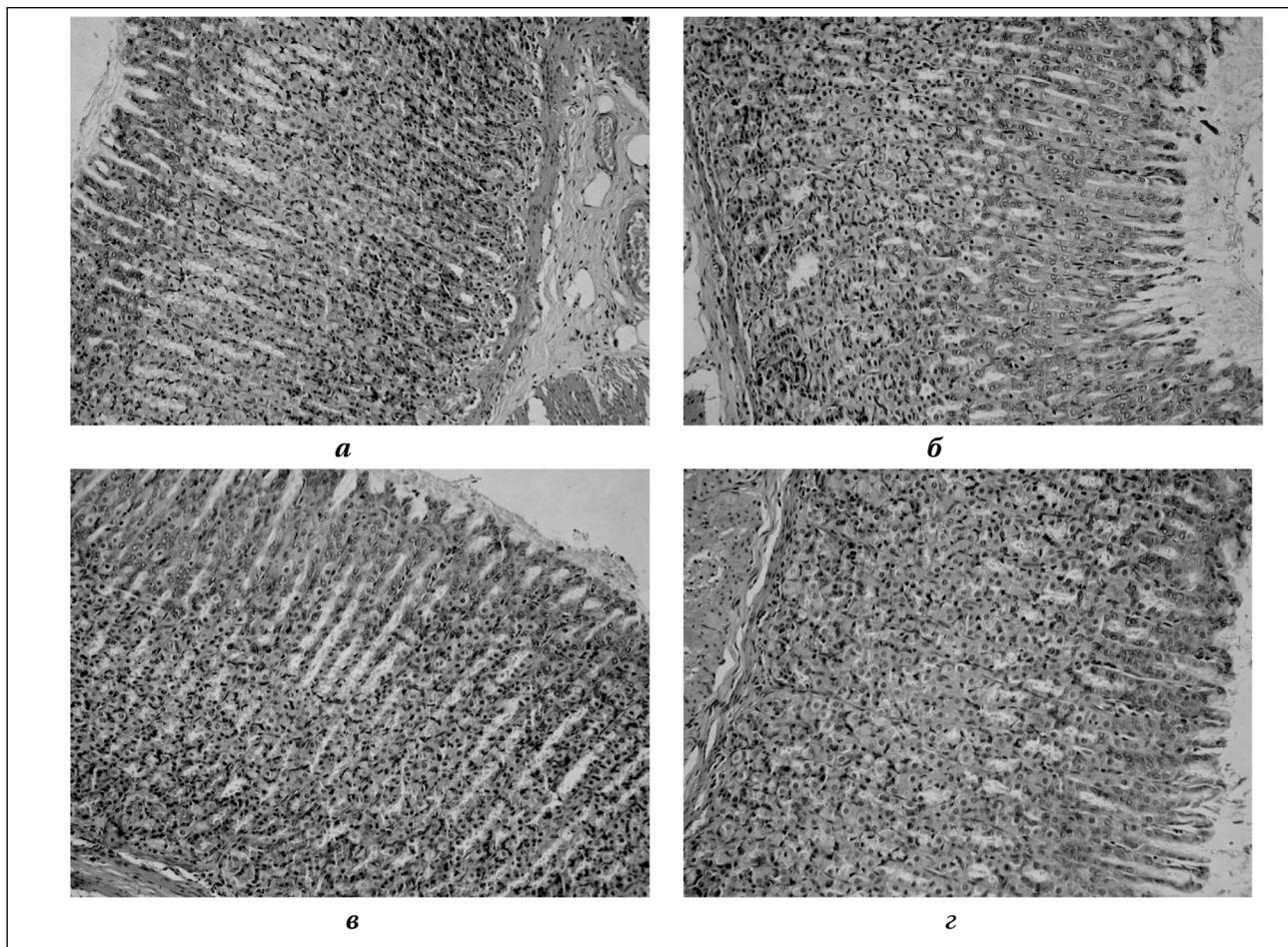
При применении рифабутин у всех животных возникала атрофия эпителия желёз слизистой оболочки желудка с замещением его покровно-ямочным эпителием. В железах значительно уменьшалось количество главных клеток, а количество обкладочных — увеличивалось. Просвет отдельных желёз был кистообразно расширен (рис. 1, а, б). Влияние аскорбигена на слизистую оболочку желудка проявлялось лишь у отдельных животных и выражалось в умеренных мелкоочаговых атрофических изменениях эпителия желёз (рис. 1, в). При комбинированном применении препаратов изменения слизистой оболочки желудка были такими же, как при использовании аскорбигена, однако на отдельных участках в области дна желёз количество обкладочных клеток несколько увеличивалось (рис. 1, г).

Курсовое введение рифабутин приводило к возникновению сильного отёка собственной пла-

**Таблица 1.** Изменение массы тела крыс

Сутки опыта	Показатель	Контроль	Аскорбиген	Рифабутин	Аскорбиген+Рифабутин
Фон (-3)	1	132,2±12,7	143,6±9,9	139,8±6,2	135,0±13,6
7	1	171,2±16,0	190,4±10,6	164,2±4,4	169,6±11,2
	2	+29,5	+32,6	+32,4	+25,4
14	1	219,2±20,3	228,8±13,1	*193,4±4,6	206,6±29,2
	2	+65,9	+59,4	+17,6	+53,0
21	1	250,0±16,8	247,4±11,2	*219,7±7,6	245,8±39,7
	2	+89,4	+72,3	+38,3	+82,7
30	1	312±9,2	289±22,9	*275±11,5	286±18,0
	2	+136,4	+102,9	+104,8	+111,4
45	1	377±12,3	361±26,8	*325±18,5	342,3±24,2
	2	+165,3	+151,4	+132,7	+154,4

**Примечание.** \* — отличие от контроля достоверно при  $p < 0,05$ ; 1 — масса тела (г); 2 — прирост массы тела (% к исходной массе).



**Рис. 1. Желудок крысы,  $\times 20$ .**

*а* – контроль. *б* – Рифабутин 50 мг/кг  $\times 15$ , 1-е сутки после курса. Умеренная атрофия эпителия желёз с замещением его покровно-ямочным эпителием, увеличение числа обкладочных клеток в области дна и тела желёз, расширение просвета желёз. *в* – Аскорбиген 50 мг/кг  $\times 15$ , 1-е сутки после курса. Небольшой очаг умеренной атрофии эпителия желёз с замещением его покровно-ямочным эпителием. *г* – Аскорбиген+Рифабутин. Умеренная очаговая атрофия эпителия желёз с замещением его покровно-ямочным эпителием, увеличение числа обкладочных клеток в области дна желёз.

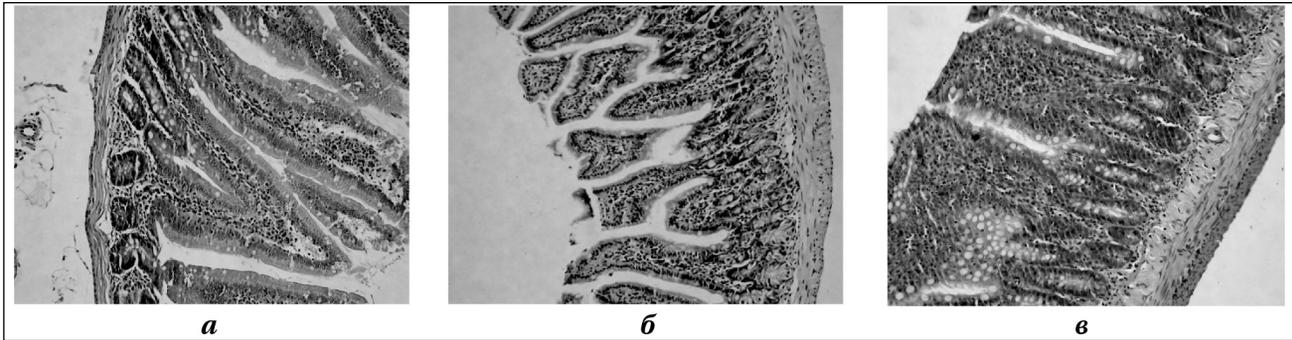
стилки слизистой оболочки тонкой кишки в области крипт и верхушек ворсин, очаговой атрофии эпителия желез. В области шейки желез был отмечен избыток бокаловидных клеток (рис. 2). Умеренная атрофия слизистой оболочки, слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация в области крипт сохранялись до конца наблюдения.

Воздействие аскорбигена на структуру кишечника проявлялось в виде активации клеток Панета, которая выражалась в увеличении количества, размеров и интенсивности окрашивания эозинофильных гранул в их цитоплазме (рис. 3, *а–г*). К 30-м суткам эксперимента активность клеток Панета возвращалась к норме. В остальном структура слизистой оболочки на оба срока наблюдения не отличалась от контроля.

При сочетанном использовании препаратов на 1-е сутки после курса был отмечен умеренный отёк собственной пластинки слизистой оболочки в строме ворсин и в области шейки отдельных же-

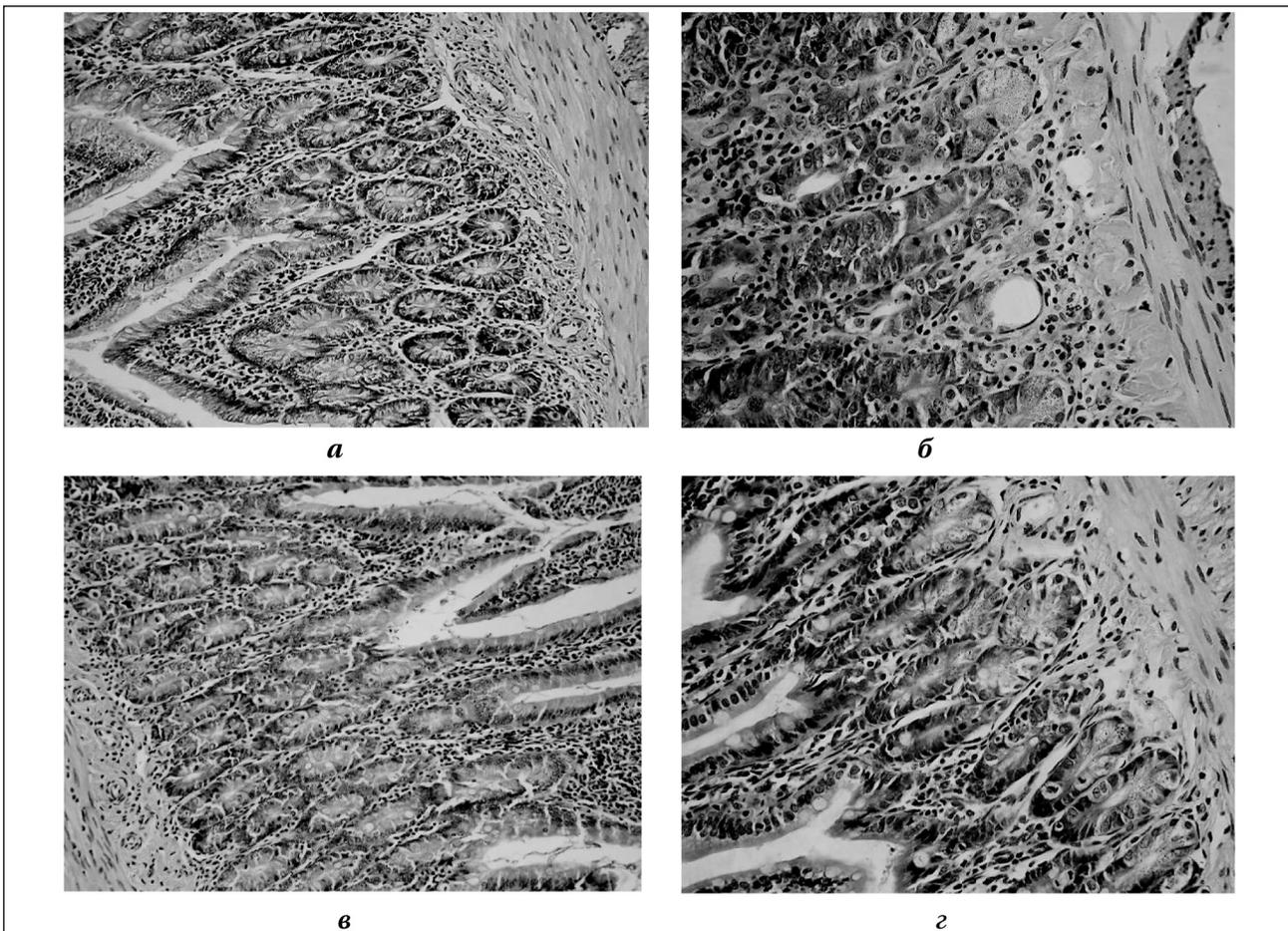
лез, а также увеличение числа и активности клеток Панета (рис. 2, *б*). В строме ворсин и в области крипт были найдены единичные лимфоидные инфильтраты. К 30-м суткам эксперимента структура ворсин не отличалась от контроля (рис. 2, *в*).

Значительное ослабление повреждающего действия антибиотика на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта и ускорение процессов восстановления её структуры, по-видимому, объясняется способностью аскорбигена активировать клетки Панета и бокаловидные клетки. Известно, что химиотерапевтические средства повреждают в первую очередь пролиферирующие популяции клеток, а высокодифференцированные клетки, в данном случае клетки Панета и бокаловидные клетки, повреждаются в меньшей степени [20]. Основной вклад в регенерацию слизистой оболочки тонкой кишки вносят именно эти два типа клеток [21]. Можно также предполо-



**Рис. 2. Подвздошная кишка крысы,  $\times 20$ .**

*а* – Рифабутин, 50 мг/кг  $\times 15$ , 1-е сутки после курса. Сильный отёк собственной пластинки слизистой оболочки в области крипт и верхушки ворсин, атрофия эпителия желёз с замещением элементами собственной пластинки слизистой оболочки. *б* – Аскорбиген+Рифабутин, 1-е сутки после курса. Умеренный отёк собственной пластинки слизистой оболочки в стромах ворсин и в области шейки отдельных желёз. Увеличение числа и активности клеток Панета. *в* – Аскорбиген+Рифабутин, 30-е сутки после курса. Слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки в области крипт.



**Рис. 3. Активация клеток Панета в криптах тонкой кишки под действием аскорбигена. Увеличение количества, размеров и интенсивности окрашивания эозинофильных гранул в цитоплазме.**

*а* – тощая кишка крысы. Контроль,  $\times 20$ . *б* – тощая кишка крысы. Аскорбиген 50 мг/кг  $\times 15$ , 1-е сутки после курса. Увеличение числа и активности клеток Панета,  $\times 40$ . *в* – подвздошная кишка крысы. Контроль,  $\times 20$ . *г* – подвздошная кишка крысы. Аскорбиген 50 мг/кг  $\times 15$ , 1-е сутки после курса. Увеличение числа и активности клеток Панета,  $\times 20$ .

жить, что активация секреторной активности клеток Панета, продуцирующих цитокины, факторы роста, ангиогенные факторы и т. п. [22–25] прямо или косвенно оказывает стимулирующее

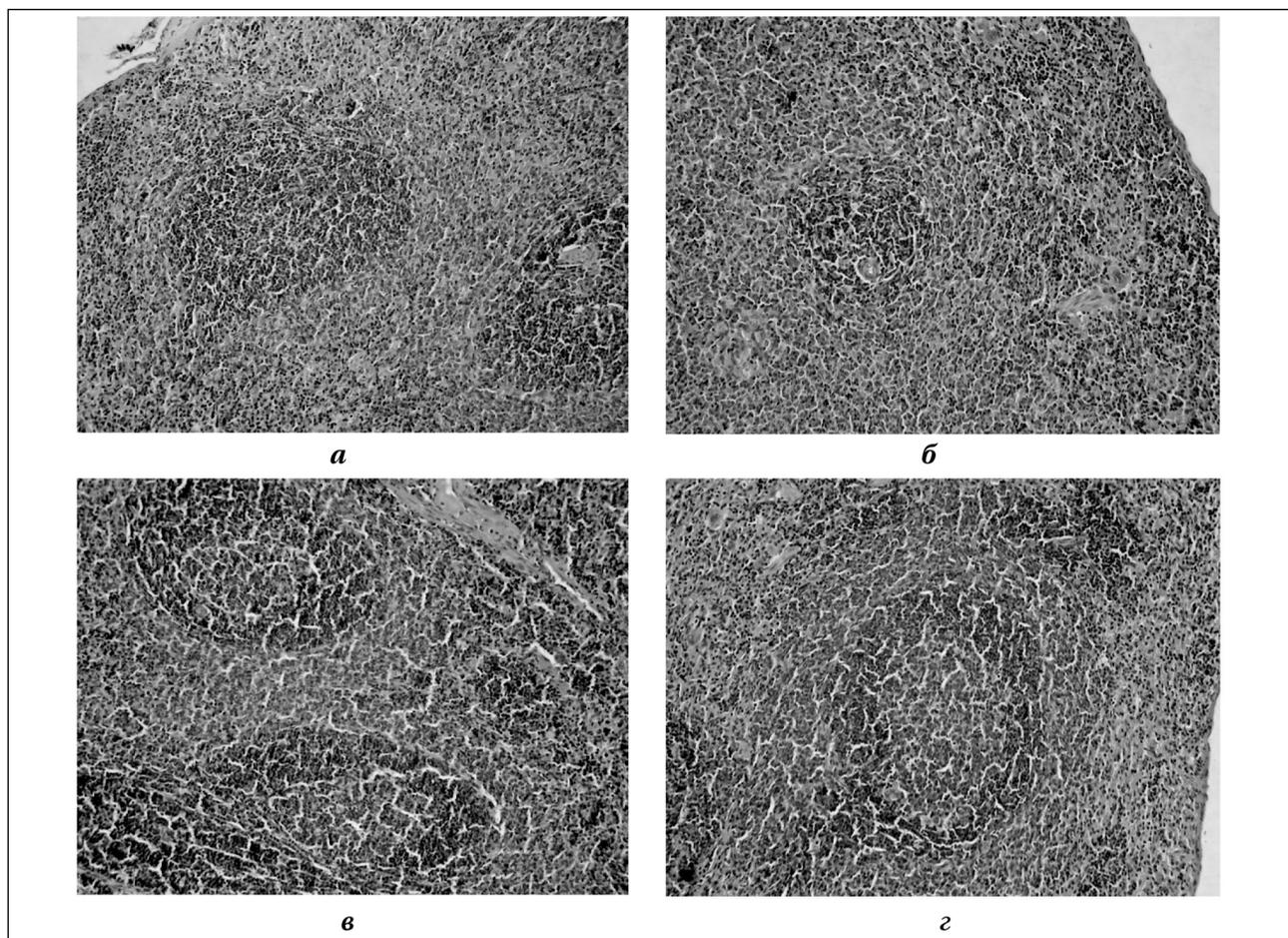
воздействие на скорость морфогенетических процессов в эпителии кишки.

Среди нежелательных явлений, возникающих на фоне применения рифабутина, отмечают эри-

**Таблица 2. Изменение общего количества лейкоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ) в периферической крови крыс**

Группа	Сутки во время курса			Сутки после курса				
	Фон (-3)	7	15	3	5	7	15	30
Контроль	10,0 $\pm$ 1,7	11,1 $\pm$ 2,6	11,2 $\pm$ 1,7	10,3 $\pm$ 2,6	11,6 $\pm$ 1,0	11,4 $\pm$ 1,5	10,7 $\pm$ 1,9	11,9 $\pm$ 1,6
Аскорбиген	9,4 $\pm$ 1,6	10,3 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 1,6	9,6 $\pm$ 1,8	11,2 $\pm$ 0,9	10,5 $\pm$ 1,6	10,9 $\pm$ 1,6	11,1 $\pm$ 1,7
Рифабутин	8,2 $\pm$ 0,7	10,6 $\pm$ 1,4	8,0 $\pm$ 1,5	*5,8 $\pm$ 1,5	*3,5 $\pm$ 0,7	*4,7 $\pm$ 0,8	8,6 $\pm$ 2,1	10,9 $\pm$ 2,7
Аскорбиген+Рифабутин	8,9 $\pm$ 2,1	8,7 $\pm$ 3,2	9,7 $\pm$ 2,7	6,1 $\pm$ 2,8	*4,3 $\pm$ 1,6	*5,3 $\pm$ 2,7	8,7 $\pm$ 2,8	10,3 $\pm$ 2,1

**Примечание.** \* – отличие от контроля достоверно при  $p < 0,05$ .



**Рис. 4. Селезёнка крысы,  $\times 20$ .**

*а* – контроль. *б* – Рифабутин 50 мг/кг  $\times$  15, 1-е сутки после курса. Атрофия лимфоидной ткани фолликула. *в* – Аскорбиген 50 мг/кг  $\times$  15, 1-е сутки после курса. Лимфоидные фолликулы с крупными центрами размножения. *г* – Аскорбиген+Рифабутин. Лимфоидный фолликул крупный, с центром размножения.

троцитопению, тромбоцитопению и лейкоцитопению, при этом последняя возникает более часто и может быть причиной прекращения лечения [12]. В нашем эксперименте количество эритроцитов, тромбоцитов, содержание гемоглобина во всех подопытных группах не отличалось от контроля, однако применение рифабутина приводило к уменьшению общего количества лейкоцитов с 3- по 7-е сутки после окончания курса введений (табл. 2).

Комбинированное применение рифабутина с аскорбигеном несколько ослабило гематотоксическое действие антибиотика. Достоверное уменьшение количества лейкоцитов было отмечено на 5- и 7-е сутки после окончания курса введений

препаратов. На 15-е сутки в обеих группах животных, получавших рифабутин, общее количество лейкоцитов соответствовало уровню контроля. Анализ лейкоцитарной формулы показал, что лейкоцитопения в обеих группах возникает за счёт снижения как гранулоцитов, так и лимфоцитов.

Патоморфологическое исследование выявило умеренную атрофию лимфоидной ткани фолликулов селезёнки, которая возникала на фоне применения рифабутина и проявлялась в значительном уменьшении их размеров (рис. 4, *а, б*).

Влияние аскорбигена на структуру селезёнки носило стимулирующий характер. На 1-е сутки после окончания его введений была отмечена гиперплазия лимфоидной ткани, которая выража-

лась в увеличении размеров лимфоидных фолликулов, появлении в них центров размножения. Вокруг пульпарных тяжей располагались широкие муфты из лимфоцитов (рис. 4, в). К концу эксперимента структура органа не отличалась от контроля.

При комбинированном использовании препаратов признаков атрофии лимфоидной ткани найдено не было. Фолликулы были крупными, часто — с центрами размножения, вокруг пульпарных тяжей располагались широкие муфты из лимфоцитов (рис. 4, г). На 30-е сутки морфологическое строение селезёнки не отличалось от контроля.

При применении рифабутин патологические изменения возникали также в печени, почках и семенниках. Хотя изменений биохимических показателей сыворотки крови, характеризующих функцию печени, зарегистрировано не было, при патоморфологическом исследовании на 1-е сутки после курса введений рифабутин были найдены признаки гепатотоксичности препарата в виде единичных микронекрозов между портальными трактами, некроза клеток краевой пластинки вокруг отдельных триад. Комбинирование рифабутин с аскорбином не оказало влияния на характер морфологических изменений в печени.

Пероральное введение аскорбина за 30 мин до рифабутин оказывало протекторный эффект в отношении ряда органов и тканей. Так, при применении рифабутин на 1-е сутки после курса введений в корковой зоне почек крыс были найдены единичные очаги деструкции эпителия небольших групп дистальных канальцев,

расположенных вблизи сосудов или клубочков. В единичных клубочках была отмечена очаговая деструкция капиллярной сети. При сочетанном использовании аскорбина и рифабутин морфологических изменений ткани почек выявлено не было.

М. Brughera и соавт. [26] при изучении хронической токсичности рифабутин на крысах установили, что препарат обладает также гонадотоксическими свойствами, которые проявляются при его длительном введении и выражаются в атрофии сперматогенного эпителия. В нашем эксперименте применение аскорбина оказывало выраженное защитное действие на ткань семенников. Если на 1-е сутки после курса введений рифабутин в части семенных канальцев была найдена дисконфлексация сперматогенного эпителия, то при его сочетанном использовании с аскорбином строение органа не отличалось от контроля.

## Заключение

Проведённое исследование показало, что пероральное введение аскорбина за 30 мин до рифабутин достоверно ослабляет гастроинтестинальную токсичность и гематотоксическое действие последнего, препятствует развитию процессов нарушения сперматогенеза. Это позволяет рекомендовать его для комбинированного применения с целью улучшения переносимости противотуберкулёзной терапии.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>
- Здравоохранение в России. 2019: Стат.сб./Росстат. М.: 2019. — 170 с. / Zdravookhraneniye v Rossii. 2019: Stat.sb./Rosstat. M.: 2019; 170. [in Russian]
- Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf?ua=1>
- Туберкулёз органов дыхания у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ. МКБ 10: A15/A16, 2018 / Tuberkulez organov dykhaniya u vzroslykh. Klinicheskie rekomendatsii. Ministerstvo zdravookhraneniya RF. MKB 10: A15/A16, 2018. [in Russian] <http://obltub.ru/assets/files/2019/05.2019/klinicheskie-rekomendacii-tod-u-vzroslyh-2018.pdf>
- Crabot Y., Catherinot E., Veziris N., Jullien V., Lortholary O. Rifabutin: where do we stand in 2016? J Antimicrob Chemother 2016; 71: 1759–1771. doi:10.1093/jac/dkw024
- Azis L., Jones-López E.C., Ellner J.J. Chapter 26-HIV-associated tuberculosis, in Sande's HIV/AIDS Medicine (Second Edition). 2012; 325–347. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0695-2.00026-2>
- Datri 001 Study Group. Clarithromycin (CL) plus rifabutin (RFB) for VFC prophylaxis: evidence for a drug interaction. In: Abstracts of the 1st Nat Conf Human Retroviruses Related Infect. Washington 1993; Abstr 106
- Treatment of tuberculosis: guidelines — 4<sup>th</sup> ed. WHO/HTM/TB/2009.420 [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44165/9789244547830\\_rus.pdf?sequence=2](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44165/9789244547830_rus.pdf?sequence=2)
- Цыбанев А.А., Соколова Г.В. Противотуберкулёзный антибиотик пролонгированного действия — рифабутин. Антимикробный спектр, особенности фармакодинамики и фармакокинетики. Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — № 8. — С. 30–36. / Tsybanev A.A., Sokolova G.V. Protivotuberkuleznyy antibiotik prolongirovannogo deistviya — rifabutin. Antimikrobyniy spektr, osobennosti farmakodinamiki i farmakokinetiki. Antibiotiki i khimioter 1999; 8: 30–36. [in Russian]
- Wallace R.J., Philley J.V., Griffith D.E. Antimycobacterial Agents. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition), V. 1, 2015; 463–478. e3 <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00038-2>
- WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019. Consolidated-guidelines-drug-resistant-TB-treatment/en/, accessed 17 July 2019. <https://www.who.int/tb/publications2019>
- Dobbs T.E., Webb R.M. Chemotherapy of tuberculosis. Microbiol Spectr 2017; 5 (2): 1–16. doi:10.1128/microbiolspec.TNMI7-0040-2017
- Kravchenko L.V., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Posdnyakov A.L., Tutel'yan V.A. Effect of nutritional indoles on activity of xenobiotic metabolism enzymes and T-2 toxicity in rats. Bull Exp Biol Med 2001; 131 (6): 544–547. doi: 10.1023/a:1012346401315
- Муханов В.И., Ярцева И.В., Кикоть Б.С., Володин Ю.Ю., Кустова И.Л., Лесная Н.А. и др. Изучение аскорбина и его производных. Биоорганическая химия. — 1984. — Т. 10. — № 4. — С. 554–559. / Mukhanov V.I., Yartseva I.V., Kikot' B.S., Volodin Yu.Yu., Kustova I.L., Lesnaya N.A. i dr. Izuchenie askorbigena i ego proizvodnykh. Bioorganicheskaya Khimiya 1984; 10: 4: 554–559. [in Russian]
- Переверзева Э.Р., Трещалин И.Д., Бодягин Д.А., Трещалин, М.И. Преобразовательная М.Н., Бухман В.М. Пероральное применение аскорбина с целью ускорения репарации индуцированных циклофосфамидом повреждений тонкой кишки и лимфоидных органов мышей. Российский биотерапевтический журнал. — 2005. — Т. 4. — № 4. — С. 129–133. / Pereverzeva E.R., Treschalyn I.D., Bodyagin D.A., Treschalyn M.I., Preobrazhenskaya M.N., Bukhman V.M. Oral administration of ascorbigen accelerates the regeneration of small intestine and lymphoid organs of mice after injury caused by cyclophosphamide. Russian biotherapeutic journal 2005; 4 (4): 129–133. [in Russian]
- European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Council of Europe, ETS No. 123). 1986.

17. *Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P., Schmidt L.H., Skipper H.E.* Quantitative Comparison of Toxicity of Anticancer Agents in Mouse, Rat, Hamster, Dog, Monkey, and Man. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50 (4): 219–244. PMID: 4957125.
18. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова, М.: Гриф и К. 2012. — ч. 1. — С. 13–24. / Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Pod red. A.N. Mironova, M.: Grif i K. 2012; 1: 13–24. [in Russian]
19. *Padmapriyadarsini C., Jawahar M.S.* A worldwide yearly survey of new data in adverse drug reactions and interactions. Rifabutin. In: *Side Effects of Drugs Annual* 2014; 35: 551–563. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62635-6.00030-9>
20. *Verburg M., Renes I.B., Meijer H.P., Taminiau J.A., Büller H.A., Einerhand A.W. et al.* Selective Sparing of Goblet Cells and Paneth Cells in the Intestine of Methotrexate-Treated Rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000; 279 (5): G1037–47. doi: 10.1152/ajpgi.2000.279.5.G1037.
21. *Verburg M., Renes I.B., Van Nispen D.J.P.M., Ferdinandusse S., Jorritsma M., Büller H.A. et al.* Specific responses in rat small intestinal epithelial mRNA expression and protein levels during chemotherapeutic damage and regeneration. *J Histochem Cytochem* 2002; 50 (11): 1525–1536. doi: 10.1177/002215540205001113.
22. *Seno H., Sawada M., Fukuzawa H., Morita-Fujisawa Y., Takaishi S., Hiai H. et al.* Involvement of tumour necrosis factor alpha in the intestinal epithelial cell proliferation following Paneth cell destruction. *Scand Gastroenterol* 2002; 37 (2): 154–160. <https://doi.org/10.1080/0036552022753416803>
23. *Möller P., Walczak H., Reidl S., Sträter J., Krammer P.H.* Paneth Cells Express High Levels of CD95 Ligand Transcripts: A Unique Property Among Gastrointestinal Epithelia. *Am J Pathol* 1996;49 (1): 9–13. PMID: 8686766
24. *Ariza A., López D., Castellà E.M., Muñoz C., Zijar M.J., Mate J.L.* Expression of CD15 in normal and metaplastic Paneth cells of the digestive tract. *J Clin Pathol* 1996; 49 (6): 474–477. doi:10.1136/jcp.49.6.474.
25. *Hooper L.V., Stappenbeck T.S., Hong C.V., Gordon J.I.* Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. *Nat Immunol* 2003; 4 (3): 269–273. doi:10.1038/ni888
26. *Brughera M., Scampini G., Newman A.J., Castellino S., Samantini U., Mazzeo G.* Overview of toxicological data on rifabutin. *Exp Toxicol Patol* 1995; 47: 1–9.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Переверзева Элеонора Рафаиловна* — д. б. н., зам. директора по научной работе, в. н. с. лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА», Москва. [Orcid.org/0000-0001-7368-9695](https://orcid.org/0000-0001-7368-9695)

*Трещалин Михаил Иванович* — н. с. лаборатории фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА», Москва. [Orcid.org/0000-0002-5652-8686](https://orcid.org/0000-0002-5652-8686)

*Трещалин Иван Дмитриевич* — к. м. н., заведующий лабораторией фармакологии и химиотерапии ФГБНУ «НИИНА», Москва. [Orcid.org/0000-0001-7331-5490](https://orcid.org/0000-0001-7331-5490)

# Потребление антимикробных лекарственных средств в стационаре в зависимости от результатов микробиологического мониторинга ИСМП

\*С. Д. МИТРОХИН, О. Е. ОРЛОВА, И. В. ГОСТЕВА, А. С. ШКОДА

Городская клиническая больница № 67 им. Л. А. Ворохобова, Москва

## Appointment of Antimicrobial Medications in a Hospital Depending on the Results of Microbiological Monitoring of HAI

\*S. D. MITROKHIN, O. E. ORLOVA, I. V. GOSTEVA, A. S. SHKODA

City Clinical Hospital No 67 named after L. A. Vorokhobov, Moscow

Одной из задач службы клинических фармакологов стационара является постоянный мониторинг уровня потребления антимикробных лекарственных препаратов (DDD-анализ) в зависимости от микробиологической и эпидемиологической ситуации в данном стационаре. Это необходимо для реализации различных медицинских программ и технологий, направленных на снижение селекционного пресса антимикробных препаратов и снижения риска появления, накопления и распространения в госпитальной среде стационара штаммов бактерий с множественной и/или экстремальной лекарственной устойчивостью к этим препаратам. На сегодняшний день часть медицинских учреждений, особенно в регионах РФ, не имеет полноценной службы клинических фармакологов и современной, хорошо оснащенной и компьютеризированной микробиологической лаборатории. Это не позволяет реализовать в полном объеме в таких стационарах вышеупомянутые программы, например, Система контроля за антимикробной терапией — СКАТ и технологии, например, «карбапенем-сохраняющие технологии» и «микробиологический мониторинг».

*Ключевые слова:* антимикробные препараты, микробиологический мониторинг, DDD-анализ.

One of the tasks of the hospital's clinical pharmacologists service is to continuously monitor the consumption of antimicrobial drugs (DDD analysis) depending on the microbiological and epidemiological situation in the hospital. This is necessary for the implementation of various medical programs and technologies aimed at reducing the selection pressure of antimicrobial drugs and reducing the risk of the emergence, accumulation, and spread of bacteria strains with multiple and/or extreme drug resistance to these drugs in the hospital environment. To date, some medical institutions, especially in the various regions of the Russian Federation, do not have a proper team of clinical pharmacologists and a modern, well-equipped and computerized microbiological laboratory. This does not allow full implementation of the above-mentioned programs in such hospitals, e. g. Antimicrobial therapy monitoring system — SCAT and technologies, e. g. «carbapenem-preserving technologies» and «microbiological monitoring».

*Keywords:* antimicrobial drugs, microbiological monitoring, DDD analysis.

### Введение

В современных условиях профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), является одной из глобальных мировых проблем. Актуальность ИСМП определяется их широким распространением, негативными последствиями для здоровья и жизни пациентов, персонала МО, увеличением расходов на оказание медицинской (в т. ч. стационарной) помощи, вследствие увеличения длительности стационарного лечения, снижения оборота койки, приводящих к росту потребности отрасли здравоохранения в дополнительных ресурсах.

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Салыма Адила, д. 2/44, ГКБ № 67, Москва, 123154

Проблема ИСМП неразрывно связана с формированием и широким распространением «госпитальных» штаммов возбудителей ИСМП, обладающих тотальной резистентностью к антибиотикам и дезинфицирующим средствам, что негативно влияет на качество лечения пациентов и эффективность профилактических мероприятий. Затраты на антибиотики и дезинфицирующие средства не приносят желаемого эффекта.

Интенсивное развитие и широкое применение высокотехнологичных методов диагностики и лечения обуславливает появление новых рисков, определяет необходимость непрерывного совершенствования технологий, методов и средств профилактики и лечения ИСМП.

Одним из таких рисков является широкое и, как правило, бесконтрольное применение антибиотиков. Сегодня врачи стремятся, как можно

более ранее, назначать препараты широкого спектра действия: карбапенемы, цефалоспорины III–IV поколений, фторхинолоны и т. д. Такое безответственное отношение к антибиотикам и привело в конечном итоге к появлению множественно устойчивых госпитальных штаммов — возбудителей ИСМП в наших стационарах.

Таким образом, одной из задач службы клинических фармакологов стационара является постоянный мониторинг уровня потребления антимикробных лекарственных средств в зависимости от микробиологической и эпидемиологической ситуации в данном стационаре.

И здесь хотелось бы поделиться опытом организации службы клинических фармакологов в городской клинической больнице № 67 им. Л. А. Ворохобова. В 2014 г. в структуре стационара по инициативе главного врача был организован отдел клинической фармакологии. За определённый промежуток времени сотрудниками этого подразделения совместно с сотрудниками микробиологической лаборатории была проанализирована эпидемиологическая ситуация в стационаре, выявлены ведущие госпитальные штаммы возбудителей различных нозологических форм ИСМП и изучена их чувствительность к широкому ряду антибактериальных препаратов. Затем на основании анализа полученных данных, совместно с ведущими клиническими отделениями, были разработаны «Протоколы рациональной антимикробной терапии (АМТ)» для каждого конкретного отделения больницы с учётом имеющегося микробного пейзажа в этом отделении и наиболее часто встречающихся нозологических форм ИСМП. В протоколе предусматривалось, что на первом этапе АМТ является эмпирической и назначается без проведения бактериологического посева. При отсутствии признаков клинической эффективности лечащий врач должен перейти на вторую схему АМТ с обязательной её оценкой через следующие трое суток и так далее. Всего в протоколе предусмотрено 4 схемы АМТ, разработанных по принципу эскалации/деэскалации. Таким образом, был соблюден принцип минимальной достаточности — не назначать новые и резервные антибиотики там, где прекрасно работают традиционные препараты. Подключение микробиологической лаборатории к проводимому лечению ИСМП предусматривалось при переходе на вторую схему АМТ и далее. Объём проводимых микробиологических исследований увеличивался от минимального на второй схеме АМТ (микроскопия для определения грамотрицательных или грамположительных микроорганизмов) до максимального при 3- и 4-й схемах лечения (выделение, идентификация этиологически значимых патогенов и определение их чувствительности к определённому ряду антибиотиков — антибиотикограмма).

Далее отделом совместно с аптекой больницы был составлен перечень антибактериальных препаратов, которые должны быть в больнице и рассчитано необходимое их количество. Все антибиотики были разделены на «рабочие» — выдаваемые в отделении без визы врачей отдела клинической фармакологии и «резервные», которые выдаются только с визой врача отдела. В микробиологической лаборатории были составлены антибиотикограммы, обязательно включающие в себя антибиотики, входящие в согласованный с врачами клиническими фармакологами больничной «Формуляр антибиотиков». Была разработана и внедрена в практику работы как линейных отделений, так и отделений реанимации и интенсивной терапии у/о форма: «Анкета СКАТ» (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии), которая помогает врачу клиническому фармакологу контролировать правильность проведения и адекватность АМТ ИСМП и проводить необходимую коррекцию между результатами чувствительности, полученными *in vitro* (лаборатория) и *in vivo* (отделение). В настоящее время в больнице внедрена электронная версия этой формы.

Если в 2013 г. объём закупок больницы на антибактериальные препараты составлял 74,8 млн руб., то в 2016 г., благодаря разработанному «Протоколу» и совместной работе отдела клинической фармакологии и микробиологической лаборатории, объём закупок составил 36,0 млн руб.

Все это позволило стационару проводить рациональную антимикробную терапию и профилактику ИСМП.

Микробиологическая лаборатория перешла от «научного» подхода в проводимых исследованиях (выделение от больных различных микроорганизмов и детальное изучение их биологических свойств) к «практическому» — исследования по строгим показаниям, ориентированным на конкретные патогены.

Это позволило:

- сократить сроки выдачи ответа с 4–6 сут до 1–3 сут;
- проводить микробиологический мониторинг за циркуляцией штаммов ИСМП и их антибиотикорезистентностью.

Помимо вышеперечисленных задач сотрудниками отдела также проводится регулярный анализ общего и структурного потребления антибиотиков в стационаре — DDD-анализ (DDD — Defined Daily Dose — установленная суточная доза).

Этот метод был принят ВОЗ более 20 лет назад как вариант стандартизации исследований по применению лекарств в различных странах. DDD теоретически соответствует средней поддерживающей дозе лекарственного препарата при его использовании по основному показанию. Для пероральных и парентеральных форм (для ЛС с низ-

кой биодоступностью при приёме внутрь) установлены разные DDD. Единицей измерения DDD служит количество (г, мг и др.) активного вещества в сутки. В связи с отсутствием детских DDD для большинства ЛС, оценка потребления ЛС у детей затруднена. Для комбинированных ЛС DDD разработаны для широко известных препаратов. В этом случае DDD не превышает DDD активных компонентов, единицей измерения служит количество разовых доз (количество таблеток, капсул и т.д.) ЛС в сутки. Информация о величине DDD имеется на сайте ВОЗ: <http://www.whooc.no/atcddd>, в справочнике Формулярного комитета РАМН (<http://www.regmed.ru>).

Иные способы оценки не нашли широкого применения вследствие искажения реальной картины потребления ЛС.

Для решения вышеупомянутой задачи нами была разработана специальная таблица (таблица), являющаяся основным инструментом для проведения данного анализа.

Ниже приведены результаты DDD-анализа потребления антимикробных лекарственных средств в больнице за период 2017–2019 гг. в зависимости от результатов микробиологического мониторинга ИСМП (рис. 1–6).

На рис. 1 видно, что в микробном пейзаже больницы за указанный период лидировали грамотрицательные микроорганизмы.



Рис. 1. Микробный пейзаж за 2017–2019 гг.

Среди грамотрицательных бактерий преобладали штаммы *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* (рис. 2).

Среди грамположительных бактерий лидировали *S.aureus* и *Enterococcus* spp.

На рис. 4–6 представлены данные по чувствительности штаммов ведущей микрофлоры к широкому спектру антибиотиков.

#### ABC/DDD-анализ

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
№ п-п	ABC	МНН	Наименование	Количество ЛС (в г) в одной упаковке	DDD	Количество DDD в одной упаковке	DDDс	DDD на 1 койко/день	DDD на 100 койко/дней	Процент DDD на 100 койко/дней	Кумулятивный процент стоимости
1				#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!	#####	#ДЕЛ/0!	#####	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!
2				#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!	#####	#ДЕЛ/0!	#####	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!
3				#ДЕЛ/0!	#ДЕЛ/0!	#####	#ДЕЛ/0!	#####	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!	#ССЫЛКА!

**Примечание.** Пункт 2. МНН — указание лекарственного препарата в соответствии с международным непатентованным наименованием. Пункт 3. Наименование — форма, доза, пути введения лекарственного препарата и количество в упаковке. Пункт 4. Расчёт количества лекарственного препарата, в данном случае антибиотика (в г) в упаковке. Пункт 5. Количество — потребление данного лекарственного препарата за определенный период времени. Пункт 6. DDD — установленная суточная доза. Используются данные [https://www.whooc.no/atcddd\\_index/](https://www.whooc.no/atcddd_index/) (в заполняемой форме ввести МНН интересующего препарата латинскими буквами в ячейку с надписью name (имя) или ввести известный АТС-код лекарственного средства в ячейку АТС code (АТХ код). Важно указать форму препарата, т. е. у таблетированных форм и растворов для инъекций может отличаться данное значение. Если не определена, то считается равной средней суточной дозе ЛС за курс лечения. Пункты 7–12 — считаются в таблице автоматически.



Рис. 2. Грамотрицательные микроорганизмы, выделенные в больнице в период 2017–2019 гг.

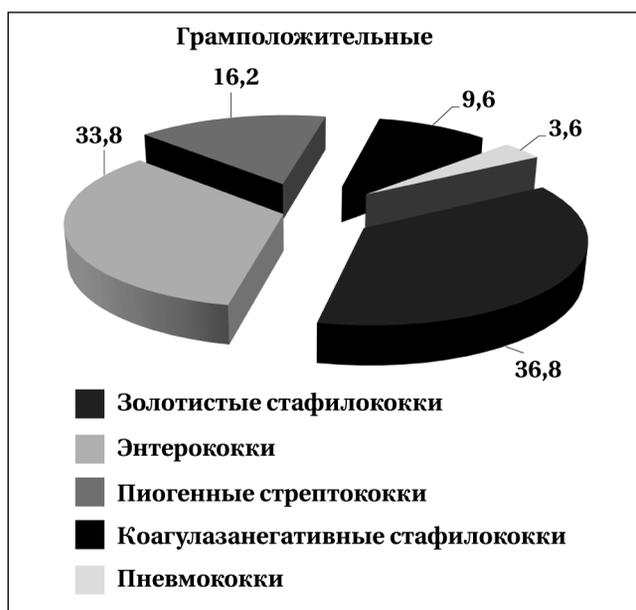


Рис. 3. Грамположительные микроорганизмы, выделенные в больнице в период 2017–2019 гг.

Как видно из представленных диаграмм, среди штаммов *E.coli* около 30% оказались продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и демонстрировали устойчивость к пенициллинам и цефалоспорином с первого по четвертое поколение, ассоциированную с устойчивостью к фторхинолонам. В пуле *K.pneumoniae*, помимо продуцентов БЛРС, были выявлены и штаммы — продуценты карбапенемаз, что сум-

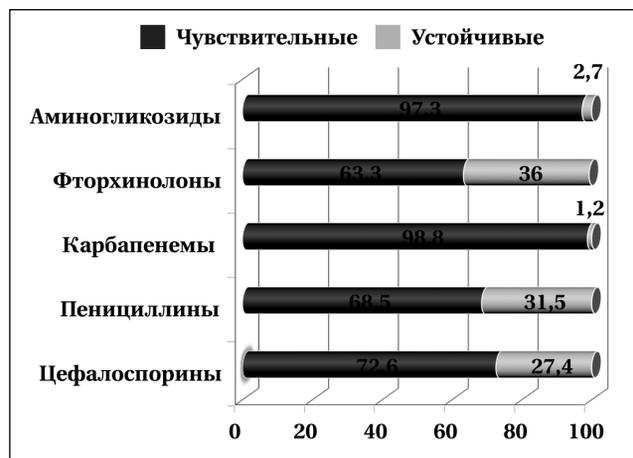


Рис. 4. Чувствительность кишечной палочки.

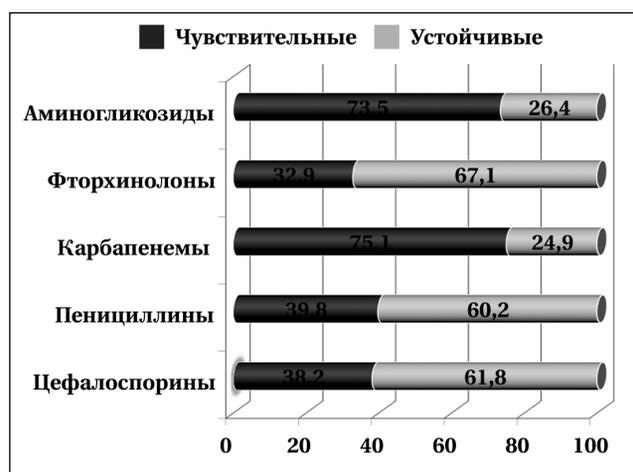


Рис. 5. Чувствительность *Klebsiella* spp.

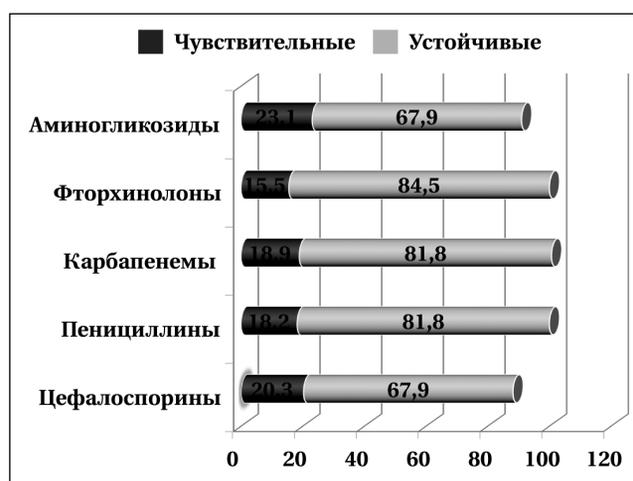


Рис. 6. Данные по чувствительности *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp.

марно составило 60–70% штаммов, резистентных к пенициллинам и цефалоспорином и 25% штаммов, резистентных к карбапенемам. Ещё более

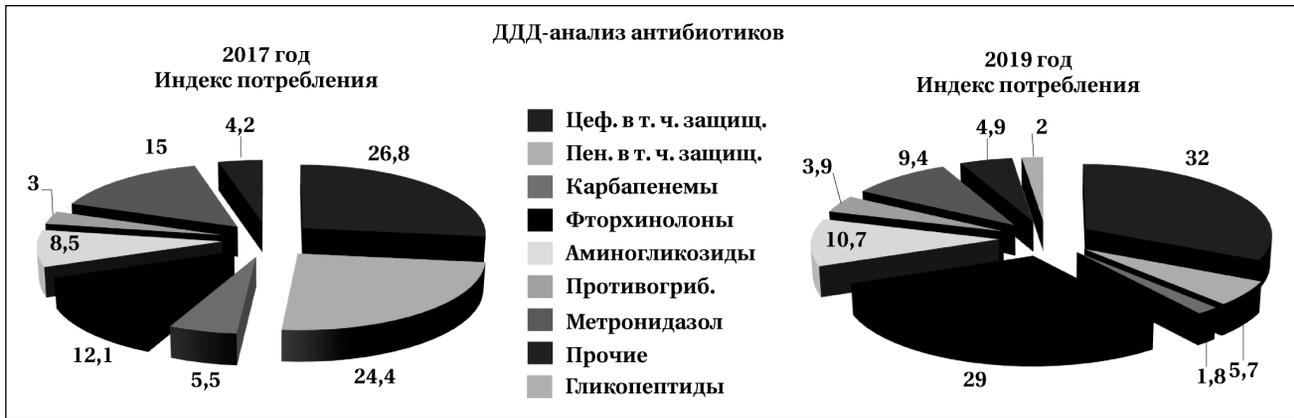


Рис. 7. Структурный анализ потребления антимикробных препаратов.

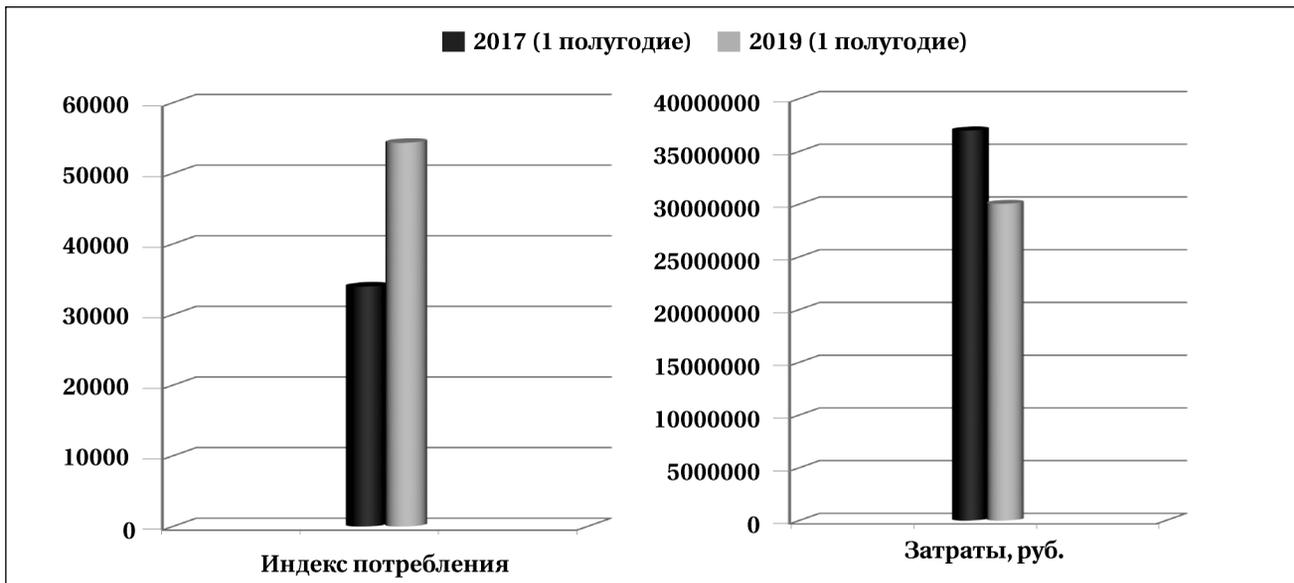


Рис. 8. Затраты на приобретение антимикробных препаратов

неблагоприятной ситуация оказалась среди штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий — *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. 80% штаммов этих бактерий оказались продуцентами карбапенемаз и демонстрировали ассоциированную устойчивость к бета-лактамам, фторхинолонам и аминогликозидам.

Таким образом, микробиологический мониторинг, проведённый в 2017–2019 гг., выявил наличие актуальной проблемы — циркуляцию в отделениях нашего стационара грамотрицательных бактерий — возбудителей ИСМП как с множественной резистентностью (MDR), так и с экстремальной резистентностью (XDR) к антимикробным препаратам.

Далее сотрудниками отдела клинической фармакологии был проведён анализ общего и структурного потребления антибиотиков в стационаре — DDD-анализ за аналогичное микробиологическому мониторингу время — 2017–2019 гг. (рис. 7–9).

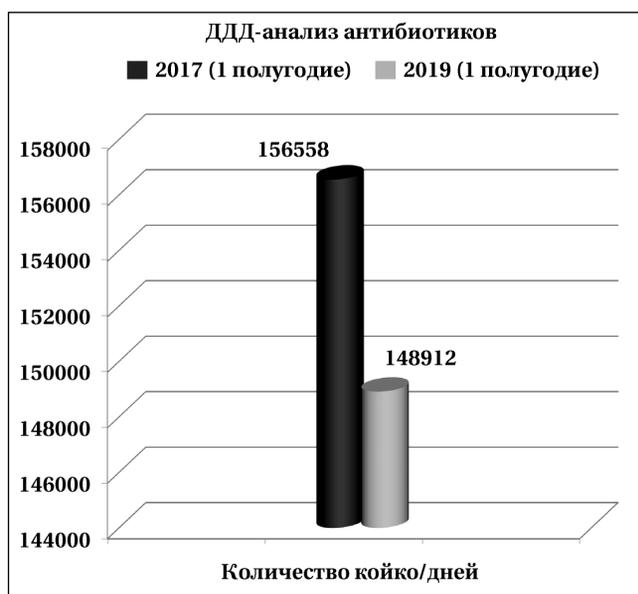


Рис. 9. Общее количество койко-дней в стационаре.

На рис. 7 приведены результаты структурного анализа потребления антимикробных препаратов в стационаре за три года. Если в 2017 г. в закупках больницы преобладали бета-лактамы антибиотиков — 57% от всего объёма, то в 2019 г. их доля упала до 40%, но состояла в основном из ингибиторозащищённых цефалоспоринов (в основном: цефепим/сульбактам, цефотаксим/сульбактам и цефоперазон/сульбактам) — до 63% от всех антибиотиков этой группы, а также ингибиторозащищённых пенициллинов и карбапенемов (суммарно не более 10% от всех бета-лактамов). Таким образом, за 3 года доля бета-лактамов антибиотиков была снижена на 17%. И это снижение произошло за счёт пенициллинов и карбапенемов, как препаратов, не имеющих преимуществ перед ингибиторозащищёнными цефалоспоридами III и IV поколения, согласно результатов микробиологического мониторинга. Ингибиторозащищённые цефалоспорины, такие как цефепим/сульбактам, цефотаксим/сульбактам, успешно заместили антибиотики карбапенемового ряда при лечении основных ИСМП: внутрибольничных пневмоний (включая ИВЛ-ассоциированных), инфекций мочевыводящих путей, перитонита и сепсиса в качестве препаратов первой линии.

Следует отметить ещё один факт, полученный по результатам проведённого DDD-анализа. Это увеличение доли фторхинолонов (на 17%) в закупках, проведённых больницей за указанный период. Это объясняется тем, что был выявлен хороший клинический эффект от проведения комбинированной терапии цефалоспоридами и фторхинолонами (ципрофлоксацин, левофлоксацин и др.) инфекций опорно-двигательного аппарата (спондилит, спондилодисцит и др.) и инфекций респираторного тракта (вероятное наличие атипичных патогенов).

Снижение доли дорогостоящих антибиотиков (карбапенемы) в закупках стационара позволило увеличить долю не менее эффективных, но более

дешевых ингибиторозащищённых цефалоспоринов и фторхинолонов. Это позволило на 20% уменьшить затраты больницы на приобретение антимикробных лекарственных средств и на 5% уменьшить общее количество койко/дней стационара (рис. 8, 9).

## Заключение

Как показал наш опыт участия в «пилотном» проекте «Обеспечение эпидемиологической безопасности медицинской помощи», разрабатываемого в рамках Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ, на сегодняшний день большая часть медицинских учреждений, участвующих в этом проекте, особенно в регионах РФ, не имеет полноценной службы клинических фармакологов и современной, хорошо оснащенной и компьютеризированной микробиологической лаборатории, что существенно препятствует проведению как микробиологического мониторинга, так и регулярного анализа общего и структурного потребления антибиотиков в стационаре — DDD-анализа, что необходимо проводить для достижения целевого показателя № 3 «Снижение уровня потребления антимикробных лекарственных средств», запланированного выше указанным проектом.

Хотелось бы надеяться, что описанная в статье модель как часть системы инфекционного контроля (или ей аналогичная) со временем была бы внедрена и полноценно функционировала и в других стационарах различного профиля.

Это позволило бы создать городскую/региональную систему мониторинга ИСМП, которая занималась бы изучением тенденций распространения резистентности к антибактериальным препаратам среди госпитальных штаммов микроорганизмов, циркулирующих в стационарах и разрабатывала бы рекомендации по профилактике и лечению ИСМП для всего городского/регионального здравоохранения в целом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов М.Б., Черенькая Т.В. Алгоритмы и организация антибиотикотерапии. Руководство для врачей. М.: 2004. / Bogdanov M.B., Cheren'kaya T.V. Algoritmy i organizatsiya antibiotikoterapii. Rukovodstvo dlya vrachej. M.: 2004. [in Russian]
2. Белокрысенко С.С. Опора клинициста (структура и функции современной микробиологической лаборатории в системе клинической лабораторной службы). Медицина для всех. — 1998. — № 5 (11). — С. 2–4. / Belokrysenko S.S. Opora klinitsista (struktura i funktsii sovremennoj mikrobiologicheskoy laboratorii v sisteme klinicheskoy laboratornoj sluzhby). Meditsina dlya vsekh. 1998; 5 (11): 2–4. [in Russian]
3. Рубин Р.Дж., Харрингтон К.А., Пун А. и др. Экономические потери, связанные с инфекциями, вызванными *Staphylococcus aureus*. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2000. — № 2 (2). — С. 47–56. / Rubin R.Dzh., Kharrington K.A., Pun A. i dr. Ekonomicheskie poteri, svyazannye s infektsiyami, vyzvannymi *Staphylococcus aureus*. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya 2000; 2 (2): 47–56.
4. Семина Н.А., Ковалева Е.П. Внутрибольничные инфекции — актуальная проблема современного здравоохранения. «Инфекционные болезни на рубеже XXI века». Материалы научно-практической конференции, май, 2000. М.: 2000; Ч. II. — С. 35–36. / Semina N.A., Kovaleva E.P. Vnutribol'nichnye infektsii — aktual'naya problema sovren-

menogo zdravookhraneniya. «Infektsionnye bolezni na rubezhe KhKhI veka». Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii, maj, 2000. M.: 2000; II: 35–36. [in Russian]

5. Строгонов В.П. Особенности эпидемиологии и микробиологии госпитальных инфекций. Инфекции и антимикробная терапия. 2000; — № 2 (3). — С. 96–98. / Stroganov V.P. Osobennosti epidemiologii i mikrobiologii gospital'nykh infektsij. Infektsii i Antimikrobnaya Terapiya 2000; 2 (3): 96–98. [in Russian]
6. 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.: 2012. / Strategiya i taktika primeneniya antimikrobnnykh sredstv v lechebnykh uchrezhdeniyakh Rossii. Rossijskie natsional'nye rekomendatsii. Pod. red. V.S. Savel'eva, B.R. Gel'fanda, S. V. Yakovleva. M.: 2012. [in Russian]
7. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи: методические рекомендации. Под. ред. С.В. Яковлева, М.В. Журавлевой, Д.Н. Протченко, В.Б. Белобородова. М.: 2016. / Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnnoj Terapii) pri okazanii statsionarnoj meditsinskoj pomoshchi: metodicheskie rekomendatsii. Pod. red. S.V. Yakovleva, M.V. Zhuravlevoj, D.N. Protshenko, V.B. Beloborodova. M.: 2016. [in Russian]

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Митрохин Сергей Дмитриевич* — д. м. н., профессор, руководитель отдела клинической фармакологии городской клинической больницы № 67 им. Л. А. Ворохобова Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва. ORCID 0000-0001-5127-1060

*Орлова Ольга Евгеньевна* — к. б. н., заведующая микробиологической лабораторией городской клинической больницы № 67 им. Л. А. Ворохобова Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва. ORCID 0000-0001-7210-1116

*Гостева Ирина Викторовна* — врач-клинический фармаколог отдела клинической фармакологии городской клинической больницы № 67 им. Л. А. Ворохобова Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва. ORCID 0000-0002-7648-1133

*Шкода Андрей Сергеевич* — д. м. н., главный врач городской клинической больницы № 67 им. Л. А. Ворохобова Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва. ORCID 0000-0002-9783-1796

## Иммунопатогенетические нарушения у больных герпесвирусными инфекциями

\*З. А. КАМБАЧОКОВА, М. А. ХАМУРЗОВА, Р. М. АРАМИСОВА, Л. М. ТИММОЕВА,  
Ж. Л. ШОГЕНОВА, А. Г. ШОКУЕВА, Т. Б. КИПКЕЕВА, М. Х. ДАДАЕВ

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», *Нальчик*

### Immunopathogenetic Disorders in Patients with Herpesvirus Infections

\* Z. A. KAMBACHOKOVA, M. A. KHAMURZOVA, R. M. ARAMISOVA, L. M. TIMMOEVA,  
ZH. L. SHOGENOVA, A. G. SHOKUEVA, T. B. KIPKEEVA, M. KH. DADAEV

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

Изучены иммунологические нарушения у 68 больных герпесвирусными инфекциями (41 женщина и 27 мужчин) в возрасте от 18 до 55 лет. Все больные обследованы клинически и лабораторно в период обострения и клинической ремиссии. У больных герпесвирусными инфекциями выявлено достоверное снижение относительного числа CD3+, CD4+ Т-лимфоцитов и их субпопуляций при обострении герпетической инфекции. Снижение содержания CD 3+, CD4+ Т-клеток в период обострения заболевания было сопряжено с повышением CD8+ Т-лимфоцитов. Также снижался иммунорегуляторный индекс. В стадии обострения достоверно повышалось относительное число CD19+ В-клеток. В период ремиссии количество CD19+ лимфоцитов понижалось, оставаясь выше нормы у больных с тяжёлым течением болезни. Проведённые исследования показали, что у больных герпесвирусными инфекциями наблюдаются иммунопатологические нарушения как в период рецидива, так и в период ремиссии, что необходимо учитывать при лечении этих пациентов.

*Ключевые слова:* иммунитет, герпесвирусная инфекция, иммунопатогенетические нарушения.

Immunological disorders were studied in 68 patients with herpesvirus infections (41 women and 27 men) aged 18 to 55 years. All patients were examined clinically, also laboratory tests were conducted during the period of exacerbation and clinical remission. Patients with herpesvirus infections showed a significant decrease in the relative number of CD3+, CD4+ T-lymphocytes and their subpopulations during exacerbation of herpes infection. A decrease in the content of CD 3+, CD4+ T-cells during exacerbation of the disease was associated with an increase in CD8+ T-lymphocytes. The immunoregulatory index also decreased. The relative number of CD19+ B cells significantly increased in the exacerbation stage. During the period of remission, the number of CD19+ lymphocytes decreased, remaining above the normal range in patients with severe disease. Studies have shown that patients with herpesvirus infections have immunopathological disorders both during the relapse period and during the remission period, which must be taken into account when treating these patients.

*Keywords:* immunity, herpesvirus infection, patients, immunopathogenetic disorders.

Одной из наиболее серьёзных медико-социальных проблем современности являются герпесвирусные инфекции (ГВИ), обладающие тенденцией к затяжному, нередко тяжёлому течению, что сопровождается явным снижением качества жизни и социальной дезадаптации [1–3]. Последние десятилетия характеризуются ростом инфицирования населения вирусом простого герпеса (ВПГ) во всем мире, причём заболеваемость растёт, опережая естественный прирост населения [4–8].

Согласно данным ВОЗ, в 2012 г. инфицированность населения вирусом простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) в возрастной группе до 50 лет составила в среднем 67% (около 3,7 млрд человек), а серопозитивными к ВПГ-2 были примерно 417 млн чело-

век в возрасте от 15 до 49 лет [5]. При этом особую обеспокоенность вызывает рост инфицированности до 38–60% в возрастной группе 1–4 года [6, 7].

Проявления герпетической инфекции многолики — от «безобидной губной лихорадки», афтозного стоматита до генерализованных форм с распространённым поражением кожи и слизистых оболочек с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем [1]. Герпесвирусы, как ДНК-содержащие вирусы, могут интегрироваться с генетическим аппаратом клетки хозяина и вызывать злокачественную трансформацию клеток [4, 8, 9].

Кроме того, герпесвирусы представляют серьёзную угрозу для репродуктивного здоровья населения, оказывая неблагоприятное, а порой и фатальное влияние на течение беременности и родов, патологию плода и новорождённых [10]. Патогенез герпетической инфекции является иммуноопосредованным.

© Коллектив авторов, 2020

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

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 [1, 3]. 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 [1, 2]. 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, 2, 4, 9].

Хроническое рецидивирующее течение инфекции, вызванной ВПГ 1 и 2 типа (ВПГ-1/2-инфекции) обусловлено недостаточностью различных звеньев иммунной системы и её неспособностью элиминировать вирус из организма [11–14]. Сохраняющиеся в течение всей жизни, иногда в довольно высоких титрах, антитела к ВПГ не предупреждают возникновения рецидивов. В большей степени характер течения, частоту и интенсивность рецидивов герпетической инфекции определяет состояние клеточного иммунитета, опосредованного Т- и НК-лимфоцитами [15, 16].

Цель исследования — изучение роли расстройств клеточного и гуморального иммунитета в патогенезе рецидивирующей герпесвирусной инфекции.

## Материал и методы

Под наблюдением находилось 68 больных герпесвирусной инфекцией (41 женщина и 27 мужчин) в возрасте от 18 до 55 лет. У 25 из них заболевание протекало в лёгкой форме, у 32 — в среднетяжёлой и у 11 — в тяжёлой. У больных отмечалась различная локализация герпетических высыпаний: у 26 — орофациальный герпес, у 15 — аногенитальный герпес, у 27 — сочетание обеих форм заболевания. Основными жалобами, предъявляемыми больными, были боль, зуд, жжение в области герпетических высыпаний, общее недомогание, головная боль, субфебрильная температура, слабость, понижение работоспособности. При объективном исследовании выявляли признаки герпетической инфекции; наличие пузырьков, язв, трещин, эритемы, отёчности поражённых тканей, увеличение периферических лимфатических узлов.

Диагноз устанавливался на основании клинической картины, выявления ДНК вируса ВПГ 1, 2-го типа полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в соскобе с высыпаний и обнаружению в крови специфических антител к ВПГ методом трёхфазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Все больные обследованы клинически и лабораторно в период обострения и клинической ремиссии. С начала обострения пациенты получали стандартную противовирусную терапию.

Группу контроля составили 35 практически здоровых людей — доноров Республиканской станции переливания крови.

Имунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител как описано А. В. Карауловым и др. (1999).

Определение иммуноглобулов в сыворотке крови проводили методом радиальной иммунодиффузии по методу G. Mancini и соавт. (1969).

Исследование уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови проводили, как описано P. Falk (1978).

## Результаты и обсуждение

В реализации противовирусного иммунного ответа, пожалуй, наибольшее значение имеют адаптивные клеточные реакции, опосредованные CD4+ Т-хелперами 1 типа (Th1) и CD8+ цитотоксическими Т-лимфоцитами.

Нами выявлено достоверное снижение относительного числа CD3+ Т-лимфоцитов и их субпопуляций при обострении герпетической инфекции (табл. 1). Количество CD3+ клеток было снижено до  $52 \pm 0,6\%$  при норме  $61 \pm 1,1\%$ . При

**Таблица 1.** Показатели Т-клеточного иммунитета у больных ВПГ-1/2-инфекцией в зависимости от периода заболевания

Исследуемый показатель	Период исследования	n	$X_{min}-X_{max}$	$X \pm m$	P	$P_I$
CD3+ клетки (%)	Здоровые	35	49–80	$61 \pm 1,1$	—	—
	I	68	37–65	$52 \pm 0,6$	<0,001	—
	II	61	41–74	$56 \pm 0,8$	<0,001	<0,001
	III	53	46–79	$59 \pm 1,0$	<0,05	<0,05
CD4+ клетки (%)	Здоровые	35	33–49	$38 \pm 0,5$	—	—
	I	68	22–41	$30 \pm 0,24$	<0,001	—
	II	61	27–46	$33 \pm 0,4$	<0,001	<0,001
	III	53	31–49	$35 \pm 0,4$	<0,001	<0,001
CD8+ клетки (%)	Здоровые	35	11–36	$17 \pm 1,1$	—	—
	I	68	19–48	$23 \pm 0,4$	<0,001	—
	II	61	16–43	$20 \pm 0,3$	<0,01	<0,001
	III	53	13–41	$18 \pm 0,2$	>0,05	<0,001
ИРИ (отн. ед.)	Здоровые	35	1,9–3,1	$2,1 \pm 0,03$	—	—
	I	68	1,3–2,5	$1,7 \pm 0,02$	<0,001	—
	II	61	1,5–2,8	$1,9 \pm 0,02$	<0,001	<0,001
	III	53	1,8–3,0	$2,0 \pm 0,01$	>0,05	<0,001

**Таблица 2. Показатели гуморального иммунитета у больных ВПГ-1/2-инфекцией в зависимости от периода заболевания**

Исследуемый показатель	Период исследования	n	$X_{min}-X_{max}$	$X \pm m$	P	$P_I$
CD19+ клетки (%)	Здоровые	35	13–31	28,1±0,51	—	—
	I	68	17–48	31,7±0,72	<0,001	—
	II	61	15–40	30,4±0,65	<0,01	>0,05
	III	53	12–34	28,8±0,46	>0,05	<0,05
IgA (г/л)	Здоровые	35	1,6–2,7	2,16±0,03	—	—
	I	68	1,2–2,3	1,87±0,03	<0,001	—
	II	61	1,4–2,5	2,0±0,02	<0,001	<0,001
	III	53	1,6–2,7	2,1±0,01	>0,05	>0,05
IgM (г/л)	Здоровые	35	1,1–2,3	1,6±0,04	—	—
	I	68	1,6–3,2	2,8±0,03	<0,001	—
	II	61	1,4–2,8	2,5±0,04	<0,001	<0,001
	III	53	1,2–2,7	1,9±0,02	<0,001	<0,001
IgG (г/л)	Здоровые	35	10,4–19,8	12,6±0,03	—	—
	I	68	11,1–21,5	17,2±0,02	<0,001	—
	II	61	10,8–20,8	14,9±0,02	<0,001	<0,001
	III	53	10,4–19,0	13,6±0,01	<0,01	<0,001
ЦИК (усл. ед.)	Здоровые	35	0,017–0,027	0,020±0,0005	—	—
	I	68	0,039–0,08	0,049±0,0006	<0,001	—
	II	61	0,030–0,04	0,038±0,0005	<0,001	<0,001
	III	53	0,016–0,018	0,029±0,0007	<0,001	<0,001

угасании клинических симптомов болезни исследуемый показатель повышался до  $56 \pm 0,8\%$ . В стадии ремиссии содержание CD3+ клеток увеличивалось ( $59 \pm 1,0\%$ ), однако не достигало уровня здоровых лиц. Относительное количество CD4+ клеток у больных ВПГ-1/2-инфекцией как в период обострения ( $30 \pm 0,2\%$ ), так и в период ремиссии ( $35 \pm 0,4\%$ ) было ниже контрольных значений ( $38 \pm 0,5\%$ ).

Снижение содержания CD4+ Т-клеток в период обострения заболевания было сопряжено с повышением CD8+ Т-лимфоцитов до  $23 \pm 0,4\%$  при норме  $17 \pm 1,1\%$ . CD8+ клетки, хотя и являются важнейшими эффекторами противовирусного иммунитета, не могут полноценно выполнять свои функции при количественном и/или функциональном дефиците CD4+ Th1-клеток. CD 8+ клетки являются цитотоксическими лимфоцитами и выполняют важную функцию в элиминации из организма чужеродных клеток (вирусинфицированных, опухолевых и т. д.). Возможно выявленное увеличение CD 8+ лимфоцитов в периферической крови больных герпесвирусными инфекциями отражает общую стимуляцию этой клеточной популяции и является важным звеном в патогенезе данного заболевания.

В этой связи информативным показателем состояния клеточного иммунитета является иммунорегуляторный индекс (ИРИ) — соотношение числа CD4+ клеток к количеству CD8+ лимфоцитов. На пике клинических проявлений ВПГ-1/2-инфекции ИРИ снижался до  $1,7 \pm 0,02$  отн. ед. при норме  $2,1 \pm 0,03$  отн. ед.

ИРИ не отличался от нормы во всех периодах болезни при лёгком её течении. При среднетяжёлом течении ИРИ был ниже нормы в период разгара и приходил к уровню здоровых лиц в период ремиссии. При тяжёлом течении этот показатель

был достоверно ниже нормы в период разгара болезни и не возвращался к референсным значениям в период ремиссии.

Необходимо отметить, что указанные изменения показателей Т-клеточного иммунитета во все периоды заболевания были выражены сильнее у больных с наличием сопутствующей патологии.

Дефицит клеточного иммунитета, выявленный при ВПГ-1/2-инфекции, объясняет склонность к формированию тяжёлых и часто рецидивирующих форм заболевания у обследованных больных. В свою очередь, выраженный интоксикационный синдром, который развивается у больных, индуцирует и углубляет иммунные нарушения.

Помимо дефектов клеточного иммунитета, у больных герпетической инфекцией отмечены расстройства гуморального звена иммунной системы. Так, в стадии обострения достоверно повышалось относительное число CD19+ В-клеток (табл. 2). В период ремиссии количество CD19+ лимфоцитов понижалось, оставаясь выше нормы у больных с тяжёлым течением болезни.

Одним из основных показателей функциональной активности В-клеток, как гуморального звена иммунитета, является уровень иммуноглобулинов сыворотки крови. Включаясь в цепь иммунологических реакций, иммуноглобулины играют определённую роль в патогенезе заболевания.

В сыворотке периферической крови больных ВПГ-1/2-инфекцией отмечено повышение уровня IgM и IgG в период обострения, что отражает поликлональную активацию В-системы иммунитета при данном заболевании (см. табл. 2). При этом на пике клинических проявлений выявлено снижение уровня IgA, наиболее выраженное в период обострения у больных с тяжёлым течением герпетической инфекции, что указыва-

ет на снижение противовирусных гуморальных реакций. В период ремиссии дисиммуноглобулинемия сохранялась.

Уровень ЦИК был достоверно повышен в период разгара заболевания у большинства обследованных больных (см. табл. 2). Максимальные цифры наблюдались при тяжёлом течении заболевания. В фазу ремиссии исследуемый показатель заметно снижался, но оставался выше, чем у здоровых, у части больных со среднетяжёлым и тяжёлым течением заболевания. Дисбаланс гумо-

рального звена иммунитета, сопровождающийся высокой концентрацией ЦИК, можно оценить, как напряжённый тип реагирования с возможностью в последующем истощения адекватной реакции организма.

Таким образом, проведённые исследования показали, что у больных герпесвирусными инфекциями наблюдаются иммунопатологические нарушения как в период рецидива, так и в период ремиссии, что необходимо учитывать при лечении этих пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В.* Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей. СПб.: 2013. / *Isakov V.A., Arkhipova E.I., Isakov D.V.* Gerpsevirusnyye infektsii cheloveka: rukovodstvo dlya vrachej. SPb.: 2013. [in Russian]
2. *Нагоев Б.С., Камбачокова З.А.* Цитокиновый статус у больных герпесвирусными инфекциями. Инфекционные болезни. — 2011. — Т. 11. — № 1. — С. 19–23. / *Nagoev B.S., Kambachokova Z.A.* Tsitokinovyy status u bol'nykh gerpsevirusnymi infektsiyami. *Infektsionnye bolezni.* 2011; 11(1): 19–23. [in Russian]
3. *Schiffer J.T., Abu-Raddad L., Mark K.E. et al.* Frequent Release of Low Amounts of Herpes Simplex Virus From Neurons: Results of a Mathematical Model. *Sci Transl Med* 2009 Nov 18; 1(7): 178–184.
4. *Хрянин А.А.* Герпес под подушкой. Распространённость вируса простого герпеса в российской популяции: многолетний мониторинг. *Status Praesens.* — 2013. — № 6 (17). — С. 69–76. / *Khryanin A.A.* Gerpes pod podushkoj. Rasprostranennost' virusa prostogo gerpesa v Rossijskoj populyatsii: mnogoletnij monitoring. *Status Praesens* 2013; 6 (17): 69–76.
5. *Андропова В.Л.* Современная этиотропная химиотерапия герпесвирусных инфекций: достижения, новые тенденции и перспективы. Альфа-герпесвирусы (часть 1). Вопросы вирусологии. — 2018. — № 63 (3). — С. 106–114. / *Andropova V.L.* Sovremennaya etiotropnaya khimioterapiya gerpsevirusnykh infektsij: dostizheniya, novye tendentsii i perspektivy. *Al'fagerpsevirusy (chast' 1). Voprosy Virusologii* 2018; 63 (3): 106–114.
6. *De Donno A., Kuhdari P., Guido M., Rota M.C., Bella A., Brignole G. et al.* Has VZV epidemiology changed in Italy? Results of a seroprevalence study. *Hum Vaccin Immunother* 2017; 13 (2): 385–390.
7. *Perez-Farinós N., García-Comas L., Ramirez-Fernandez R., Sanz J.C., Barranco D., García-Fernández C. et al.* Seroprevalence of antibodies to varicella-zoster virus in Madrid (Spain) in the absence of vaccination. *Cent Eur J Public Health* 2008; 16 (1): 41–44.
8. *Половцева Т.В., Каражас Н.В., Калугина М.Ю., Мамедова Е.А., Финогенова Н.А., Лаврентьева И.Н.* Диагностика герпесвирусной инфекции у детей раннего возраста. Детские инфекции. — 2012. — № 11 (2). — С. 51–53. / *Polovtseva T.V., Karazhas N.V., Kalugina M.Yu., Mamedova E.A., Finogenova N.A., Lavrent'eva I.N.* Diagnosis of herpes virus infection in young children. *Detskie infektsii* 2012; 11 (2): 51–53. [in Russian]
9. *Сижжажеева А.М., Сижжажеева А.Л.* Лабораторная диагностика герпесвирусной инфекции методом ПЦР. Инновационная наука. —

2015. — № 12 (2): 286–289. / *Sizhazheva A.M., Sizhazheva A.L.* Laboratory diagnosis of herpes virus infection by PCR. *Innovatsionnaya Nauka* 2015; 12 (2): 286–289. [in Russian]
10. *Кравченко Л.В.* Клинико-патогенетические аспекты герпесвирусных инфекций у детей первых месяцев жизни: Дис. ... д-ра мед. наук. Ростов-на-Дону. 2009.
11. *Камбачокова З.А.* Показатели клеточного и гуморального иммунитета у больных герпесвирусными инфекциями. Вестник Башкортостана. 2012. — № 3. — С. 112–117. / *Kambachokova Z.A.* Pokazateli kletochnogo i gumoral'nogo immuniteta u bol'nykh gerpsevirusnymi infektsiyami. *Vestnik Bashkortostana* 2012; 3: 112–117. [in Russian]
12. *Исаков В.А., Исаков Д.В.* Иммуномодуляторы в терапии и профилактике герпесвирусных инфекций. Клиническая медицина. — 2015. — № 93 (4). — С. 16–24. / *Isakov V.A., Isakov D.V.* Immunomodulyatory v terapii i profilaktike gerpsevirusnykh infektsij. *Klinicheskaya Meditsina* 2015; 93 (4): 16–24. [in Russian]
13. *Исаков В.А., Исаков Д.В.* Патогенез и терапия социально-значимых вирусных инфекций. Клиническая фармакология и терапия. — 2014. — № 23 (1). — С. 7–13. / *Isakov V.A., Isakov D.V.* Patogenez i terapiya sotsial'no-znachimyykh virusnykh infektsij. *Klinicheskaya Farmakologiya i Terapiya* 2014; 23 (1): 7–13. [in Russian]
14. *Шульженко А.Е., Зуйкова Н.И., Шубелько Р.В.* Рецидивирующая герпесвирусная инфекция: возможности иммунотропной терапии. Медицинское обозрение. Наука и практика. — 2015. — № 3 (3). — С. 43–51. / *Shul'zhenko A.E., Zujkova N.I., Shchubel'ko R.V.* Rettsidiviruyushchaya gerpsevirusnaya infektsiya: vozmozhnosti immunotropnoy terapii. *Meditsinskoe obozrenie. Nauka i Praktika.* 2015; 3 (3): 43–51. [in Russian]
15. *Виколов Г.Х.* Иммунологические аспекты герпесвирусных инфекций. Клиническая дерматология и венерология. — 2015. — № 14 (5). — С. 104–116. / *Vikulov G.Kh.* Immunologicheskie aspekty gerpsevirusnykh infektsij. *Klinicheskaya Dermatologiya i Venerologiya* 2015; 14 (5): 104–116. [in Russian]
16. *Нагоев Б.С., Камбачокова З.А.* Показатели клеточного иммунитета у больных герпесвирусными инфекциями. Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — № 17 (3). — С. 325–327. / *Nagoev B.S., Kambachokova Z.A.* Pokazateli kletochnogo immuniteta u bol'nykh gerpsevirusnymi infektsiyami. *Vestnik Novyykh Meditsinskikh Tekhnologij.* 2011; 17 (3): 325–327. [in Russian]

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Камбачокова Зарета Анатольевна* — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Хамурзова Милана Абузельевна* — студентка 6 курса Медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Арамисова Рина Мухамедовна* — д. м. н. профессор кафедры госпитальной терапии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик

*Тиммеева Лейла Магомедовна* — к. м. н. доцент кафедры неврологии, психиатрии и наркологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Шогенова Жаннага Лионовна* — ассистент Института стоматологии и ЧЛХ ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Шокуева Асият Гисаевна* — старший лаборант кафедры нормальной и патологической физиологии человека ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Кипкеева Татьяна Борисовна* — старший лаборант кафедры нормальной и патологической физиологии человека ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

*Дадаев Муслим Хаважиевич* — аспирант кафедры охраны здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВО «Кабардино-государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик

# Эффективность сукцинатсодержащего препарата в терапии сопровождения при лечении коморбидного туберкулёза в условиях пенитенциарного учреждения

В. М. КОЛОМИЕЦ<sup>1</sup>, А. Л. КОВАЛЕНКО<sup>2</sup>, Е. П. ПАВЛЕНКО<sup>1</sup>, \*Е. В. ТАЛИКОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт токсикологии ФМБА», Санкт-Петербург

<sup>3</sup> ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург

## The Effectiveness of a Succinate-Containing Medication in Accompanying Therapy of Comorbid Tuberculosis in a Penitentiary Institution

V. M. KOLOMIETS<sup>1</sup>, A. L. KOVALENKO<sup>2</sup>, E. P. PAVLENKO<sup>1</sup>, \*E. V. TALIKOVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kursk State Medical University, Kursk

<sup>2</sup> Institute of Toxicology of Federal Medico-Biological Agency, Saint-Petersburg

<sup>3</sup> Saint-Petersburg Medico-Social Institute, Saint-Petersburg

**Цель исследования** — анализ особенностей организации терапии пациентов с ВИЧ-ассоциированным туберкулёзом (ТБ/ВИЧ) и эффективность фармакотерапевтических подходов в условиях пенитенциарных учреждений. **Материал и методы.** Проанализированы данные заболеваемости и эффективности оказания специализированной медицинской помощи больным ТБ/ВИЧ за десятилетний период в контингентах пенитенциарных учреждений одного из субъектов ЦФО РФ. Терапия и обследование пациентов с ТБ/ВИЧ проводилась согласно нормативным документам и с использованием общепринятых методов диагностики. **Результаты.** Анализ показал, что в пенитенциарном секторе здравоохранения, несмотря на стабилизацию эпидемической обстановки по ТБ, возрастают эпидемиологические показатели по коморбидному ТБ/ВИЧ, что обусловлено увеличением числа ВИЧ-инфицированных. С целью интенсификации терапии пациентов с ТБ/ВИЧ в контингентах пенитенциарной системы показано уделять приоритетное значение в проведении социальной и санитарной профилактики, прежде всего в группах риска — ВИЧ-инфицированных и носителей остаточных изменений в лёгких. Включение в схемы терапии пациентов с ТБ/ВИЧ препарата Ремаксол способствует быстрому купированию гепатотоксических реакций и как следствие — повышает эффективность основной терапии, что проиллюстрировано клиническим наблюдением.

**Ключевые слова:** заболеваемость, туберкулёз/ВИЧ, противотуберкулёзная терапия, гепатопротекторы, ремаксол.

**The aim of the study** was to analyze the features of the organization of therapy for patients with HIV-associated tuberculosis (TB/HIV) and the effectiveness of pharmacotherapeutic approaches under the conditions of penitentiary institutions. **Materials and methods:** the data on the incidence and effectiveness of specialized medical care for TB/HIV patients were analyzed for a ten-year period in the population of penitentiary institutions of the Federal Penitentiary Service of one of the subjects of the Central Federal District of the Russian Federation. Therapy and examination of patients with TB/HIV was carried out in accordance with regulatory documents and using generally accepted diagnostic methods. The patients consulted the staff of the departments of the FSBEI HE KSMU to verify the diagnosis and correct treatment regimens. **Results:** the analysis showed that, despite the stabilization of the TB epidemic situation, the epidemiological indicators for comorbid TB/HIV are increasing in the penitentiary health sector, which is due to an increase in the number of HIV-infected patients. In order to intensify the treatment of patients with TB/HIV in the population of the penitentiary system, it is necessary to give priority to social and sanitary prevention, primarily in risk groups — HIV-infected and individuals with residual lung changes. The inclusion of Remaxol in the therapy regimens for TB/HIV patients promotes rapid relief of hepatotoxic reactions and, as a consequence, increases the effectiveness of the primary therapy, which is illustrated by clinical observation.

**Keywords:** morbidity, tuberculosis/HIV, anti-tuberculosis therapy, hepatoprotectors, remaxol.

## Введение

В результате реализации проводимых государственных программ по предупреждению распространения туберкулёза отмечается улучшение

эпидемической ситуации, имеющее однако неустойчивый характер. Это связано, во многом, с ростом ВИЧ-инфекции и высокой заболеваемостью туберкулёзом лиц из групп риска населения — инфицированных ВИЧ как в гражданских, так и в учреждениях федеральной службы исполнения наказания (ФСИН) [1–3].

Патоморфоз современного туберкулёза имеет ряд особенностей, таких как изменения в клини-

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: Кондратьевский пр., д. 72, литер. А, ЧОУ ВО СПбМСИ, Санкт-Петербург, 195271.

E-mail: e.talikova@mail.ru

ческом течении инфекции: увеличение доли прогрессирующих тяжёлых (казеозной пневмонии, генерализованного и диссеминированного туберкулёза) и внелёгочных форм (туберкулёзного менингоэнцефалита, поражения кишечника и др.). Кроме того, многочисленными лабораторными исследованиями подтверждены качественные изменения возбудителя: увеличение выявления *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), широкой (ШЛУ) и сверхустойчивостью [4].

При этом отмечено, что среди пациентов с впервые выявленным коморбидным ВИЧ-ассоциированным туберкулёзом (ТБ/ВИЧ) больше случаев с первичной МЛУ и меньше — с сохранённой лекарственной чувствительностью возбудителя, что сказывается на результатах терапии: сочетание ТБ/ВИЧ снижает частоту успешного лечения в 1,5 раза — для новых случаев и случаев рецидива, и в 1,9 раза — для больных с устойчивостью возбудителя, как минимум, к рифампицину [5].

Эти изменения диктуют необходимость коррекции лечения: расширения спектра и включения в схемы новых препаратов этиотропной терапии — одновременным назначением от 4 до 9 препаратов с длительностью курсов 6–24 мес. При этом необходимо учитывать, что противотуберкулёзные препараты (ПТП) не обладают абсолютной избирательностью действия и могут влиять на разные органы и системы организма, вызывая нежелательные побочные эффекты и неблагоприятные побочные реакции. Отмечено, что ПТП в комплексе с антиретровирусной терапией (АРВТ) у больных с ТБ/ВИЧ-инфекцией приводит, с одной стороны, к снижению смертности, а с другой — к нарастанию доли больных с хроническими формами туберкулёза, которые становятся эпидемиологическим ядром, поддерживающим заболеваемость в популяции [5].

Гепатотоксические реакции, обусловленные приёмом ПТП, описаны многими авторами [6–11]. Так как печень является одним из основных органов детоксикации, это предопределяет возможность её поражения, связанную с метаболизмом лекарственных препаратов. Введение в схемы терапии новых препаратов, наряду с повышением эффективности, увеличивают список гепатотоксических реакций. Рифампицин, изониазид, пиперазид, фторхинолоны, бедаквиллин и др. обладают потенциальным гепатотоксическим действием. Кроме того, необходимо учитывать тот факт, что в настоящее время туберкулёз у ВИЧ-инфицированных больных протекает на фоне хронического поражения печени разной этиологии (вирусной, токсической, алкогольной). При этом туберкулёзное поражение печени у пациентов этой группы встречается значительно чаще, чем у больных без ВИЧ-инфекции, что

может быть связано с преобладанием гематогенных форм туберкулёза в условиях выраженной иммуносупрессии.

Комбинированная фармакотерапия ТБ/ВИЧ инфекции часто сопровождается развитием гепатотоксических реакций, затрудняющих соблюдение режимов применения этиотропных препаратов, что предопределяет целесообразность включения гепатопротекторов в схемы комплексной терапии этих пациентов [12]. К числу препаратов этой группы, успешно применяемых во фтизиатрии, относится препарат ремаксол (ООО «НТФФ» ПОЛИСАН», Россия), активными компонентами которого являются янтарная кислота, меглюмин, инозин, метионин и никотинамид.

Янтарная кислота, входящая в состав препарата, интенсифицирует клеточное дыхание, способствуя утилизации кислорода тканями, повышает устойчивость мембран гепатоцитов к перекисному окислению. Метионин, являясь незаменимой аминокислотой, участвует в регуляции жирового и белкового обмена, препятствуя жировому перерождению гепатоцитов и обеспечивает липотропный эффект. Таким образом, препарат способствует улучшению связывания непрямого фракции билирубина с глюкуроновой кислотой в гепатоците и экскрецию прямого билирубина в желчь, ускоряя переход анаэробных процессов в аэробные, улучшая энергетическое обеспечение гепатоцитов, стимулируя синтез макроэргов, прежде всего АТФ.

Установлено, что десятидневный курс ремаксол в начале стандартного лечения инфильтративного туберкулёза лёгких способствует нормализации лабораторных показателей состояния печени, а также ускоренному регрессу деструкции в туберкулёзных инфильтратах с последующим сокращением потребности во фтизиохирургической помощи. Назначение препарата показано в случаях повышения активности печёночных ферментов, развитии печёночной недостаточности и при отсутствии противовирусной терапии хронического гепатита [13, 14]. Не исключено, что включение ремаксол в рекомендуемые режимы этиотропной терапии может оказывать и иммунокорректирующее действие. Однако в настоящее время мало данных по эффективности включения ремаксол в схемы терапии пациентов с ТБ/ВИЧ-инфекции.

Цель исследования: анализ особенностей организации терапии пациентов с ТБ/ВИЧ и эффективности фармакотерапевтических подходов в условиях пенитенциарных учреждений.

## Материал и методы

Проанализированы данные заболеваемости и эффективности оказания специализированной медицинской помощи больным ТБ/ВИЧ за десятилетний период в контингентах пенитенциарных учреждений (КПУ) УФСИН одного из субъектов ЦФО РФ.

Основой анализа стали формы ФГСН: № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией», № 33 «Сведения о больных туберкулёзом», № 8 «Сведения о больных активным туберкулёзом», формы Федеральной Службы Исполнения Наказаний (ФСИН) Туб-4 «Отчёт о больных туберкулёзом» и ФСИН-6 «Сведения о социально значимых заболеваниях у лиц, содержащихся в учреждениях уголовно-исполнительной системы» за период реализации государственных программ по предупреждению распространения туберкулёза.

Терапия проводилась согласно методическим рекомендациям по совершенствованию диагностики и лечения туберкулёза органов дыхания, утверждённых приказом Минздрава России от 29.12.2014 № 951, с использованием общепринятых методов диагностики. Для верификации диагноза и коррекции режимов лечения больные консультировались сотрудниками кафедр ФГБОУ ВО КГМУ.

## Результаты и обсуждения

Отмечено нестабильное снижение заболеваемости туберкулёзом органов дыхания (рис. 1), но она в 15,7 раза превышает таковую среди всего населения региона. Кроме того, отмечен рост численности ВИЧ-инфицированных и заболеваемости ВИЧ-инфекцией. Течение ТБ/ВИЧ-инфекции в отличие от моноинфекции, характеризуется более тяжёлым течением — более выраженными признаками инфекционно-токсического и астено-вегетативного синдромов.

Помимо прочего, течение коинфекции ТБ/ВИЧ в исправительных учреждениях ФСИН усложняется комплексом пенитенциарных факторов: стрессом, условиями содержания и преморбидным фоном. Осуждённые с ТБ/ВИЧ-инфекцией имеют одну и ту же социально-демографическую характеристику, что и заключённые с ВИЧ-инфекцией без ТБ.

В условиях КПУ на первый план выходят мероприятия по повышению приверженности больных лечению, для чего необходимо усиливать психологическое сопровождение пациента на всём протяжении терапии и особенно — во время основного курса лечения. Психо-функциональное состояние пациента с ТБ/ВИЧ зависит от многих факторов, в частности, пребывание в состоянии агрессии, раздражения и связанной с этим надеждой на будущее, что усиливается сочетанием с другими, «традиционными» факторами риска (бытовые условия, степень контакта, качество питания, трудозанятость). Это должно учитываться при планировании противоэпидемических мероприятий.

Среди основных причин улучшения эпидемиологической обстановки по ТБ/ВИЧ можно выделить, с одной стороны, улучшение санитарно-бытовых условий содержания КПУ, снижение численности контингента и повышение их занятости, улучшение медицинской помощи и качества воспитательно-психологических мероприятий. Так, количество дисциплинарных взысканий в КПУ за последние три года снизилось на 18%, при работе администрацией используются рекомендации психологов. Важнейшим предиктивным фактором стало улучшение санитарно-бытовых условий содержания КПУ: так, площадь бытовых помещений (в расчёте на одного человека) за последние пять лет увеличилась на 28%.

С другой стороны, повышается эффективность этиотропной терапии, как минимум, до прекращения или снижения массивности бактериовыделения. Для этого в последние годы ликвидирован дефицит антибактериальных препаратов как основной, так и резервной групп, за исключением рекомендованных для интенсификации терапии при широкой лекарственной устойчивости возбудителя.

Кроме того, всё больше внимания уделяется лечению развивающихся на фоне этиотропной (ПТП и АРВТ) терапии осложнений — введение в схемы препаратов, обладающих гепатопротекторным действием.

В качестве иллюстрации приводим **клинический случай**.

Больной О., 33 года, Диагноз: Диссеминиро-

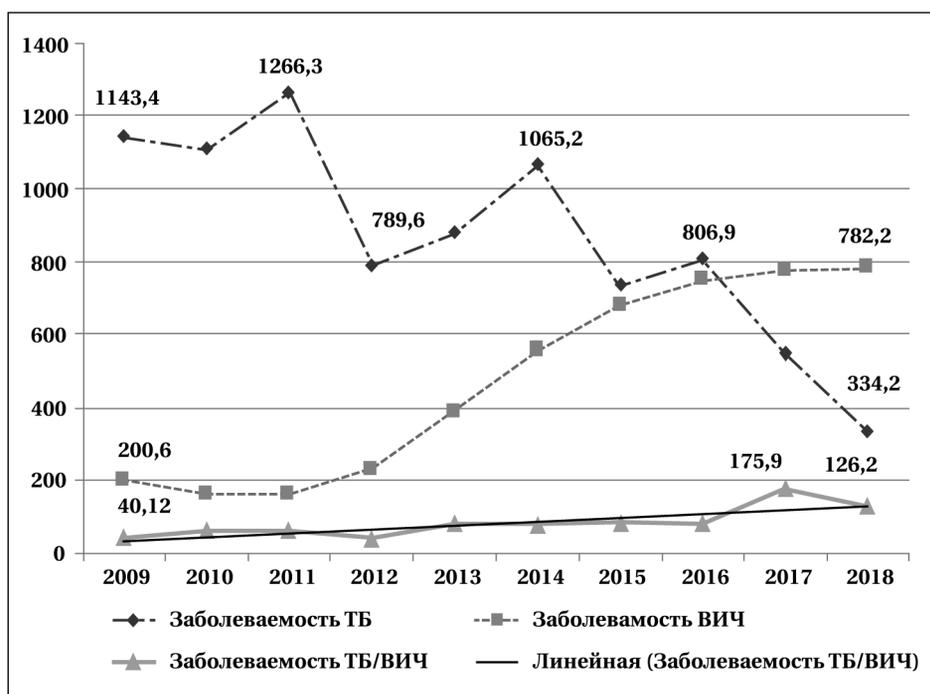
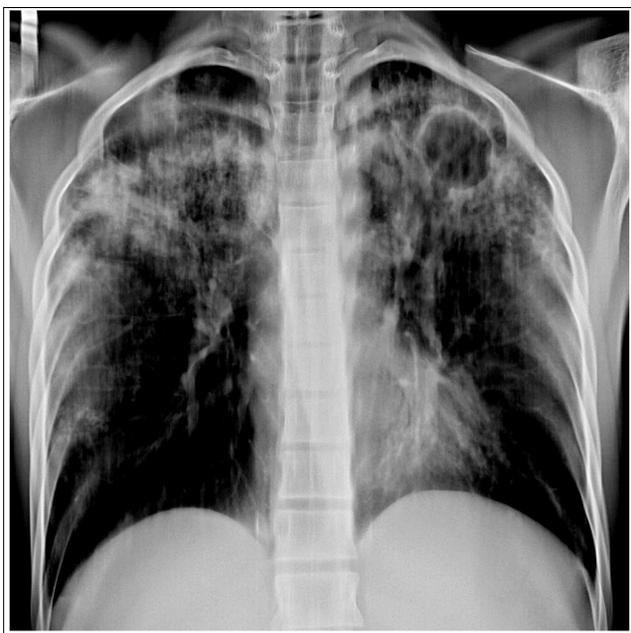
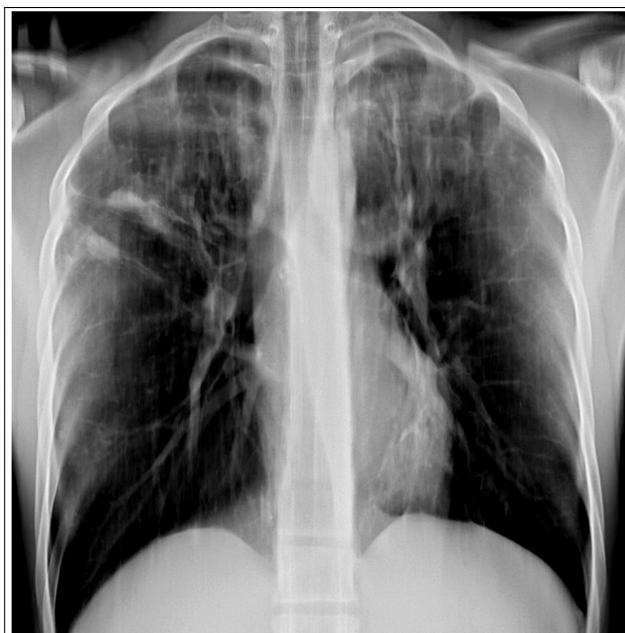


Рис. 1. Эпидемиологическая ситуация в КПУ УФСИН по ТБ/ВИЧ.



**Рис. 2. Томограмма лёгких при поступлении.**

В проекции преимущественно верхней доли справа очагово-инфильтративные изменения с размытыми контурами и деструкцией. Слева — полостное образование и полиморфные очаговые тени.



**Рис. 3. Томограмма лёгких (после окончания основного курса лечения).**

В проекциях верхних долей обоих лёгких на фоне плевральных наслоений, выраженного пневмофиброза — плотные очаговые тени как в одиночном, так в групповом расположении. Выраженная «дорожка» к правому корню.

ванный туберкулёз лёгких, фаза распада МБТ(+), устойчивость к стрептомицину. ВИЧ-инфекция 4 Б стадия, Хронический вирусный гепатит «С». Цитомегаловирусная инфекция. ВИЧ-инфицированный в течение последних 1,5 лет.

Изменения в лёгких выявлены при заключении под стражу в СИЗО 6 мес. назад (рис. 2)

Исходный уровень иммунного статуса перед началом интенсивной фазы основного курса лечения (ИФ ОКЛ): CD4 —  $0,496 \times 10^9$ /л, CD8 —  $1,025 \times 10^9$ /л, CD4/CD8 — 0,48. ВИЧ нагрузка — менее 250 копий РНК ВИЧ в 1 мл плазмы крови.

Было начато контролируемое лечение по схеме: режим 1 (рифампицин, изониазид, пиразинамид, этамбутол в стандартных дозах). На 10-й день основного курса лечения у больного появились зуд кожи, умеренная иктеричность кожи, слизистых рта и склер, отмечалась тяжесть и боли в правом подреберье что было расценено как осложнения (побочная реакция) проводимой антибактериальной терапии.

В анализе крови: глюкоза крови — 2,94 ммоль/л; билирубин — 17,4 мкмоль/л, АСТ — 12,89 Ед/л, АЛТ — 14,92 Ед/л. Отмечено повышение общего холестерина до 8,3 ммоль/л, общий белок — 70,7 г/л, тимоловая проба — 6 ед.

Временная отмена препаратов изониазида и рифампицина в течение 5 дней не дала выраженного улучшения состояния, в связи с чем на фоне продолжения этиотропной терапии 4 препаратами

проведён курс Ремаксол: в/в капельно 400,0 мл, через день, №5, затем в течение одного месяца — один раз в неделю по 400,0 в/в, №4.

В результате проведённой терапии отмечено улучшение состояния: уменьшение кожного зуда и иктеричности склер, купировались боли в животе.

Через 2,5 мес. после окончания ИФ ОКЛ отмечено абациллирование мокроты и нормализация данных лабораторных исследований. ВИЧ нагрузка — 380 копий РНК ВИЧ в 1 мл плазмы крови. После окончания фазы поддерживающей терапии 3 ПТП, в течение 6 мес., диагностировано и закрытие полостей распада (рис. 3).

Получение такого быстрого положительного результата терапии коморбидного распространённого деструктивного туберкулёза при наличии сопутствующих заболеваний и осложнений даже в условиях общего здравоохранения наблюдается редко. Включение в схему терапии пациента с коинфекцией (ТБ/ВИЧ) гепатопротекторов позволила не только купировать развитие острой токсической реакции на ПТП, но и позволило в дальнейшем закончить этиотропную терапию. Это в свою очередь оказало положительное влияние на сроки санации (абациллирование) и купирование клинических проявлений у пациента.

Приведённый пример позволяет рекомендовать более активно включать в схемы терапии пенитенциарного ТБ/ВИЧ препараты терапии сопровождения, в частности — Ремаксол.

## Выводы

Анализ результатов наблюдения показал, что в пенитенциарном секторе здравоохранения, несмотря на стабилизацию эпидемиологической обстановки по ТБ, возрастают эпидемиологические показатели по коморбидному ТБ/ВИЧ, что обусловлено увеличением числа ВИЧ-инфицированных.

С целью интенсификации терапии пациентов с ТБ/ВИЧ в контингентах пенитенциарной сис-

темы показано уделять приоритетное значение в проведении социальной и санитарной профилактики, прежде всего в группах риска — ВИЧ-инфицированных и носителей остаточных изменений в лёгких.

Включение в схемы терапии пациентов с ТБ/ВИЧ препарата Ремаксол способствует быстрому купированию гепатотоксических реакций и как следствие — повышает эффективность основной терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И. А., Стерликов С. А., Белюшков Е. М., Борисов С. Е., Пономарёв С. Б. Туберкулёз в учреждениях уголовно-исполнительной системы в странах Европы и в Российской Федерации. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2018. — Т. 96 (5). — С. 6–13. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-5-6-13 / Vasil'eva I. A., Sterlikov S. A., Belilovskij E. M., Borisov S. E., Ponomarev S. B. Tuberkulez v uchrezhdeniyakh ugovolno-ispolnitel'noj sistemy v stranakh Evropy i v Rossijskoj Federatsii. Tuberkulez i Bolezni Legkikh 2018; 96 (5): 6–13. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-5-6-13 [in Russian]
2. Раувильоне М., Коробитин А. А. Ликвидация туберкулёза — новая стратегия ВОЗ в эру устойчивого развития, вклад Российской Федерации. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2016. — № 11. — С. 8–15. / Ravil'one M., Korobitsin A. A. Likvidatsiya tuberkuleza — novaya strategiya VOZ v eru ustojchivogo razvitiya, vklad Rossijskoj Federatsii. Tuberkulez i Bolezni Legkikh 2016; 11: 8–15.
3. ТБ/ВИЧ в Российской Федерации. Эпидемиология, особенности клинических проявлений и результаты лечения. Под ред. С.А. Стерликова. М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2018. — 67 с. / ТВ/ВИЧ в Rossijskoj Federatsii. Epidemiologiya, osobennosti klinicheskikh proyavlenij i rezul'taty lecheniya. Pod red. S.A. Sterlikova. M.: RIO TsNIIOIZ, 2018; 67. [in Russian]
4. Коломиец В.М. Пенитенциарный туберкулёз: патоморфоз и эффективность реабилитации. Курс: ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, 2014. — 248 с. / Kolomiets V.M. Penitentsiarnyj tuberkulez: patomorfoz i effektivnost' reabilitatsii. Kurs: FGBOU VO KGMU Minzdrava Rossii, 2014; 248. [in Russian]
5. Загдын З.М. ВИЧ/туберкулёз в местах лишения свободы на Северо-Западе России. Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. — 2019. — № 1. — С. 123–143 DOI: 10.24411/2312-2935-2019-10008 / Zagdyn Z.M. VICH/tuberkulez v mestakh lisheniya svobody na Severo-Zapade Rossii. Sovremennye Problemy Zdravookhraneniya i Meditsinskoj Statistiki 2019; 1: 123–143. DOI: 10.24411/2312-2935-2019-10008 [in Russian]
6. Коломиец В.М., Медведева Н.Н. Клинико-психологические особенности у больных различными формами туберкулёза лёгких. Туберкулёз и социально значимые заболевания. — 2019. — № 1. — С. 79–80. / Kolomiets V.M., Medvedeva N.N. Kliniko-psikhologicheskie osobennosti u bol'nykh razlichnymi formami tuberkuleza legkikh. Tuberkulez i Sotsial'no Znachimye Zabolevaniya 2019; 1: 79–80. [in Russian]
7. Баласанянц Г.С. Гепатотоксические реакции и гепатопротективная терапия во фтизиатрии. Туберкулёз и болезни лёгких. — 2015. — № 8. — С. 48–50. / Balasanyants G.S. Gepatotoksicheskie reaksii i gepatoprotektivnaya terapiya vo ftiziatrii. Tuberkulez i Bolezni Legkikh 2015; 8: 48–50. [in Russian]
8. Павлова М.В., Ершова Е.С., Чернохаева И.В., Сапожникова Н.В., Арчакова Л.И. Нежелательные реакции при лечении туберкулёза органов дыхания препаратами нового поколения. Медицинский аль-

- янс. — 2018. — № 2. — С. 23–27. / Pavlova M.V., Ershova E.S., Chernokhaeva I.V., Sapozhnikova N.V., Archakova L.I. Nezhelatel'nye reaksii pri lechenii tuberkuleza organov dykhaniya preparatami novogo pokoleniya. Meditsinskij Al'yans 2018; 2: 23–27. [in Russian]
9. 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. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29 / Ivanova D. A., Borisov S. E. Spekr i faktory riska nezhelatel'nykh pobochnykh reaksij pri lechenii vperve vyavlyennykh bol'nykh tuberkulezom. Tuberkulez i Bolezni Legkikh 2017; 95 (6): 22–29. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29 [in Russian]
10. Волф С.Б. Нежелательные побочные реакции на химиотерапию туберкулёза. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2016. — № 3. — С. 140–146. / Volf S.B. Nezhelatel'nye pobochnye reaksii na khimioterapiyu tuberkuleza. Zhurnal Grodnenskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta 2016; 3: 140–146. [in Russian]
11. Матиевская Н.В., Прокопчик Н.И., Цыркунов В.М. Патоморфологические особенности поражения печени при коинфекции Туберкулёз/ВИЧ. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2012. — № 1. — С. 66–69. / Matievskaya N.V., Prokopchik N.I., Tsykunov V.M. Patomorfologicheskie osobennosti porazheniya pecheni pri koinfeksii Tuberkulez/VICH. Zhurnal Grodnenskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta 2012; 1: 66–69. [in Russian]
12. Иванов А.К. Корецкая Н.М., Элярт В.Ф. Гепатопротекторная терапия у больных туберкулёзом в пенитенциарном учреждении. Медицинский альянс. — 2015. — № 1. — С. 98–101. / Ivanov A.K. Koretskaya N.M., Elyart V.F. Gepatoprotektivnaya terapiya u bol'nykh tuberkulezom v penitentsiarnom uchrezhdenii. Meditsinskij Al'yans 2015; 1: 98–101. [in Russian]
13. Ушкарева Э.В. Клинико-экономическая эффективность использования ремаксол в лечении инфильтративного туберкулёза лёгких. Вестник уральской медицинской академической науки. — 2016. — № 4. — С. 61–64. doi: 10.22138/2500-0918-2016-14-4-61-64 / Ushkareva E.V. Kliniko-ekonomicheskaya effektivnost' ispol'zovaniya remaksola v lechenii infil'trativnogo tuberkuleza legkikh. Vestnik Ural'skoj Meditsinskoj Akademicheskoy Nauki 2016; 4: 61–64. doi: 10.22138/2500-0918-2016-14-4-61-64 [in Russian]
14. Сундуков А.В., Мельников Л. В., Аликеева Г. К., Вдовина Е. Т., Сафуллина Н. Х. Гепатопротективная терапия при диффузных поражениях печени у ВИЧ-инфицированных больных. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2018. — № 5 (153). — С. 112–116. / Sundukov A.V., Mel'nikov L. V., Alikeeva G. K., Vdovina E. T., Safullina N. Kh. Gepatoprotektivnaya terapiya pri diffuznykh porazheniyakh pecheni u VICH-infitsirovannykh bol'nykh. Eksperimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2018; 5 (153): 112–116. [in Russian]

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Коломиец Владислав Михайлович — д. м. н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск

Коваленко Алексей Леонидович — д. б. н., к. х. н., дважды лауреат Государственной премии в области науки и техники, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Павленко Елизавета Петровна — ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Курск

Таликова Екатерина Владимировна — к. м. н., доцент кафедры морфологии, патологии и судебной медицины, Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт» (ЧОУ ВО СПбМСИ), Санкт-Петербург

# Септическая тромбоэмболия лёгочной артерии у пациентки с генерализованным сальмонеллёзом: клинический случай и метаанализ

А. Д. СТРУТЫНСКАЯ<sup>1</sup>, \*М. А. КАРНАУШКИНА<sup>2</sup>, И. Е. ТЮРИН<sup>3</sup>, М. П. СУВОРОВА<sup>2</sup>, С. В. ЯКОВЛЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

<sup>3</sup> Российская Медицинская Академия непрерывного профессионального образования, Москва

## Septic Pulmonary Embolism in a Patient with Generalized Salmonellosis: a Clinical Case and Meta-Analysis

A. D. STRUTYNSKAYA<sup>1</sup>, \*M. A. KARNAUSHKINA<sup>2</sup>, I. E. TYURIN<sup>3</sup>, M. P. SUVOROVA<sup>2</sup>, S. V. YAKOVLEV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Center for Children's Health, Moscow

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

<sup>3</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

Нетифоидные сальмонеллы представляют собой грамотрицательные бактерии, индуцирующие процесс Th1-опосредованного иммунитета. Они редко приводят к развитию септикопиемической формы инфекции, которая преимущественно встречается среди иммунокомпрометированных пациентов с дефектами одного из звеньев клеточно-индуцированного воспаления. Септическая тромбоэмболия лёгочной артерии (ТЭЛА) также является достаточно редким осложнением, при котором эмболы содержат микроорганизмы из первичных внелёгочных очагов. Представленный клинический случай пациентки с ТЭЛА и сальмонеллёзным сепсисом иллюстрирует редкое течение нетифоидного генерализованного сальмонеллёза, обусловленное наличием генетических полиморфизмов Asp299Gly и Thr399Ile в гене TLR4. Данное нарушение функции клеточно-опосредованного иммунитета обусловило развитие деструктивных изменений в лёгочной ткани, повышенное тромбообразование и генерализацию инфекционного процесса.

**Ключевые слова:** сальмонеллез, тромбоэмболия лёгочной артерии, сепсис, полиморфизм, ген, TLR4, иммунитет, клиническая картина.

Nontyphoid Salmonella are gram-negative bacteria that induce Th1-mediated immunity. They rarely lead to a generalized infection, primarily developing in immunocompromised patients with cellular immunity defects. Septic pulmonary embolism is also a rare condition in which emboli contain microorganisms from extrapulmonary infective foci. The article presents a rare clinical case of a patient with pulmonary embolism and generalized nontyphoid salmonellosis due to the presence of Asp299Gly and Thr399Ile genetic polymorphisms in the TLR4 gene. Such a defect of cell-mediated immunity was a trigger for destructive changes in the lung parenchyma, prothrombotic state, and generalization of the infectious process.

**Keywords:** salmonellosis, pulmonary embolism, sepsis, polymorphism, gene, TLR4, immunity, clinical picture.

## Введение

Сальмонеллы, тифоидные и нетифоидные виды, представляют собой грамотрицательные бактерии, которые при инвазии в эпителиальные клетки индуцируют процесс Th1-опосредованного иммунитета, регулирующийся посредством ряда рецепторных комплексов и цитокинов.

Нетифоидные сальмонеллы редко вызывают генерализованные (тифоподобную и септикопиемическую) формы инфекций. В основном инфицирование нетифоидными сальмонеллами протекает в локальной форме, наиболее частой из которых является гастроэнтерит [1–4].

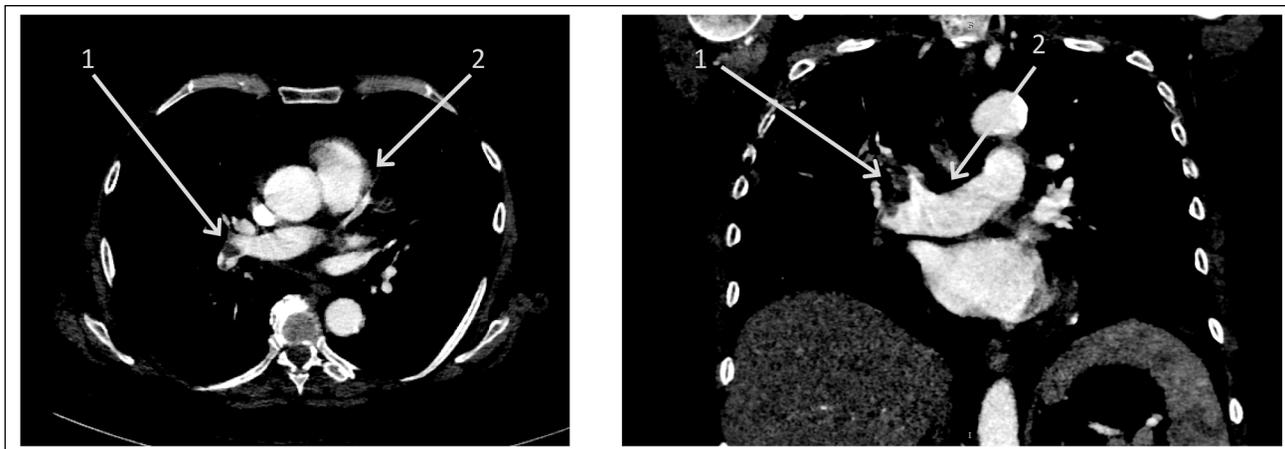
Генерализованные формы преимущественно встречаются среди иммунокомпрометированных пациентов с дефектами одного из звеньев клеточно-индуцированного воспаления [1–6].

Септическая тромбоэмболия лёгочной артерии (ТЭЛА) является редким частным случаем ТЭЛА, при котором эмболы содержат микроорганизмы из первичных внелёгочных очагов. В связи с неспецифической клинической картиной и отсутствием статистически значимых факторов риска диагностика септической ТЭЛА зачастую отсрочена. Это повышает вероятность неблагоприятного исхода заболевания [7–10].

Представляем вашему вниманию **клинический случай** пациентки с ТЭЛА и сальмонеллёзным сепсисом.

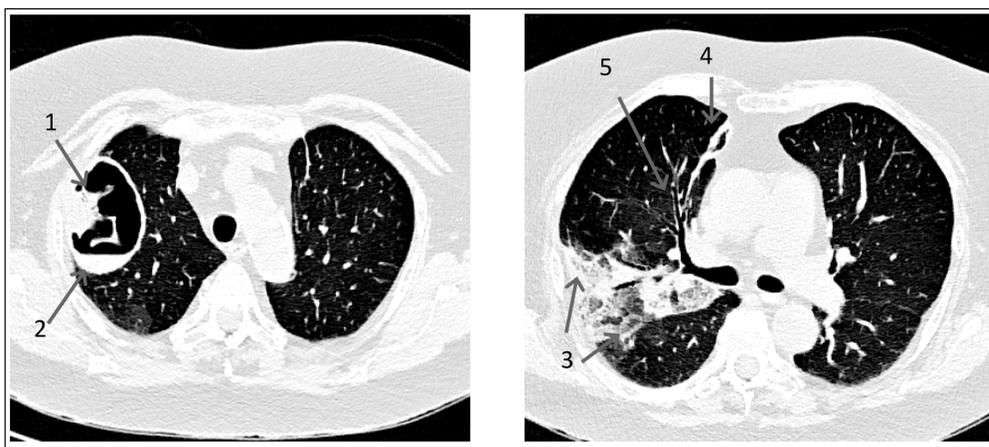
© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Трубецкая, 8, стр. 2, ПМГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, 119991



**Рис. 1.** КТ-ангиография пациентки Н. при поступлении.

(1) Седловидный тромб на уровне бифуркации правой лёгочной артерии. (2) Незначительное расширение лёгочного ствола (диаметр 32 мм), правая и левая ветви лёгочной артерии не расширены (диаметры 24 и 21 мм, соответственно).



**Рис. 2.** КТ ОГК пациентки Н. при поступлении, аксиальные срезы.

(1) Полость с чёткими стенками с неровным внутренним контуром толщиной до 5 мм в S1 правого лёгкого. (2) Уровень жидкости в полости. (3) Негомогенные треугольные участки снижения воздушности лёгочной ткани в S1-2 правого лёгкого определяются субсегментарные. (4) Линейный субсегментарный ателектаз в S3 правого лёгкого. (5) Умеренное утолщение перибронховаскулярного интерстиция.

### Клинический случай

Пациентка Н., 67 лет, заболела остро за 12 дней до госпитализации, когда появились симптомы гастроэнтерита, купировавшиеся приёмом энтеросорбентов и метронидазола. На шестой день от начала заболевания появились боли и отёк правой голени, тогда же во время подъёма по лестнице внезапно появилась одышка, чувство тяжести за грудиной. Через несколько часов пациентка отметила нарастание одышки, появление сухого кашля и боли в правой половине грудной клетки, усиливающихся при дыхании, фебрильной лихорадки, снижение артериального давления до 90/60 мм рт. ст. В течение 5 дней лечилась самостоятельно симптоматически — без значительного эффекта. Бригадой скорой помощи пациентка в тяжёлом состоянии госпитализирована в отделение реанимации и интенсивной терапии.

Из анамнеза известно, что в течение последних 2 месяцев проживала в частном доме в сельской местности, практически ежедневно употребляла в термически обработанном виде продукты, купленные в частном секторе. Ни у кого из родственников инфекционно-воспалительных заболеваний в течение 2 мес. не отмечено. Перенесённые заболевания: язвенная бо-

лезнь двенадцатиперстной кишки в стадии ремиссии. Наследственность: мать перенесла брюшной тиф.

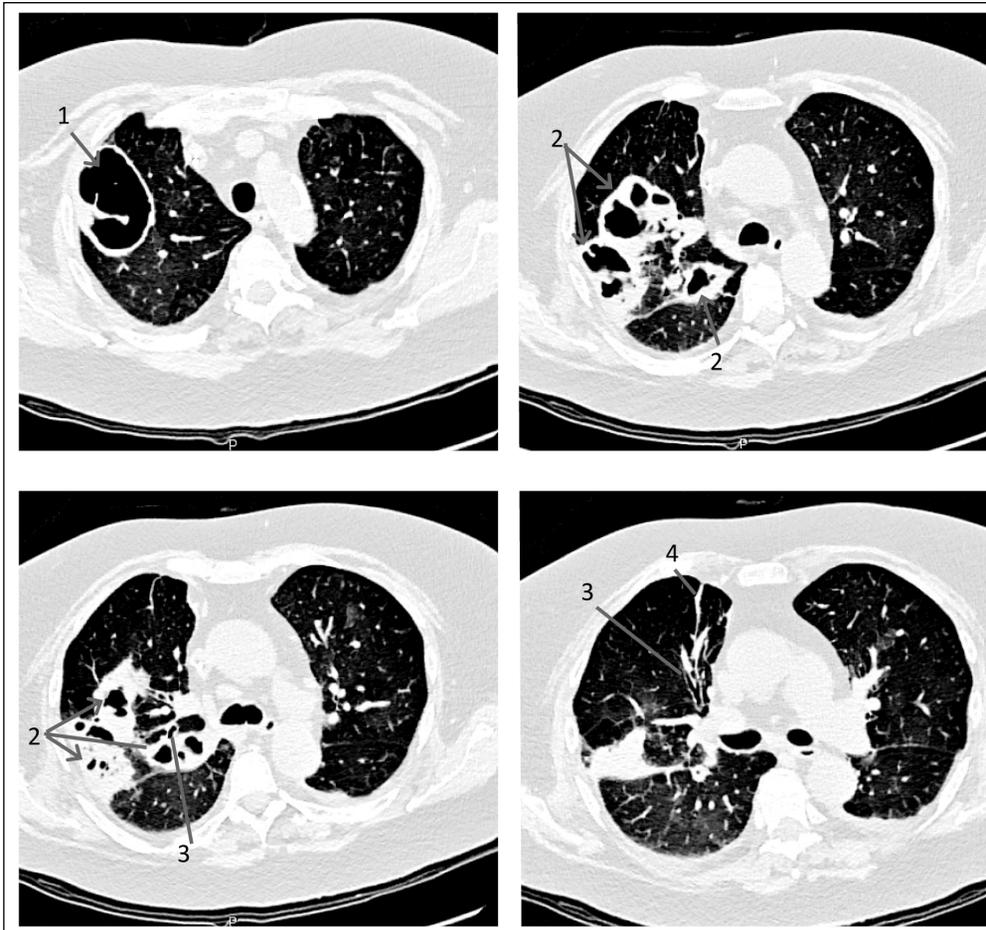
При осмотре температура 39,2°C, выраженная отёчность и болезненность правой голени. При дуплексном сканировании вен нижних конечностей выявлен флотирующий тромб глубоких вен правой нижней конечности с верхней границей тромба на уровне общей бедренной вены.

Дыхание — ослабленное везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, шумы не выслушиваются, отмечается акцент 2 тона на лёгочной артерии. Частота сердечных сокращений — 110/мин.

Артериальное давление — 85/55 мм рт. ст. Сатурация крови кислородом 88%. Живот мягкий, несколько вздут, болезненный по ходу толстой кишки. Печень — у края реберной дуги. Селезёнка не пальпируется.

Согласно упрощённым критериям Wells и Geneva score, у пациентки установлена высокая вероятность ТЭЛА. В коагулограмме отмечено повышение уровня Д-димера, фибриногена и снижение протромбина по Квику. Выполнена КТ-ангиография органов грудной клетки (ОГК) (рис. 1, 2). В ходе исследования было подтверждено наличие массивной ТЭЛА правой ветви лёгочной артерии. Установлено наличие инфарктной пневмонии в S1-2 правого лёгкого, представленной участками консолидации лёгочной ткани треугольной формы, линейного субсегментарного ателектаза в S3 правого лёгкого. Кроме того, была обнаружена не типичная для ТЭЛА полость деструкции в S1 правого лёгкого, дренирующаяся в сегментарный бронх и частично заполненная жидкостным содержимым.

В клиническом анализе крови — нормоцитарная нормохромная анемия (Hb 10<sup>9</sup> г/л, эритроциты 3,54×10<sup>12</sup>/л), тромбоцитопения (136×10<sup>9</sup>/л) и увеличение СОЭ до 70 мм/ч.



**Рис. 3.** КТ ОГК пациентки Н. в динамике, 7-е сутки госпитализации.

Уровень аксиальных срезов соответствует срезам на рис. 2. (1) Истончение стенок полости деструкции в S1 правого лёгкого и некоторое уменьшение её объёма; отсутствие уровня жидкости (2) Формирование множественных полостей деструкции на месте фокусов консолидации лёгочной паренхимы в S1-2 правого лёгкого (3) Сохраняется утолщение перибронхиального интерстиция. (4) Сохраняется субсегментарный линейный ателектаз в S3 правого лёгкого.

В биохимическом анализе крови определялось повышение С-реактивного белка — 218 мг/мл, уровня IL 6 — 74,6 пг/мл и концентрации прокальцитонина — 0,858 нг/мл. В коагулограмме обращало на себя внимание повышение уровня Д-димера — 3,3 мкг/мл, фибриногена — 7,08 г/л; и снижение протромбина по Квику — 51%.

При микробиологическом исследовании крови обнаружен рост *Salmonella* группы D (Vi антиген отрицательный), при микробиологическом исследовании мокроты — *Salmonella* группы D —  $10^5$  КОЕ/мл, *Candida albicans* —  $10^2$  КОЕ/мл. Посев кала на кишечную группу отрицательный.

При проведении эхокардиографии выявлена незначительная дилатация правого желудочка, признаки лёгочной гипертензии (среднее систолическое давление в лёгочной артерии — 37 мм рт. ст.).

На основании клинической картины и данных лабораторно-инструментальных исследований пациентке поставлен диагноз: «Сальмонеллёз (*Salmonella* группы D, Vi-антиген отрицательный): генерализованная форма, септицемический вариант. Тромбоз глубоких вен правой нижней конечности. Осложнения: внебольничная деструктивная правосторонняя полисегментарная пневмония, ассоциированная с *Salmonella* группы D; массивная тромбоэмболия ветвей правой лёгочной артерии».

В связи с наличием дыхательной недостаточности пациентка переведена на неинвазивную искусственную вентиляцию лёгких. Начато проведение патогенетической и симптоматической терапии: эртапенем 1000 мг в/в + левофлоксацин 1000 мг в/в, эноксапарин натрия 1,6 мг/кг/сут, симптоматическая инфузионная терапия.

Несмотря на стабилизацию артериального давления и купирование дыхательной недостаточности, состояние пациентки оставалось тяжёлым, в клиническом анализе крови выявлен лейкоцитоз (лейкоцитоз —  $11,5 \times 10^9$ /л со сдвигом формулы до метамиелоцитов (3%)), повышение СОЭ (96 мм/ч). Пациентка отметила нарастание отёка правой голени и появление болевого синдрома. При повторном дуплексном сканировании выявлены признаки острого восходящего тромбоза глубоких вен правой нижней конечности с переходом флотации в общую бедренную вену. В связи с чем выполнена операция Троянова—Тренделенбурга. При микробиологическом исследовании тромба выявлен рост *Salmonella* гр. D (Vi антиген отрицательный).

Повторная КТ ОГК (рис. 3) демонстрировала отрицательную динамику в виде формирования полостей с жидкостным содержимым на фоне консолидации в S2—S3 правого лёгкого, появление плеврального выпота с двух сторон в небольшом объёме. При этом объём полости в S1 правого лёгкого и объём детрита в ней уменьшились, субсегментарный ателектаз в S3 правого лёгкого сохранялся без динамики.

Учитывая прогрессирование деструктивного процесса ассоциированного с *Salmonella*, пациентка переведена в специализированный инфекционный стационар. В течение последующих трёх недель продолжалась антибактериальная (эртапенем 1000 мг в/в + ципрофлоксацин 400 мг в/в), антикоагулянтная (ривароксабан 20 мг/сут) и симптоматическая терапия с положительным эффектом. При проведении контрольной КТ ОГК отмечалась выраженная положительная динамика в виде уменьшения размеров, а в последствии, и полного закрытия полостных образований. КТ-ангиография показала полный лизис тромба в ветвях правой лёгочной артерии.

В связи с тяжёлым течением сальмонеллёзной инфекции у пациентки без факторов риска в анамнезе (иммунный дефицит, онкологическое заболевание, курсы химиотерапии) и отягощённым по сальмонеллёзной инфекции наследственным анамнезом (перенесённый матерью пациентки брюшной тиф) было выдвинуто предположение о наличии генных по-

лиморфизмов, снижающих эффективность функционирования клеточного звена иммунитета. Пациентка была генотипирована на наличие косегрегированных однонуклеотидных полиморфизмов в гене TLR4 (toll-подобный рецептор 4) (Asp299Gly и Thr399Ile) методом пиросеквенирования с использованием системы генетического анализа «PyroMark Q24» («Qiagen», Германия). Выявлен аллель G в гетерозиготном состоянии полиморфизма Asp299Gly (896A/G, rs4986790) и аллель T в гетерозиготном состоянии полиморфизма Thr399Ile (1196C/T, rs4986791), которые ассоциированы со сниженной чувствительностью к ЛПС бактерий и связаны с увеличением частоты развития грамотрицательных инфекций тяжёлого течения [5]. По данным проекта 1000Genomes частота генотипа A/G в полиморфизме Asp299Gly в общемировой популяции оказалась равной 10,9%, частота генотипа C/T в полиморфизме Thr399Ile — 7,4%. Частоты в европейской популяции составили 7,4 и 10,1%, соответственно. Частотные характеристики встречаемости данных генотипов в сочетании на сегодняшний день не исследованы [11].

## Обсуждение

По данным опубликованных исследований септикопиемическая форма сальмонеллёза у иммунокомпетентного пациента развивается крайне редко. Формирование очага отсева в лёгких наблюдается ещё реже [9, 10]. В представленном клиническом случае развитие генерализованной формы сальмонеллёза вероятно связано с двумя факторами. Во-первых, с наличием у пациентки полиморфизмов Asp299Gly и Thr399Ile в гене TLR4, которые обуславливали сниженную чувствительность к его специфическому субстрату — ЛПС бактерий и повышали риск развития сепсиса [5, 6]. Во-вторых, с длительным приёмом пациенткой гастропротекторов, что явилось ещё одним предрасполагающим к инфицированию фактором, поскольку сальмонеллы чувствительны к действию кислой среды желудка [9, 11].

Формирование тромбов в данном случае является как результатом развития синдрома воспалительной реакции при септикопиемической форме сальмонеллёза, так и следствием протромботической активности сальмонелл при достижении ими концентрации > 10/мл сыворотки крови. Они активируют различными путями тромбоцитарное звено системы гемостаза и, вероятно, подавляют работу противосвёртывающей системы [12]. В литературе на сегодняшний день описан единичный случай сальмонеллёза в сочетании с тромбозом глубоких вен левой нижней конечности и не подтверждённой ангиографически ТЭЛА без абсцедирования [5].

В представленном клиническом случае при проведении КТ ОГК и КТ-ангиографии были выявлены области консолидации лёгочной ткани с полостями деструкции, локализующиеся в бассейне тромбированной ветви лёгочной артерии. Их можно расценивать как последствие ТЭЛА септическими эмболами, поскольку при микробиологическом исследовании тромба и из мокроты была выделена *Salmonella* группы D. Кроме то-

го, образование полостей в зоне асептического инфаркта не характерно для ТЭЛА и происходит только в 4–7% случаев [7, 8, 13].

С целью оценки клинических и скиалогических характеристик септической ТЭЛА у взрослых пациентов был произведен поиск в базе Pubmed по ключевым словам «Septic pulmonary embolism» и «Septic pulmonary emboli» с ограничением Clinical Case. В исследование включались клинические случаи или серии наблюдений пациентов на английском языке, для которых были доступны полные тексты. Критериями включения являлись: (1) наличие подтверждённого диагноза септической ТЭЛА; (2) присутствие полных клинических, микробиологических и рентгенологических данных; (3) возраст пациентов больше 18 лет. Из исследования исключались статьи с дублирующими данными (например, клинический случай и систематический обзор, включающий в себя анализ данного случая).

Таким образом, в исследование включено 36 статей, удовлетворяющих заявленным требованиям, содержащих данные о 260 случаях септической ТЭЛА в период с 1978 по 2019 гг. включительно [14–49]. Демографические данные представлены в табл. 1.

**Таблица 1. Демографическая характеристика пациентов с септической ТЭЛА [14–49].**

Характеристика	Значение*
Всего пациентов	260 (100%)
Пол	
Мужчины	175 (67,3%)
Женщины	85 (32,7%)
Средний возраст, лет	51,5±3,65
Летальность	32 (12,3%)

**Примечание.** \* — указывается число человек (n, %) или  $x \pm SE$  (где SE — ошибка среднего) для количественных переменных.

Обращает на себя внимание, что только у 8% (21 человек) пациентов было иммунодефицитное состояние (вследствие противоопухолевой или иммуносупрессивной терапии, ВИЧ инфекции или СПИД). Однако, поскольку консультация иммунолога и генетическое тестирование не было проведено ни в одном из представленных случаев септической ТЭЛА у иммунокомпетентных пациентов, нельзя безапелляционно утверждать отсутствие у них скрытой патологии иммунной системы, например, такой как в представленном клиническом случае.

Спектр первичных очагов инфекции был достаточно широк (табл. 2) [14–49]. Отмечено значительное преобладание инфекции мягких тканей (41,9%, 109 пациентов) и инфекционного эндокардита (23,1%, 60 пациентов) как правостороннего, так и левостороннего. При этом у сравнительно небольшого числа пациентов (16,9%, 44 человека) была зарегистрирована катетер-ассоци-

**Таблица 2. Спектр первичных очагов инфекции у пациентов с септической ТЭЛА [14–49].**

Локализация инфекционного очага	Число пациентов, n=260	Процент от общего
Инфекция мягких тканей	109	41,9
Катетер-ассоциированная инфекция	44	16,9
Эндокардит	60	23,1
Тромбофлебит	19	7,3
Абсцесс паренхиматозного органа	36	13,8
Синдром Лемьера	13	5
Острая хирургическая патология	7	2,7
Сепсис	31	11,9

ированная септическая ТЭЛА. Диагноз «сепсис» был установлен всего в 11,9% (31 пациент) случаях и не всегда сочетался с иммунодефицитным состоянием у пациента (51,6%, 16 пациентов).

Наиболее частой сопутствующей патологией явилась наркотическая зависимость (21,5%, 56 пациентов). Диабет явился вторым по значимости заболеванием (10,4%, 27 человек), наиболее часто сочетаясь с инфекцией мягких тканей и эндокардитом. Хроническая болезнь почек (5%, 13 пациентов), хронический гепатит и/или цирроз печени (4,2%, 11 пациентов), онкологическое заболевание или трансплантация органа (4,6%, 12 пациентов), неоперированный врожденный порок сердца (4,2%, 11 пациентов) присутствовали примерно в равном количестве случаев, не сочетаясь друг с другом. Кроме того, в единичных случаях у пациентов зарегистрированы: острое почечное повреждение (0,38%, 1 пациент), аутоиммунные заболевания (1,2%, 3 пациента) и неспецифический язвенный колит (0,77%, 2 пациента), вероятнее всего, не являющиеся значимыми факторами риска развития септической ТЭЛА.

У всех представленных пациентов имелись данные о микробиологическом исследовании крови, мокроты или аспирата, полученного при бронхоальвеолярном лаваже. При этом у 13,5% (35 пациентов) посева были отрицательные. Наиболее часто у исследуемых обнаруживалась грамположительная флора (73,3%, 165 пациентов), чаще всего — *Staphylococcus* spp. (84,2% из пациентов с грамположительной флорой, 61,7% из общего числа, 139 пациентов). Остальные микроорганизмы обнаруживались гораздо реже. *Streptococcus* spp. выселялся в 12,7% случаев (9,3% от общего числа, 21 пациент), *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Mycobacterium fortuitum* и *Parvimonas micra* в единичных случаях.

Грамотрицательная флора была обнаружена в 26,7% случаев (60 пациентов). При этом не было зарегистрировано ни одного случая инфицирования каким-либо видом *Salmonella* spp. *Klebsiella* spp. высевалась наиболее часто (45% из пациентов с грамотрицательной флорой, 12% от общего числа, 27 пациентов). Среди остальных видов возбудителей преобладали *Fusobacterium necropho-*

*rum* (26,7% из пациентов с грамотрицательной флорой, 6,2% от общего числа, 16 пациентов), вызывающая синдром Лемьера, и *Bacteroides fragilis* (18,3% из пациентов с грамотрицательной флорой, 4,2% от общего числа, 11 пациентов). В единичных случаях были обнаружены *Gemella morbillorum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и *P.oris*.

Таким образом, шанс обнаружить грамположительный микроорганизм как этиологический фактор септической ТЭЛА более чем в 7 раз выше, чем высеять у пациентов данной категории грамотрицательную флору (отношение шансов 7,576, доверительный интервал (ДИ) 95%).

По данным КТ-ангиографии ОГК (табл. 3) у всех пациентов был подтвержден диагноз ТЭЛА

**Таблица 3. КТ-признаки у пациентов с септической ТЭЛА [14–49].**

КТ-признак	Число пациентов, n	Процент от общего n=260
Треугольный участок консолидации	103	39,6
Узелок или очаг*	170	65,4
Полость распада в фокусе инфарктной пневмонии	120	46,1
Множественные изменения в лёгочной паренхиме	190	73,1
Плевральный выпот	81	31,2
Нет изменений	1	0,38

**Примечание.** \* — определялись согласно дефиниции сообщества Fleishner: (1) узелок — округлый участок консолидации с чётким или нечётким контуром максимальным линейным размером 3 см; (2) очаг (масса) — участок консолидации лёгочной паренхимы диаметром больше 3 см вне зависимости от характеристики контуров [50].

[14–49]. У большинства исследуемых (73,1%, 190 пациентов) выявлялось многоочаговое поражение лёгочной паренхимы. При этом не было получено статистически значимой связи ( $p > 0,05$ ) между объёмом поражения лёгочной ткани и наличием у пациентов сепсиса или летальным исходом. У пациентов с септической ТЭЛА в 2,8 раз чаще визуализировались узелки (размер  $> 3$  см согласно определению сообщества Fleishner) и очаги (размер  $< 3$  см согласно определению сообщества Fleishner) [50], чем треугольные участки консолидации, типичные для инфарктной пневмонии (отношение шансов 2,769, ДИ 95%). Полость распада определялась меньше чем в половине случаев септической ТЭЛА (46,1%, 120 пациентов). Однако замечено, что в узелке или очаге она визуализировалась в 2 раза чаще, чем в треугольном участке консолидации (отношение шансов 2,07, ДИ 95%).

По данным литературы, вероятность формирования полости статистически значимо выше при инфицировании зоны инфаркта или протекании ТЭЛА на фоне инфекционного заболевания,

вызванного грамотрицательной флорой [7, 12]. По данным проведенного нами метанализа не было получено значимой связи ( $p > 0,05$ ) между типом инфицирующей флоры и наличием деструктивных изменений на фоне инфарктной пневмонии.

Другими значимыми факторами риска формирования полостей распада в лёгочной ткани при септической ТЭЛА являются большая зона инфаркта ( $> 4$  см), пожилой возраст, наличие сердечной недостаточности или хронического заболевания лёгких. В связи с отсутствием данных о коморбидной лёгочной патологии и о размере фокусов инфарктной пневмонии в большинстве проанализированных клинических случаев оценка данных факторов в нашем исследовании не проводилась.

Проведённый метанализ показал, что скалологические характеристики септической инфарктной пневмонии не зависят от характера инфицирующего агента. Возможно, индивидуальные особен-

ности иммунной системы, в том числе, врождённого звена иммунитета, влияют на течение патологического процесса в лёгких, что отражается в характере КТ-паттерна поражения лёгочной паренхимы.

## Заключение

Таким образом, представленный клинический случай иллюстрирует редкое течение нетифоидного генерализованного сальмонеллёза с развитием септической ТЭЛА у пациентки с наличием генетических полиморфизмов Asp299Gly и Thr399Ile в гене TLR4. Данное нарушение функции клеточно-опосредованного иммунитета приводит к снижению чувствительности к ЛПС бактерий. Это обусловило склонность к деструктивным изменениям, повышенное тромбообразование и генерализацию инфекционного процесса, влияя, таким образом, на восприимчивость и исход болезни, вызванной грамотрицательной флорой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ao T.T., Feasey N.A., Gordon M.A., Keddy K.H., Angulo F.J., Crump J.A. Global Burden of Invasive Nontyphoidal Salmonella Disease, 2010. *Emerg Infect Dis* 2015; 21, 6: 941–949. doi:10.3201/eid2106.140999
2. Cheng W.-L., Li C.-W., Li M.-C., Lee N.-Y., Lee C.-C., Ko W.-C. Salmonella infective endocarditis. *Microbiol Immunol Infect* 2016; 49, 3: 313–320. doi: 10.1016/j.jmii.2015.02.659
3. Crump J. A., Sjölund-Karlsson M., Gordon M. A., Parrye Ch. M. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28, 4: 901–937. doi: 10.1128/CMR.00002-15
4. Eng S.-K., Puspajajah P., Mutalib N.-S.A., Ser H.-L., Chan K.-G., Lee L.-H. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*. 2015; 8, 3: 1–10. doi:10.1080/21553769.2015.1051243
5. Ziakas P. D., Prodromou M. L., Khoury J. El., Zintzaras E., Mylonakis El. The Role of TLR4 896 A>G and 1196 C>T in Susceptibility to Infections: A Review and Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Plos One* 2013; 8, 11, e81047. doi: 10.1371/journal.pone.0081047
6. Ferwerda B., McCall M.B., Verheijen K., Kullberg B.-J., van der Ven A.J., van der Meer J.W. et al. Functional Consequences of Toll-like Receptor 4 Polymorphisms. *Mol Med* 2008; 14 (5–6): 346–352. doi:10.2119/2007-00135
7. Ye R., Zhao L., Wang C., Wu X., Yan H. Clinical characteristics of septic pulmonary embolism in adults: A systematic review. *Respir Med* 2014; 108, 1–8. http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2013.10.012
8. Jiang J., Liang Q.L., Liu L.H., Cai C.Q., Du Z.Q., Kong J.L., Chen Y.Q. Septic pulmonary embolism in China: clinical features and analysis of prognostic factors for mortality in 98 cases. *BMC Infect Dis* 2019, 19: 1082 https://doi.org/10.1186/s12879-019-4672-1
9. Goswami U., Brenes J.A., Punjabi G.V., LeClaire M.M., Williams D. N. Associations and Outcomes of Septic Pulmonary Embolism. *Open Respir Med* 2014; 8, 1: 28–33. doi: 10.2174/1874306401408010028
10. Song X.Y., Li S., Cao J., Xu K., Huang H., Xu Z.J. Cardiac septic pulmonary embolism a retrospective analysis of 20 cases in a Chinese population. *Medicine* 2016 95: 25. http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000003846.
11. http://www.ensembl.org/Homo\_sapiens/Info/Index, дата обращения 02.02.2020
12. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C. ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J* 2019; 1–61.
13. Chou D.-W., Wu S.-L., Chung K.-M., Han S.-C., Cheung B.-M.-H. Septic pulmonary embolism requiring critical care: clinicoradiological spectrum, causative pathogens and outcomes causative pathogens and outcomes. *Clinics* 2016; 71 (10): 562–569. doi: 10.6061/clinics/2016(10)02
14. Allegrini D., Reposi S., Nocerino E., Pece A. Odontogenic orbital cellulitis associated with cavernous sinus thrombosis and pulmonary embolism: a case report. *Allegrini et al. Med Case Reports* 2017, 11: 164. doi: 10.1186/s13256-017-1309-0
15. Baidya A., Ganakumar V., Jadon R.S., Ranjan P., Manchanda S. R. Sood. Septic pulmonary emboli as a complication of peripheral venous cannula insertion. *Drug Discov Ther* 2018; 12 (2): 111–113. doi: 10.5582/ddt.2018.01016
16. Ben-Chetrit E., Weiner-Well Y., Katz D.E., Rosenman D., Munter G. VSD-associated Right Sided Infective Endocarditis Complicated by Septic Pulmonary Emboli, *Am J Med Sci* 2016; 352 (1): 107–108. http://dx.doi.org/10.1016/j.amjms.2016.03.007
17. Cheng F.-Y., Su Y.-J. Septic pulmonary emboli associated with klebsiella pneumoniae epididymitis. *J Emerg Med* 2016; 50 (1): 23–24. http://dx.doi.org/10.1016/j.jemermed.2015.03.044
18. Makrides C., Symeonides M. *Gemella morbillorum* tricuspid valve endocarditis resulting in septic pulmonary emboli in a patient with intracranial hemorrhage. *Intern J Cardiol* 2015; 184: 769–771. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.02.094
19. De Giorgi A., Fabbian F., Molino C., Misurati E., Tiseo R., Parisi C. et al. Pulmonary embolism and internal jugular vein thrombosis as evocative clues of Lemierre's syndrome: A case report and review of the literature. *World J Clin Cases* 2017; 5 (3): 112–118 doi: http://dx.doi.org/10.12998/wjcc.v5.i3.112
20. De Smet K., Claus P.-E., Alliet G., Simpelaere A., Desmet G. Lemierre's syndrome: a case study with a short review of literature. *Acta Clinica Belgica* 2018; https://doi.org/10.1080/17843286.2018.1474614
21. Genez M. Septic pulmonary embolism associated with klebsiella spp. infection in a patient with previous ASD operation. *Turk J Anaesthesiol Reanim* 2019; 47 (6): 511–514. doi: 10.5152/TJAR.2019.39924
22. Alonso Ojeda Gómez J. S., Carrillo Bayona J. A., Morales Cifuentes L. C. Septic pulmonary embolism secondary to *Klebsiella pneumoniae* epididymitis: case report and literature review. *Case Rep Radiol* 2019; 53. Article ID 5395090, https://doi.org/10.1155/2019/5395090
23. Ho V.T., Rothenberg K.A., McFarland G., Tran K., Aalami O.O. Septic pulmonary emboli from peripheral suppurative thrombophlebitis: a case report and literature review. *Vascular Endovascular Surg XX(X)*. doi: 10.1177/1538574418779469
24. Hong G., Kim Y.S. Recurrent septic pulmonary embolism related to an implanted central venous access port device. *Chin Med J* 2018; 131: 3009–3011. doi: 10.4103/0366-6999.247196
25. Hong J.-H., Lu Y.-C., Wang S.-M. Penile MSSA infection associated dry penile gangrene and pulmonary septic emboli. *Am J Med Sci* 2017; 353 (3): e5. http://dx.doi.org/10.1016/j.amjms.2016.05.006
26. Inchaustegui C. A., Wang K. Y., Teniola O., De Rosen V.L. Large septic pulmonary embolus complicating streptococcus mutans pulmonary valve endocarditis. *Radiol Case* 2018 Feb; 12 (2): 18–27. doi: 10.3941/jrcr.v12i2.3240
27. Jung J.S., Lee S.M., Kim H.J., Jang S.-H., Lee J.W. A case of septic pulmonary embolism associated with renal abscess mimicking pulmonary metastases of renal malignancy. *Ann Nucl Med* 19 November 2013 / Accepted: 13 January 2014. doi: 10.1007/s12149-014-0811-3.
28. Kashiwara E., Fujita K., Koyama H., Mio T. Septic pulmonary embolism complicated by pyogenic spondylitis and psoas abscesses in a patient with methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Oxford Medical Case Reports* 2018; 12: 455–457. doi: 10.1093/omcr/omy108.
29. Kitajima S., Kaneko S., Wada T. Septic pulmonary embolism caused by internal shunt infection. *Ther Apher Dial* 2015; 19 (5): 525–526.
30. Lardo S., Ariane A., Chen K. Septic pulmonary embolism following appendectomy surgery. *Acta Med Indones*. 2015; 47 (3): 234–237.
31. Matsumoto K., Yamamoto W., Ohgusa E., Tanaka M., Maruta A., Ishigatsubo Y. et al. Disseminated *Cunninghamella bertholletiae* infection

- with septic pulmonary embolism after allogeneic bone marrow transplantation. *Transpl Infect Dis* 2014; 16: 304–306.
32. Morichika K, Nakachi S, Tomoyose T, Shimabukuro N, Tamaki K, Tedokon I. A rare case of septic pulmonary embolism caused by infection-associated catheter removal in a patient with hodgkin's lymphoma. *Intern Med* 2014; 53: 1215–1220. doi: 10.2169/internalmedicine.53.2092.
  33. Nii T, Yoshikawa H, Okabe T, Tachibana I. Septic pulmonary and systemic embolism in tricuspid endocarditis. *BMJ Case Rep* 2014. doi:10.1136/bcr-2014-206569.
  34. Paulis J, Tay E.T. Necrotizing fasciitis with pulmonary septic emboli following an infected insect bite. *Yajem* 2018. doi:10.1016/j.ajem.2018.08.034
  35. Medina-Piñon L, Reyes-Mondragon A. L., Martinez-Resendez M. F., Camacho-Ortiz A. Septic pulmonary emboli and renal abscess caused by staphylococcus aureus in an hiv-infected patient. *Case Reports Infect Dis* 2018. Article ID 1460283, 3 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/1460283>.
  36. Prins W. B., Yilmaz A., Noordzij P. G. Bacterial endocarditis with septic pulmonary embolism due to pacemaker lead infection. *Neth Heart J* 2014; 22: 127–128. doi: 10.1007/s12471-012-0271-0.
  37. Rahhal H., Campos F.P., Ferreira C.R., Felipe-Silva A. Lemierre's syndrome due to intratumoral abscess of the uvula. *Autopsy Case Rep [Internet]* 2015; 5 (3): 11–20. <http://dx.doi.org/10.4322/acr.2015.015>
  38. Reinders S., Bogaard K., Constant L.A., Knol R.J.J. A tortuous road for septic pulmonary emboli in left-sided endocarditis. *Can J Cardiol* 2014; 30: 1462. e3–e5 [www.onlinecjc.ca](http://www.onlinecjc.ca).
  39. Said S.A.M., Nijhuis R., Derks A., Droste H. Septic pulmonary embolism caused by infected pacemaker leads after replacement of a cardiac resynchronization therapy device. *Am J Case Rep* 2016; 17: 507–511. doi: 10.12659/AJCR.898009
  40. Song X. Y., Li S., Cao J., Xu K., Huang H., Xu Z.J. Cardiac septic pulmonary embolism. A retrospective analysis of 20 cases in a Chinese population. *Medicine* 2016; 95: 25 (e3846). <http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000003846>
  41. Takano Y., Fukuda K., Takayasu H., Shinmura K., Koizumi G., Sasaiet M. et al. Liver abscessation and multiple septic pulmonary emboli associated with Lemierre's syndrome: a case report. *BMC Res Notes* 2015; 8: 65. doi: 10.1186/s13104-015-1028-9.
  42. Takeda K., Tanaka K., Kumamoto T., Nojiri K., Mori R., Taniguchi K. et al. Septic pulmonary embolism originated from subcutaneous abscess after living donor liver transplantation: a pitfall of postoperative management. *Clin J Gastroenterol* 2013; 6: 378–382. doi: 10.1007/s12328-013-0400-3/
  43. Uluorman F., Tanriverdi Z., Sevinç C., Badak O., Çatalyürek H. An interesting septic embolism. *Respir Med Case Rep* 2014; 13: 54–56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmcr.2014.02.001>.
  44. Veras R. O., Barasuol L.L., de Lira C.P., Klostermann F. C., Müller L. S., Nercolini L. E. Lemierre syndrome: case report. *J Vasc Bras* 2018. *Out. — Dez.*; 17 (4): 337–340. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.002418>.
  45. Watanabe T., Yokoe M., Noguchi Y. Septic pulmonary embolism associated with periodontal disease: a case report and literature review. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 74. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3710-3>.
  46. Wu W., Ye S., Chen G.H. Right-sided infective mural endocarditis complicated by septic pulmonary embolism and cardiac tamponade caused by MSSA. *Heart Lung* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.hrtlng.2018.05.010>.
  47. Yao Z., Zheng J., Si Y., Wang W. Pneumocardia and septic pulmonary embolism due to nongas-forming liver abscess. *A case report. Medicine* 2018; 97: 45 (e13096). <http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000013096>
  48. Bastina M.L.T., Neville N.R., Parsons R.E., Flannery A.H., Tennanta S.J., Johnson C.A. An unusual case of *Salmonella Enteritidis* causing pneumonia, septic shock and multiple organ failure in an immunocompetent patient. *IDCases* 2016; 6: 85–89. doi: 10.1016/j.idcr.2016.10.004
  49. Hitchcock J.R., Cook C.N., Bobat S., Ross E.A., Flores-Langarica A., Khan M., Dominguez-Medina C.C., Lax S., Carvalho-Gaspar M. Inflammation drives thrombosis after *Salmonella* infection via CLEC-2 on platelets. *Clin Invest* 2015; 125 (12): 4429–4446. doi:10.1172/JCI79070
  50. MacMahon H., Naidich D.P., Goo V. et al. Guidelines for Management of Incidental Pulmonary Nodules Detected on CT Images: From the Fleischner Society 2017. *Radiology* 2017; 284 (1): 228–243. doi: 10.1148/radiol.2017161659.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Струтинская Анастасия Дмитриевна* — клинический ординатор, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Москва

*Карнаушкина Мария Александровна* — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии №2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, Москва

*Тюрин Игорь Евгеньевич* — д. м. н., главный внештатный специалист по лучевой и инструментальной диагностике Минздрава России, заведующий кафедрой рентгено-

логии и радиологии ФГБОУ ДПО «РМАНПО Минздрава России», Москва

*Суворова Маргарита Петровна* — к. м. н., доцент кафедры госпитальной терапии №2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, Москва

*Яковлев Сергей Владимирович* — д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии №2 Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, Москва

# Реализация программы Стратегии и контроля антимикробной терапии в Российском научном центре хирургии им. академика Б. В. Петровского

\*М. А. ЧУКИНА<sup>1,2</sup>, Н. В. ВИСТОВСКАЯ<sup>1</sup>, М. В. ЛУКИНА<sup>2</sup>, М. В. ЖУРАВЛЕВА<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Российский научный центр хирургии им. академика Б. В. Петровского, Москва

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

<sup>3</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ, Москва

## Strategy and Control of Antimicrobial Therapy Program Implementation at the B.V. Petrovsky National Research Center of Surgery

\*M. A. CHUKINA<sup>1</sup>, N. V. VISTOVSKAYA<sup>1,2</sup>, M. V. LUKINA<sup>2</sup>, M. V. ZHURAVLEVA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> B. V. Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

<sup>3</sup> Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Внедрение локальных программ по рациональному применению антибиотиков в многопрофильном стационаре направлено на снижение уровня антибиотикорезистентности и частоты инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Цель исследования — анализ частоты инфекционных осложнений, вызванных возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью, и уровня резистентности в Российском научном центре хирургии им. академика Б. В. Петровского по результатам внедрения программы СКАТ. *Материал и методы.* Проведён ретроспективный анализ результатов внедрения программы СКАТ на базе Российского научного центра хирургии им. акад. Б. В. Петровского. Проанализировано 1850 историй болезней хирургического профиля за 2018 г. (мужчин — 1095, средний возраст 56,2±14,9 лет; женщин — 755, средний возраст 53,7±11,9 лет) и 1502 истории болезни за 2019 г. период январь–октябрь (мужчин — 1114, средний возраст 58,3±12,1 лет, женщин — 388, средний возраст 55,4±12,6 лет). *Результаты.* Частота ИСМП в 2018 и 2019 гг. составляла 354 и 159 случаев, соответственно. Из них частота развития нозокомиальной пневмонии (НП) — 64 (61,5%) случая и 40 (38,5%) случаев; инфекция кожи и мягких тканей (ИКМТ) — 93 (57,4%) случая и 69 (42,6%) случаев; инфекция области хирургического вмешательства (ИОХВ) — 69 (82,1%) случаев и 15 (17,9 %) случаев в 2018 и 2019 гг., соответственно. Индекс лекарственной устойчивости (ИЛУ) для наиболее клинически значимых штаммов возбудителей ИСМП составил: *Klebsiella pneumoniae* — 0,14, *Acinetobacter baumannii* — 0,22, *Klebsiella* spp. — 0,11, *Enterobacter cloacae* — 0,15, *Enterococcus faecalis* — 0,18, *Enterococcus faecium* — 0,21. *Заключение.* Предложенные меры внедрения программы СКАТ на уровне медицинской организации снижают частоту развития ИСМП и локального уровня ИЛУ.

*Ключевые слова:* антибиотикорезистентность, программа СКАТ, инфекции, связанные с медицинской помощью, индекс лекарственной устойчивости.

The introduction of local programs for the rational use of antibiotics in a multidisciplinary hospital is aimed at reducing the level of antibiotic resistance and the frequency of healthcare associated infections (HAI). *The aim of the study* was to analyze the frequency of infectious complications caused by pathogens with multidrug resistance and the level of resistance at the B.V. Petrovsky National Research Center of Surgery based on the implementation of the SCAT program. *Material and methods.* A retrospective analysis of the SCAT program implementation results on the basis of the B.V. Petrovsky National Research Center of Surgery was carried out. 1850 case histories of the surgical profile for 2018 were analyzed (male — 1095, average age 56.2±14.9 years; female — 755, average age 53.7±11.9 years) and 1502 case histories for the January–October period for 2019 (male — 1114, average age 58.3±12.1 years, and female — 388, average age 55.4±12.6 years). *Results.* The incidence of HAI in 2018 and 2019 was 354 and 159 cases, respectively. Of these, the incidence of nosocomial pneumonia (NP) was 64 cases (61.5%) and 40 cases (38.5%); skin and soft tissue infection (SSTI) — 93 cases (57.4%) and 69 cases (42.6%); surgical site infections (SSI) — 69 cases (82.1%) and 15 cases (17.9%) in 2018 and 2019, respectively. The drug resistance index (DRI) for the most clinically significant strains of the causative agents of HAI was: *Klebsiella pneumoniae* — 0.14, *Acinetobacter baumannii* — 0.22, *Klebsiella* spp. — 0.11, *Enterobacter cloacae* — 0.15, *Enterococcus faecalis* — 0.18, *Enterococcus faecium* — 0.21. *Conclusion.* The proposed measures for the implementation of the SCAT program at the level of a medical organization reduce the incidence of HAI and the local level of the drug resistance index.

*Keywords:* antibiotic resistance, SCAT program, healthcare-associated infections, drug resistance index.

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: Абрикосовский пер., д. 2, Российский НЦХ им. Б. В. Петровского, Москва, 119991. E-mail: machukina@gmail.com

## Введение

*«В связи с отсутствием оперативных и согласованных действий многих заинтересованных сторон наш мир вступает в эпоху, когда антибиотики теряют эффективность, и обычные инфекции и небольшие травмы, которые можно было излечивать в течение многих десятилетий, сейчас могут снова убивать»*  
эксперт ВОЗ Кейджи Фукуда

В 2015 г. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) разработала Глобальную систему эпиднадзора за устойчивостью к антибактериальным препаратам (АБП) (GLASS) для содействия стандартизированному надзору за антибиотикорезистентностью (АБР) во всем мире, также созданы единые компьютерные системы по надзору за полирезистентными штаммами микроорганизмов. Однако при всей важности учёта глобальной картины при планировании политики антибактериальной терапии (АБТ) более рационально опираться на данные, полученные в конкретной стране (региональные данные).

Основные причины роста устойчивости к АБП: недостаточный уровень микробиологической диагностики во многих лечебных учреждениях; нерациональное применение АБП в лечебных учреждениях и амбулаторной практике; отсутствие системного подхода к регистрации инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи и антибиотикорезистентности; недостаточное соблюдение мер инфекционного контроля.

В России вышли ряд приказов и распоряжений [1–3], толчком для которых послужили рекомендации американского общества по инфекционным заболеваниям (Infectious Diseases Society of America (IDSA) — 2007) и всемирной организации здравоохранения (ВОЗ-2011) и способствовали созданию программы, направленной на рациональное использование АБП и сдерживание антибиотикорезистентности: Стратегия и Контроль Антимикробной Терапии (СКАТ) [4]. В программу были включены рекомендации, одобренные «Национальной ассоциацией специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (НАСКИ) в сентябре 2017 г. и МОО «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов» в ноябре 2017 г. Программа СКАТ реализуется в России с 2011 г., и в ней участвуют более 80 стационаров из разных регионов РФ.

В каждом лечебно-профилактическом учреждении необходимо иметь локальные данные по резистентности (паспорт резистентности). В первую очередь это относится к отделениям с высокой частотой применения АБП: ОРИТ, ожоговые, урологические и др. Сведения о резистент-

ности следует приводить дифференцированно, по различным отделениям и микроорганизмам. Паспорт резистентности должен быть изложен в письменном виде и его следует регулярно, минимум один раз в год, обновлять.

В целях введения программы СКАТ в стационар предложен ряд мер [5]:

1. Организация службы клинической фармакологии.
2. Комиссия по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.
3. Современная микробиологическая лаборатория.
4. Протоколы по рациональному применению АБП и контролю нозокомиальных инфекций, а также антибиотикорезистентности, утвержденные администрацией медицинской организации.

Служба клинической фармакологии способна значительно снизить не только прямые неоправданные затраты на АБП, но и косвенные, а именно за счёт уменьшения продолжительности пребывания пациентов в стационаре: отказ от избыточных инъекций (ступенчатый переход); сокращение продолжительности лечения в связи с уменьшением риска возникновения инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) с помощью введения протоколов антибиотикопрофилактики; повышение приверженности к выполнению стандартов [6].

Цель исследования — анализ частоты инфекционных осложнений, вызванных возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью, и уровня резистентности в Российском научном центре хирургии им. академика Б. В. Петровского по результатам внедрения программы СКАТ.

## Материал и методы

Исследование проводилось на базе Российского научного центра хирургии им. акад. Б. В. Петровского в период с 2018 г. по 2019 г. До введения программы СКАТ в центре существовало отделение Лаборатории профилактики и лечения в хирургии, которое являлась центральным компонентом рационального использования антимикробных средств. Активное сотрудничество данного отделения с клиническими подразделениями, создавало группу по контролю нозокомиальных инфекций.

При внедрении программы СКАТ были предложены дополнительные меры сдерживания роста антибиотикорезистентности в 2018 г. Были реализованы следующие этапы программы:

1. Усилена мультидисциплинарная команда инфекционного контроля, в которую были включены клинические фармакологи. Основными задачами данной группы являлись: быстрое выявление и регистрация инфекционных осложнений в стационаре, ведение статистики и микробиологический мониторинг, взаимодействие с руководителями профильных отделений, администрацией.

2. Составлены и утверждены протоколы по периоперационной антибиотикопрофилактике (ПАБП) на основе Американских, Европейских и Национальных клинических рекомендаций, с учётом особенностей оперативного вмешательства, включающие в себя спектр активности АБП, дозу, время, кратность и путь введения [7, 8]. Учитывая прямую взаимосвязь

между частотой применения цефалоспоринов III поколения и распространением энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), устойчивых ко всем цефалоспорином и другим классам антибиотиков, из периоперационной антибактериальной профилактики прежде всего исключены ЦС III, фторхинолоны (препараты, способствующие селекции полирезистентной *Pseudomonas aeruginosa* [9].

3. В качестве дополнительных мероприятий по ограничению доступа к антимикробным средствам была создана формулярная комиссия, куда входит список препаратов, в том числе и антимикробных средств, выписываемых в соответствии с рекомендациями клинического фармаколога.

4. Проводится проспективный аудит с обратной связью: осуществляется контроль адекватности терапии, вносятся необходимые коррективы.

5. В образовательных целях на базе Российского научного центра хирургии была создана школа «Рациональное использование лекарственных средств». В её рамках раз в квартал проходят обучающие лекции для врачей разных специальностей: «Современные проблемы антибиотикорезистентности в стационаре», «Лечение инфекции кожи и мягких тканей», «Сепсис», «Посткардиотомный синдром».

Наличие данной команды влияет на сдерживание антибиотикорезистентности на уровне стационара, внося определённый вклад по стратегии сдерживания в целом по России.

Проведён ретроспективный анализ результатов внедрения периоперационной антибактериальной профилактики: проанализировано 1850 историй болезней хирургического профиля за 2018 г. (мужчины — 1095, средний возраст 56,2±14,9 лет, женщины — 755, средний возраст 53,7±11,9 лет) и 1502 истории болезни за 2019 г. период январь–октябрь (мужчины — 1114, средний возраст 58,3±12,1 лет, женщины — 388, средний возраст 55,4±12,6 лет). Анализировались демографические показатели (пол, возраст, ИМТ), профиль отделения, проводимая антибактериальная профилактика, микробиологический мониторинг, инфекционные осложнения в послеоперационном периоде для каждого отделения и в стационаре в целом, выживаемость.

Статистические данные по снижению частоты выявления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью анализировали с помощью информационной программы Microb.

После сбора полученной информации проводился подсчёт индекса лекарственной устойчивости (ИЛУ): информация об устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам и общее потребление антибиотиков.

Расчёт проводился согласно методике расчёта, указанной в рекомендациях программы СКАТ 2018 г. [5].

Первым этапом проводился сбор данных о потреблении анализируемых АБП. Проводился подсчёт суммы используемых АБП DDD каждого класса, далее потребление АБП рассчитывалось на 100 койко-дней (к/д) по формуле:

$$\text{Потребление} = \text{DDD} \times 100 / \text{Общий к/д.}$$

**Частота потребления АБП = (потребление каждого класса АБП) / (общее потребление в данный период)** (табл. 1).

Затем рассчитывался индекс лекарственной устойчивости по формуле:

$$\text{ИЛУ} = (\text{частота резистентных изолятов}) \times (\text{частота потребления данного класса АБП}) \text{ (табл. 2).}$$

ИЛУ представляет собой сумму показателей лекарственной резистентности ко всем применяемым в данный период классам АБП.

Значение 0 означает, что все изоляты, включенные в расчёты, были чувствительными. Значение 1 означает, что инфекции не лечатся ни одним из антибиотиков, используемых в данной ситуации.

Статистический анализ проводился с использованием свободной программной среды вычислений R (v.3.3.2) (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, 2008), а также с помощью программы Excel, медицинской информационной системой Infomed.

**Таблица 1. Потребление антибактериальных препаратов за 2018–2019 гг.**

Период	АБП	Потребление DDD / 100 к/д	Общее потребление АБП DDD/100 к/д	Частота потребления АБП
2018 г.	Аминогликозиды	0,22	4,70	0,05
	Фторхинолоны	0,37		0,08
	Пенициллины	0,00		0,00
	Защищённые пенициллины	0,28		0,06
	Цефалоспорины	0,34		0,07
	Защищённые цефалоспорины	0,04		0,01
	Сульфаниламиды	0,06		0,01
	Фосфомицин	0,19		0,04
	Карбапенемы	0,64		0,14
	Тигециклин	1,36		0,29
	Монобактамы	0,01		0,00
	Полимиксины	0,08		0,02
	Гликопептиды	0,79		0,17
	Оксазолидиноны	0,20		0,04
Макролиды	0,01	0,00		
Тетрациклины	0,00	0,00		
Линкозамиды	0,12	0,03		
2019 г.	Аминогликозиды	0,33	4,00	0,08
	Фторхинолоны	1,33		0,33
	Пенициллины	0,34		0,08
	Защищённые пенициллины	0,04		0,01
	Цефалоспорины	0,38		0,09
	Защищённые цефалоспорины	0,44		0,11
	Сульфаниламиды	0,07		0,02
	Карбапенемы	0,41		0,10
	Тигециклин	0,07		0,02
	Монобактамы	0,06		0,02
	Полимиксины	0,02		0,00
	Гликопептиды	0,37		0,09
	Оксазолидиноны	0,04		0,01
	Макролиды	0,02		0,01
Тетрациклины	0,08	0,02		
Линкозамиды	0,01	0,00		

## Результаты и обсуждение

С 2018 г. периоперационная антибактериальная профилактика проводилась по протоколам, составленным на основании международных и национальных рекомендаций (табл. 3).

В основном периоперационная антибактериальная профилактика цефалоспорином 1-го и 2-го поколений проводилась при кардиохирургических вмешательствах до 2–3 дней в зависимости от вида оперативного вмешательства, при операциях на торакоабдоминальной области — не более 24 ч.

Анализ сравнения частоты инфекционных осложнений до и после внедрения программы СКАТ за 2018–2019 гг. представлен в табл. 4 из расчёта на 1000 пролеченных пациентов. Всего за 2018 г. пролечено 4038 пациентов, за 2019 г. — 4769 (табл. 4).

В результате, за 2018 г. на 1000 пациентов выявлено 88 случаев развития инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи (ИСМП): среди

Таблица 2. Расчёт индекса лекарственной устойчивости

Период	Патоген	АБП	Частота резистентных изолятов	Частота потребления АБП	Лекарственная резистентность	ИЛУ
2018 г.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Аминогликозиды	0,24	0,08	0,02	0,38
		Фторхинолоны	0,50	0,33	0,17	
		Защищённые пенициллины	0,54	0,01	0,00	
		Цефалоспорины	0,52	0,09	0,05	
		Защищённые цефалоспорины	0,32	0,11	0,04	
		Карбапенемы	0,14	0,10	0,01	
		Монобактамы	0,62	0,02	0,01	
		Фосфомицин	0,44	0,00	0,00	
		Тигециклин	0,00	0,02	0,00	
		Полимиксины	0,00	0,00	0,00	
2019 г.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Аминогликозиды	0,42	0,05	0,02	0,23
		Фторхинолоны	0,74	0,08	0,06	
		Защищённые пенициллины	0,76	0,06	0,05	
		Цефалоспорины	0,64	0,07	0,05	
		Защищённые цефалоспорины	0,50	0,01	0,00	
		Карбапенемы	0,20	0,14	0,03	
		Монобактамы	0,68	0,00	0,00	
		Фосфомицин	0,63	0,04	0,02	
		Тигециклин	0,00	0,29	0,00	
		Полимиксины	0,19	0,02	0,00	

Таблица 3. Схема периоперационной антибактериальной профилактики внедрения СКАТ

Варианты режимов периоперационной антибиотикопрофилактики	Первый год внедрения Стратегии Контроля Антимикробной Терапии 2018 г. Всего = 1850, n (%)	Второй год внедрения программы Стратегии Контроля Антимикробной Терапии 2019 г. Всего = 1502, n (%)	p-value
Цефалоспорины 1–2 поколение	93 (5,03)	751 (50,0)	5,63 E-211
Цефалоспорины 3 поколение	370 (20,0)	30 (1,99)	6,75 E-68
Карбапенемы*	370 (20,0)	0 (0,0)	3,25 E-104
Фторхинолоны	832 (44,97)	225 (14,9)	5,92 E-81
Цефалоспорины 1–2 + метронидазол/ ингибитор защищенные пенициллины	185 (10,0)	495 (32,9)	2,15 E-61

**Примечание.** \* – карбапенемы назначались пациентам при протезировании аорты, интраоперационной большой кровопотерей и высоким риском инфекционных осложнений. p-value рассчитывался с помощью точного критерия Фишера (< 0,05).

Таблица 4. Инфекционные осложнения в послеоперационном периоде на 1000 пролеченных пациентов в стационаре до и после внедрения программы СКАТ

Тип осложнений, связанных с оказанием медицинской помощи	Всего, n=88 (%) 2018 г. 1 год внедрения СКАТ	Всего, n=33 (%) 2019 г. 2 год внедрения СКАТ	p-value
Нозокомиальная пневмония (24)	16 (66,6)	8 (33,3)	0,453
Нозокомиальный трахеобронхит ИВЛ-ассоциированный (8)	7 (87,5)	1 (12,5)	0,444
Инфекция кожи и мягких тканей (37)	23 (62,2)	14 (37,8)	0,119
Сепсис/Катетер-ассоциированная инфекция (8)	5 (62,5)	3 (37,5)	0,682
Инфекция протеза (4)	2 (50,0)	2 (50,0)	0,299
Инфекции области хирургического вмешательства (перитонит, абсцесс брюшной полости и др.) (20)	17 (85,0)	3 (15,0)	0,272
Медиастенит (4)	3 (75,0)	1 (25,0)	1
Менингит (кандидозной этиологии) на 10000 пролеченных пациентов	2 (50,0)	2 (50,0)	0,2992

**Примечание.** p-value рассчитывался с помощью точного критерия Фишера (< 0,05).

осложнений по стационару отмечена наибольшая частота развития нозокомиальной пневмонии (НП) — 16 (15,4%) случаев, инфекций кожи и мягких тканей (ИКМТ) — 23 (66,6%) случая, сепсиса — 5 (62,5%) случаев, инфекций области хирургического вмешательства (ИОХВ) — 17 (85,0%) случаев.

Всего за 2019 г. на 1000 пациентов отмечено развитие 33 случая ИСМП: из них развитие НП отмечено в 8 (7,7%) случаях, ИКМТ — у 14 (37,8%) пациентов, ИОХВ — у 3 (15,0%) пациентов.

Проанализирован микробиологический пейзаж за данный период. Согласно полученным результатам, при развитии ИСМП в Центре за 2018–2019 гг. микробиологический пейзаж существенно не изменился: преобладают грамотрицательные возбудители: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*. Среди грамположительной флоры: *Enterococcus faecalis*, methicillin-resistant *Staphylococcus*

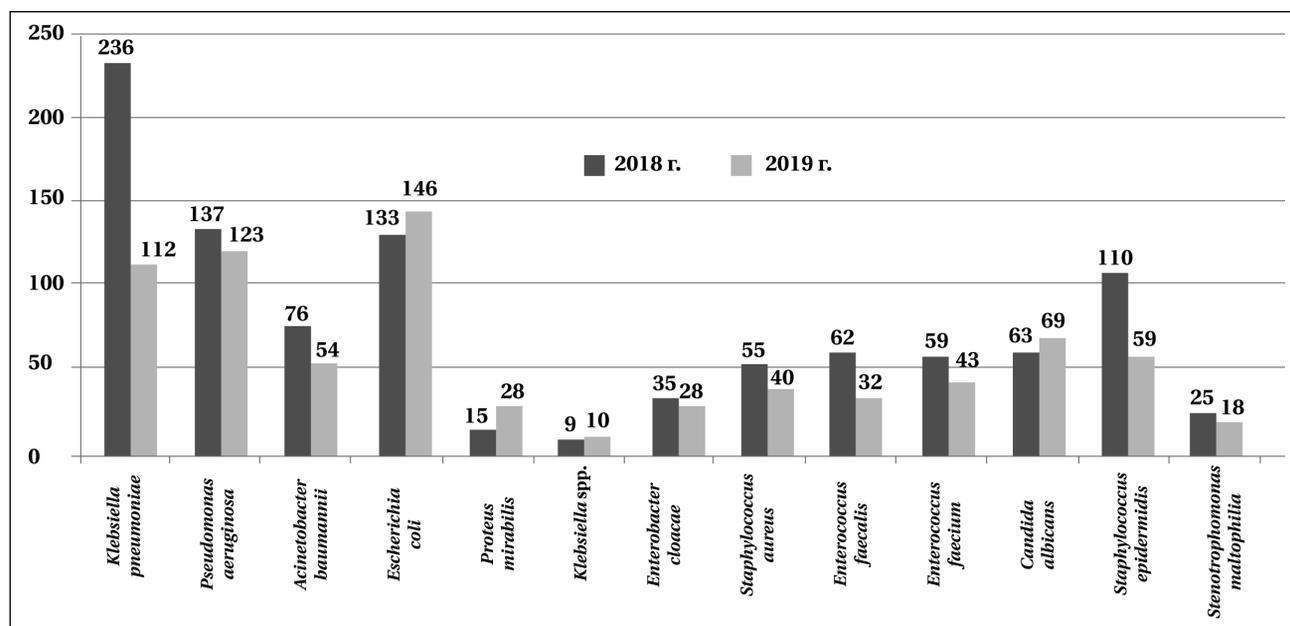


Рис. 1. Динамика изменения микробиологического пейзажа в Центре за 2018 и 2019 гг.

Таблица 5. Динамика изменения частоты выявления резистентных изолятов в стационаре за 2017–2019 гг.

Возбудитель	Частота резистентных изолятов, 2017 г.	Частота резистентных изолятов, 2018 г.	Частота резистентных изолятов, 2019 г.	△ изменения частоты резистентных штаммов 2017–2019 гг.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,47	0,48	0,33	0,14
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,7	0,53	0,48	0,22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,48	0,28	0,23	0,25
<i>Escherichia coli</i>	0,32	0,25	0,29	0,03
<i>Proteus mirabilis</i>	0,37	0,3	0,32	0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	0,38	0,42	0,27	0,11
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,33	0,3	0,18	0,15
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,2	0,14	0,19	0,01
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,23	0,2	0,05	0,18
<i>Enterococcus faecium</i>	0,37	0,3	0,16	0,21

*aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (рис. 1).

Отмечается тенденция к снижению числа *K.pneumoniae* — на 52,5%, *P.aeruginosa* — на 10,2%, *A.baumannii* — на 28,9%, *E.faecalis* — на 48,4%, *S.epidermidis* methicillin-resistant — на 46,4%.

По результатам расчётов представлена динамика изменения числа резистентных штаммов за анализируемый период (табл. 5).

Отмечена значимая динамика снижения числа резистентных штаммов за период внедрения периоперационной антибактериальной профилактики, одной из дополнительных ступеней программы СКАТ: динамика снижения частоты выявления резистентных штаммов *K.pneumoniae* составила 0,14, *A.baumannii* — 0,22, *Klebsiella spp.* — 0,11, *E.cloacae* — 0,15, *E.faecalis* — 0,18, *E.faecium* — 0,21.

По результатам микробиологических исследований подсчитан индекс лекарственной устойчивости (ИЛУ), учитывая необходимость анализа ИЛУ до введения периоперационной профилактики, в расчёты включены данные за 2018 и 2019 гг. (табл. 6).

В результате исследования было выявлено снижение ИЛУ за 2019 г. по преобладающим патогенным возбудителям: *K.pneumoniae* (0,23), *P.aeruginosa* (0,12), *A.baumannii* (0,25), *S.aureus* (0,08). Однако отмечена некоторая тенденция повышения ИЛУ среди *Klebsiella spp.* (0,41), *E.cloacae* (0,22) (рис. 2).

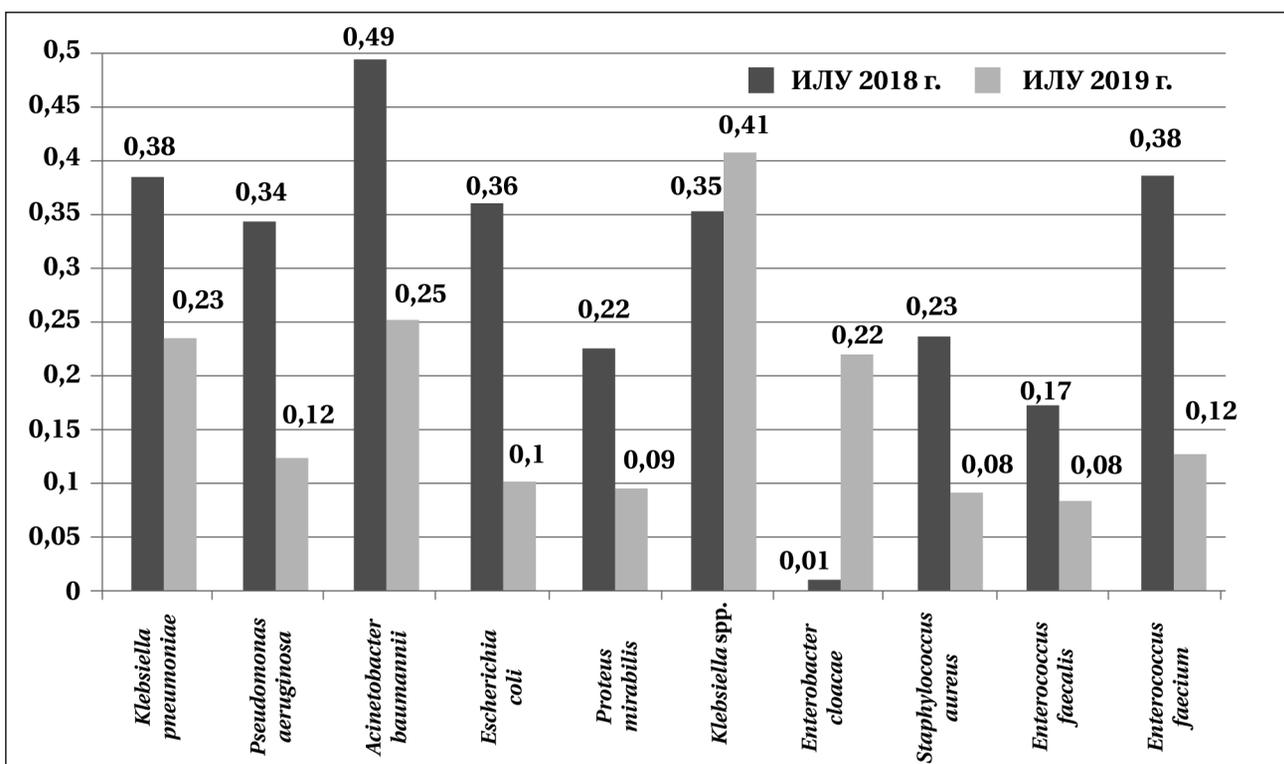
Наши результаты согласуются с результатами исследований V. M. Manikal и др. и G. Saurina и др. [10, 11], которые подтверждают зависимость между использованием цефалоспоринов и риском колонизации или инфекции, вызванной БЛРС-продуцирующими штаммами энтеробактерий. Результаты показали, что потребление цефалоспоринов и азтреонама прямо коррелирует с частотой выявления БЛРС-продуцирующей *K.pneumoniae* и полирезистентного *A.baumannii* [10].

Другие исследования также продемонстрировали зависимость между предшествующим использованием цефалоспоринов III поколения, фторхинолонов и риском инфекции или колонизации БЛРС-продуцирующими энтеробактериями [12, 13].

**Таблица 6.** Динамика изменения индекса лекарственной устойчивости в результате внедрения системы СКАТ

Возбудитель	Индекс лекарственной устойчивости, 2018 г.	Индекс лекарственной устойчивости, 2019 г.	p-value
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,38	0,23	3,66 E-13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,34	0,12	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,49	0,25	
<i>Escherichia coli</i>	0,36	0,1	
<i>Proteus mirabilis</i>	0,22	0,09	
<i>Klebsiella spp.</i>	0,35	0,41	
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,01	0,22	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,23	0,08	
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,17	0,08	
<i>Enterococcus faecium</i>	0,38	0,12	

**Примечание.** p-value рассчитывался с помощью точного критерия Фишера (< 0,05).

**Рис. 2.** Динамика снижения индекса лекарственной устойчивости за 2018 и 2019 гг.

В проспективных исследованиях, в которые были включены 12 больниц по всему миру и 13 больниц в Испании, также показано, что использование цефалоспоринов является фактором риска развития инфекций, вызванных БЛРС-продуцирующими *K.pneumoniae* и *E.coli* (ОШ = 3,9 и 6,0, соответственно) [13]. Терапия цефалоспоридами в предшествующие 30 дней также является независимым фактором риска инфицирования стабильно дерепрессированными продуцентами бета-лактамаз класса AmpC (*K.pneumoniae* и *E.coli*), что было убедительно продемонстрировано в исследовании типа «случай–контроль», проведенном в многопрофильном стационаре [13].

Вместе с Распоряжением Правительства Российской Федерации [3], во все медицинские организации должна войти СКАТ, это поможет

всем специалистам расширить знания по вопросам антимикробной резистентности. Только всесторонний подход, надёжный сбор данных имеют решающее значение в контроле и борьбе с резистентностью. Текущее беспокойство по поводу данной проблемы, по нашему мнению, связано с неадекватной информацией на уровне медицинских организаций.

В настоящий момент никто не может с уверенностью предсказать будущий сценарий, но в условиях дефицита новых антибиотиков, контроль антимикробной резистентности кажется основной и очень трудной задачей, реализуемой в рамках стратегии. Должны быть приняты все меры по ознакомлению с данной стратегией на уровне медицинских и ветеринарных ВУЗов, на фармацевтических факультетах,

что впоследствии может положительным образом сказаться на более быстром внедрении и реализации контроля на уровне каждого объекта [14].

Глобальный и междисциплинарный подход должен быть рассмотрен для разработки новых инструментов скрининга и диагностики, учитывая экологические аспекты [15].

Постоянный инфекционный контроль, выявление новых резистентных штаммов, распространение их по территории может влиять на сдерживание дальнейшего развития антимикробной резистентности в мире.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения. Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам. Женева, Швейцария. 2016. — С. — 40. / *Vsemirnaya organizatsiya zdavoookhraneniya. Global'nyj plan dejstvij po bor'be s ustojchivost'ju k protivomikrobnym preparatam. Zheneva, Shvejtsariya. 2016; 40.* [in Russian]
2. Положения Политической декларации заседания высокого уровня Генеральной Ассамблеи по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам, принятой на 71-й сессии Генеральной Ассамблеи Организации Объединенных Наций (резолюция A/RES/71/3 от 5 октября 2016 г.). / *Polozheniya Politicheskoy deklaratsii zasedaniya vysokogo urovnya General'noj Assamblei po probleme ustojchivosti k protivomikrobnym preparatam, prinyatoj na 71-j sessii General'noj Assamblei Organizatsii Ob#edinennykh Natsij (rezoljutsiya A/RES/71/3 ot 5 oktyabrya 2016 g.).* [in Russian]
3. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «О Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г». / *Rasporyazhenie Pravitel'stva Rossijskoj Federatsii ot 25 sentyabrya 2017 g. № 2045-r «O Strategii preduprezhdeniya rasprostraneniya antimikrobnnoj rezistentnosti v RF na period do 2030 g».* [in Russian]
4. *Dellit T.H., Owens R.C., McGowan J.E., Gerding D.N, Weinstein R.A., Burke J.P. et al.* Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Antimicrobial Stewardship Guidelines. CID 2007; 44: 159–1778.*
5. *Яковлев С.В., Брико Н.И., Сидоренко С.В., Проценко Д.Н.* Программа SKAT (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи Российские клинические рекомендации. М.: 2018. — С. 1–156. / *Yakovlev S.V., Briko N.I., Sidorenko S.V., Protsenko D.N.* Programma SKAT (Strategiya Kontrolya Antimikrobnnoj Terapii) pri okazanii stacionarnoj meditsinskoj pomoshchi Rossijskie klinicheskie rekomendatsii. M.: 2018; 1–156. [in Russian]
6. *Елисева Е.В., Гайнуллина Ю.И., Гельцер Б.И.* Управление качеством в сфере применения антибактериальных препаратов. Владивосток: Дальнаука, 2010. — С. 180. / *Eliseeva E.V., Gajnullina Ju.I., Gel'iser*

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Чукина Мария Александровна* — врач-клинический фармаколог, ФГБНУ Российский научный центр хирургии им. академика Б. В. Петровского, ассистент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

*Вистовская Наталья Владимировна* — врач-клинический фармаколог, ФГБНУ Российский научный центр хирургии им. академика Б. В. Петровского, Москва. ORCID — 0000-0002-0864-5837

*Лукина Мария Владимировна* — к. м. н., ассистент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних

## Заключение

Предложенные меры внедрения программы SKAT на уровне медицинской организации снижают частоту развития инфекционных осложнений и локального уровня индекса лекарственной устойчивости для наиболее клинически значимых штаммов возбудителей ИСМП: *K.pneumoniae* — 0,14, *A.baumannii* — 0,22, *Klebsiella spp.* — 0,11, *E.cloacae* — 0,15, *E.faecalis* — 0,18, *E.faecium* — 0,21

**Финансирование:** нет.

7. *Асланов Б.И., Зуева Л.П., Колосовская Е.Н.* Принципы организации периоперационной антибиотикопрофилактики в учреждениях здравоохранения. Федеральные клинические рекомендации. М.: 2014. — С. 1–42. / *Aslanov B.I., Zueva L.P., Kolosovskaya E.N.* Printsipy organizatsii perioperatsionnoj antibiotikoprofilaktiki v uchrezhdeniyakh zdavoookhraneniya. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. M.: 2014; 1–42. [in Russian]
8. *Bratzler D.W., Dellinger E.P., Olsen K.M., Perl T.M., Auwaerter P.G., Bolon M.K.* Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Surgical infections 2013; 14 (1): 73–156.*
9. PRAC: Selezipag Under Review, Starts Antibiotic Safety Review, Megan Brooks, February 10, 2017. Available from: URL: <https://www.medscape.com/viewarticle/875648>
10. *Manikal V.M., Landman D., Saurina G. et al.* Endemic carbapenem-resistant Acinetobacter species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis 2000; 31: 101–106.*
11. *Saurina G., Quale J.M., Manikal V.M. et al.* Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brooklyn, NY: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *J Antimicrob Chemother 2000; 45: 895–898.*
12. FDA Drug Safety Communication: FDA advises restricting fluoroquinolone antibiotic use for certain uncomplicated infections; warns about disabling side effects that can occur together. 2016. Available from: URL: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-advises-restricting-fluoroquinolone-antibiotic-use-certain>
13. *Rodríguez-Baño J., Picón E., Gijón P. et al.* Risk factors and prognosis of nosocomial bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Escherichia coli. *J Clin Microbiol 2010; 48: 1726–1731.*
14. *Ventola C.L.* The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *PT 2015; 40 (4): 277–283.*
15. *Hoffman S.J., Caleo G.M., Daulaire N. et al.* Strategies for achieving global collective action on antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ 2015; 93 (12): 867–876.*

болезней лечебного факультета, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва. ORCID — 0000-0003-0032-2651

*Журавлева Марина Владимировна* — д. м. н., профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), заместитель директора Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, главный внештатный специалист клинический фармаколог Департамента здравоохранения города Москвы. ORCID — 0000-0002-9198-8661

## Особенности проведения доклинических исследований препаратов клеточной терапии

\*Е. В. МЕЛЬНИКОВА, М. Д. ХОРОЛЬСКИЙ, О. А. РАЧИНСКАЯ, В. А. МЕРКУЛОВ

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ, Москва

### Features of Preclinical Studies of Cell Therapy Products

\*E. V. MELNIKOVA, M. D. KHOROLSKY, O. A. RACHINSKAYA, V. A. MERKULOV

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

Доклинические исследования являются одним из важнейших этапов разработки препаратов для медицинского применения, в том числе препаратов клеточной терапии (в соответствии с законодательством Российской Федерации — биомедицинских клеточных продуктов), на основании результатов изучения специфической активности и безопасности которых регуляторные органы принимают решение о возможности проведения клинических исследований с целью вывода их на рынок. Национальные требования к проведению доклинических исследований препаратов клеточной терапии в целом соответствуют зарубежным, основным отличием является необходимость расширенной программы их проведения. В статье проанализированы аспекты доклинических исследований (объём, обоснование сокращённой программы, дизайн, используемые модели животных) некоторых препаратов клеточной терапии, разрешённых к применению в медицинской практике в США, Европейском союзе, Японии, Южной Кореи.

*Ключевые слова: клеточная терапия, биомедицинский клеточный продукт, доклинические исследования, фармакологические исследования, биораспределение, исследования токсичности, туморогенность.*

Preclinical studies are one of the most important stages in the development of drugs for medical use, including cell therapy products (in accordance with the legislation of the Russian Federation — biomedical cell products). Regulatory authorities decide on the possibility of conducting clinical trials in order to bring the medications to the market on the basis of the results of the study of their specific activity and safety. Russian requirements for preclinical studies of cell therapy products generally correspond to foreign ones, the main difference is the need for an expanded program of their conduct. The article analyzes the aspects of preclinical studies (scope, justification of the reduced program, design, animal models used) of some cell therapy products approved for use in medical practice in the United States, the European Union, Japan, and South Korea.

*Keywords: cell therapy, biomedical cell product, preclinical studies, pharmacological studies, biodistribution, toxicity studies, tumorigenicity.*

### Введение

В настоящее время развитие клеточных и генетических технологий является одним из приоритетных направлений развития медицины в мире и объектом для внимания со стороны государства, регуляторных органов и международных организаций. Вывод на рынок препаратов клеточной терапии (в том числе на основе генетически модифицированных клеток) предполагает поэтапную их разработку и обязательную оценку эффективности и безопасности в доклинических и клинических исследованиях. В России, в отличие от стран Европейского союза (ЕС), США, Японии, Южной Кореи, на сегодняшний день отсутствуют препараты клеточной терапии (в соответствии с национальным законодательством — биомедицинские клеточные продукты,

БМКП [1]), разрешённые к применению в медицинской практике, а также опыт по рассмотрению результатов их доклинических исследований (ДКИ). Требования к проведению ДКИ БМКП регламентированы Правилами надлежащей практики по работе с БМКП, утверждёнными приказом Минздрава России № 512н от 8 августа 2018 г. (далее Правила) [2]. Что касается других стран, необходимо отметить, что в открытых источниках информации доступны требования к проведению ДКИ препаратов клеточной терапии только регуляторных органов ЕС и США (EMA и FDA, соответственно).

### Требования регуляторных органов к проведению доклинических исследований: Европейский союз и США

До недавнего времени основными Руководствами, регламентирующими требования к ДКИ препаратов на основе клеток и тканей человека в

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: e-mail: MelnikovaEV@expmed.ru

странах Евросоюза и США, были Руководство по лекарственным препаратам на основе клеток (Guideline on human cell-based medicinal products) [3] и Руководство для отрасли «Доклиническая оценка экспериментальных препаратов для клеточной и генной терапии» (Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Product) [4], в соответствии с которыми этапы проведения ДКИ включают предварительные исследования (исследования *in vitro*, пилотные исследования *in vivo*, фармакологические исследования по подтверждению концепции) и итоговые (фармакодинамика, фармакокинетика/биораспределение, токсикологические исследования).

Однако в последнее время со стороны ЕМА и FDA наблюдается тенденция уточнения общих требований к проведению ДКИ с учётом накопленного опыта разработки и регистрации таких препаратов. Так, например, в 2019 г. в ЕМА активно обсуждались «Руководство по качеству, доклиническим и клиническим данным, требующимся для проведения клинических исследований препаратов передовой терапии» (Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials) и «Руководство по качеству, доклиническим и клиническим аспектам лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки» (Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells) [5, 6], которые включают следующие аспекты проведения ДКИ, отсутствующие в российской нормативной базе по БМКП:

1. Для определения достаточного объёма и продолжительности ДКИ должен применяться риск-ориентированный подход, включающий риски, связанные с самим препаратом, накопленными научными знаниями и клиническим опытом применения аналогичных типов продуктов. В случае, когда риски, связанные с клиническим использованием продукта, хорошо понятны и известны из предыдущего клинического опыта работы с соответствующими продуктами, программа ДКИ может быть адаптирована соответственно при условии, что риски являются управляемыми.

2. Степень и продолжительность воздействия препарата на организм существенно влияют на ожидаемые риски, связанные с его клиническим использованием. Например, если продукт предназначен для местного использования, то потребность в оценке системных эффектов довольно низка. Аналогично, если продукт сохраняется в организме короткое время, и не будет вызывать долгосрочных эффектов, продолжительность ДКИ безопасности может быть сокращена.

3. Потребность в исследованиях биораспределения зависит от пути введения и места дейст-

вия препарата. При системном введении данные о биораспределении необходимы. Потенциал распределения клеток считается ограниченным, если клетки структурно или физически содержатся, то есть производятся, на матрице или скаффолдах или применяются в ограниченном пространстве, закрытом, например, мембраной для предотвращения распределения клеток. В таких случаях данные о биологическом распределении могут не потребоваться. Структурная целостность «конструкции» препарата в месте его введения должна быть продемонстрирована для подтверждения отсутствия нецелевого попадания клеток [3, 5].

4. В ходе подтверждения безопасности препаратов клеточной терапии в ДКИ стандартные исследования канцерогенности на грызунах в течение их жизни, как правило, не требуется. Требование по определению риска возникновения опухоли подразумевает определение туморогенного потенциала клеточной линии, входящей в состав препарата, причём необходимо обратить внимание, что такие исследования чаще всего ограничиваются определением кариотипа, генетической стабильности и пролиферативного потенциала.

5. Данные ДКИ, которые могут быть предоставлены на более поздних стадиях разработки препаратов клеточной терапии в соответствии с Руководством [5]:

— долгосрочные данные по безопасности могут быть предоставлены для поддержки проведения последующих фаз КИ для препаратов, которые, как ожидается, сохраняются в организме в течение длительного периода времени, промежуточные или краткосрочные данные безопасности могут быть использованы для разрешения на первое применение в КИ;

— данные по токсичности повторных доз: клиническое исследование с многократным введением препарата может быть начато без ДКИ токсичности повторных доз при условии, что такие данные будут доступны прежде, чем человеку будет введена вторая доза (когда интервал дозирования очень велик или когда доказано выведение препарата из организма до следующего введения);

— окончательные данные по миграции или распределению по целевым и нецелевым органам, и долгосрочной персистенции могут быть представлены до применения препарата у большого числа пациентов;

— в некоторых случаях долгосрочные данные по туморогенности могут быть предоставлены перед использованием препарата у большого числа пациентов;

— оценка иммуногенности, если она не получена из предыдущих исследований подтверждения концепции или безопасности, может быть предоставлена на более поздних этапах;

— исследование репродуктивной токсичности, если ожидается воздействие на репродуктивную функцию и/или развитие, может быть представлено перед использованием препарата у большого числа пациентов.

Что касается проведения ДКИ препаратов клеточной терапии (БМКП) в соответствии с российским законодательством, то общие принципы проведения ДКИ соответствуют требованиям зарубежных руководств. Однако необходимо обратить внимание, что значительными отличиями национальных требований являются:

— отсутствие возможности замены ДКИ результатами клинического опыта с этим или аналогичным препаратом;

— невозможность поэтапного представления тех или иных данных ДКИ (в частности, исследования онкогенности исключают проведение краткосрочных тестов и должны быть предоставлены до проведения клинических исследований);

— сокращение программы ДКИ предусмотрено только в отдельных случаях для определённых типов БМКП (например, исследования онкогенности БМКП не проводятся только для препаратов, предназначенных для терапии местнораспространённых и метастатических злокачественных опухолей), в остальных случаях должен быть проведён предусмотренный Правилами объём ДКИ [2].

### **Опыт проведения доклинических исследований препаратов клеточной терапии, разрешённых к применению в разных странах мира**

При проведении анализа ДКИ препаратов клеточной терапии, разрешённых к применению в разных странах мира, была использована нормативная документация на разрешённые к медицинскому применению препараты, находящаяся на официальных сайтах регуляторных органов стран США, ЕС, Японии. Особое внимание было уделено дизайну и объёму проведённых ДКИ, виду моделей животных, обоснованию отсутствия тех или иных исследований, на основе которых препарат получил разрешение на проведение клинических исследований.

**Доклинические исследования препаратов клеточной терапии, содержащих генетически модифицированные клетки**

1. Препараты на основе Т-лимфоцитов, несущих химерные антигенные рецепторы (*Chimeric Antigen Receptors, CAR*): *KYMRIAH (Novartis, ЕС, США)* и *Yescarta (Kite Pharma, Gilead, ЕС, США)*

Препараты *KYMRIAH* и *Yescarta* представляют собой генетически модифицированные Т-клетки, в геном которых с помощью вирусных векторов введён ген, кодирующий CAR к CD19 (CD19 CAR

Т-клетки); предназначены для лечения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ).

Анализ документов на препарат *KYMRIAH*, находящихся на сайтах регуляторных органов США и ЕС, показал значительные отличия в объёме представленных данных ДКИ в заявках на регистрацию в FDA и ЕМА, в частности в заявке в FDA, представлен лишь перечень проведённых ДКИ с указанием кратких результатов (рис. 1) [7, 8]. В документах на препарат *KYMRIAH*, представленных на государственную регистрацию в ЕМА [9], помимо развёрнутого перечня и результатов проведённых ДКИ, содержится подробное описание разработки препарата: выбор промотора в конструкции для экспрессии химерного антигенного рецептора, костимулирующего домена, обуславливающего эффективность цитопатического эффекта, изучение профиля секретиремых цитокинов CAR CD4 и CD8 Т-клеток после стимуляции опухолевыми клетками [10]. В целом были представлены следующие результаты ДКИ препарата *KYMRIAH*, полученные *in vivo* на моделях животных:

1) Исследования по оптимизации дозы: все типы CD19 CAR Т-клеток (с различными исследуемыми костимуляторными доменами) показали высокую противолейкозную активность при дозе  $2 \times 10^6$  CD19 CAR Т-клеток, которые были введены через две недели после индукции острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у мышей.

2) Фармакокинетические исследования (биораспределение) проводили на иммунодефицитных мышах линии NOG (4 мыши/группа) после индукции ОЛЛ. Через три недели были введены CD19 CAR Т-клетки в дозах  $1 \times 10^6$ ,  $5 \times 10^6$  или  $20 \times 10^6$  клеток/кг.

Плановые умерщвления животных проводились на 42-е и 56-е сутки исследования (через 21 и 35 сут после введения Т-клеток). В последующие моменты времени животных выводили из эксперимента при необходимости или на 217-е сутки исследования. Через 21 и 35 сут после введения, CD19 CAR Т-клетки были обнаружены в селезёнке, лёгких и почках у всех животных, которым вводили  $20 \times 10^6$  клеток/кг, за исключением образца почки у одного животного (35 сут после дозы). В костном мозге CD19 CAR Т-клетки были обнаружены у всех животных на 35-е сутки после введения. При более низких дозах  $5 \times 10^6$  и  $1 \times 10^6$  клеток/кг Т-клетки были обнаружены в редких случаях и только в лёгких. На 217-е сутки исследования CD19 CAR Т-клетки были обнаружены в селезёнке, почках и костном мозге одного животного, которому вводили дозу  $5 \times 10^6$  клеток/кг.

3) Исследования токсичности введения однократной дозы, многократных доз, канцерогенности, репродуктивной токсичности не проводились.



Рис. 1. Дизайн доклинического исследования препарата KYMRIAH [7, 8].

Отсутствие исследований токсичности однократной дозы считается приемлемым, так как препарат является персонализированным (аутологичным) продуктом. Отсутствие исследований токсичности повторной дозы считается допустимым на основе того факта, что препарат будет вводиться в виде одной инфузии.

Стандартные исследования генотоксичности и канцерогенности на грызунах не подходят для оценки риска инсерционного мутагенеза для генетически модифицированных продуктов клеточной терапии. Альтернативных адекватных моделей животных не существует. Потенциальный риск инсерционного мутагенеза, приводящий к возможности развития вторичных злокачественных новообразований, оценивали путём анализа сайта интеграции лентивируса на образцах препарата KYMRIAH от 6 детей больных ОЛЛ (КИ ССТЛ019В2202), 6 пациентов с ДВККЛ (КИ ССТЛ019С2201) и 2 здоровых добровольцев. В целом, наблюдалась интеграция в привычные для лентивируса сайты [11, 12].

В лабораторных исследованиях сокультивирование CD19 CAR Т-клеток с клетками от здоровых доноров и пациентов показало отсутствие преобразования и/или иммортализации Т-клеток. Исследования *in vivo* у иммунодефицитных мышей продемонстрировали отсутствие признаков аномального роста клеток или возник-

новения клональности клеток в течение периода до 7 месяцев, что представляет собой самый длинный значимый период наблюдения для иммунокомпрометированных моделей мыши.

4) Отсутствие клинических эффектов, связанных с перекрёстной реактивностью на цели, отличные от CD19, было показано при проведении иммуногистохимии, гибридизации *in situ* и ОТ-ПЦР на тканях ЦНС человека и обезьян *Synomolgus* (исследования компании Novartis 1420055 и 1420059).

При рассмотрении отчёта о ДКИ экспертами ЕМА было признано приемлемым отсутствие соответствия токсикологических исследований правилам GLP ввиду того, что стандартные исследования токсичности однократной или повторных доз не могут быть выполнены из-за отсутствия релевантной модели животных. Кроме того, необходимо обратить внимание, что доклинические исследования *in vitro* и *in vivo* препарата KYMRIAH проводились с использованием опухолевых клеток от пациентов с ОЛЛ, но не с ДВККЛ. Отсутствие доклинических фармакологических исследований с клетками от пациентов с ДВККЛ считается приемлемым, исходя из клинического опыта с этим показанием.

Второй препарат на основе химерных антигенных рецепторов, разрешённый к применению в медицинской практике в США и ЕС — Yescarta

(Kite) по эффективности трансдукции и производственным характеристикам (скорость роста клеток, жизнеспособность, профиль секретируемых факторов) соответствует продукту КТЕ-С19, разработанному ранее в Национальном институте рака (NCI), США [13]. В ходе научных консультаций с FDA и EMA было решено, что доклинические исследования, проведённые с помощью CD19 CAR T-клеток, изготовленных в NCI, не должны повторяться компанией Kite при условии доказательств сопоставимости продуктов и процессов производства.

Заявитель представил *in vitro* и *in vivo* данные доклинической фармакологии для КТЕ-С19. Для *in vitro* оценки специфической активности против CD19 клеток-мишеней заявитель использовал CD19 CAR T-клетки от пациентов, которые были зарегистрированы в КИ, проведённых NCI. Специфичность и активность CD19 CAR T-клеток оценивали методом ELISA по их способности продуцировать IFN- $\gamma$  при сокультивировании с CD19-положительными или CD19-негативными клетками-мишенями. Характеристику, специфичность и цитотоксическое действие T-клеток, трансдуцированных конструкцией с CAR, оценивали на клетках хронического миелоидного лейкоза K562. Исследования по характеристике CD19 CAR T-клеток включали анализ трансдукции и фенотипа, специфичности и биологической активности аутологичных CD19 CAR T-клеток, полученных от 15 пациентов с неходжкинскими лимфомами в NCI. CD19 CAR T-клетки продуцировали IFN- $\gamma$  при сокультивировании с клеточной линией CD19-K562, экспрессирующей CD19 [14], а также 17 цитокинов (IL-2, IL-6, IL-13, фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), гранулоцитарный макрофагально-колониестимулирующий фактор (GM-CSF), IL-4, IL-5, IL-10, IFN- $\gamma$ , растворимый CD137, макрофагальные белки воспаления (MIP)-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$ , гранзим А, гранзим В, растворимый Fas-лиганд (sFASL), растворимый FAS (рецептор для sFASL) и перфорин), что свидетельствует о том, что CD19 CAR T-клетки от всех доноров показывают CD19-зависимую активацию и секрецию разнообразных биологических факторов в ответ на стимуляцию химерными антигенными рецепторами.

Доклинические исследования КТЕ-С19 были проведены при использовании гомологичного препарата мыши (в конструкции CAR человека домен scFv был заменён на домен из 1D3 mAb мыши, узнающий мышиный CD19) на иммунокомпетентных мышях. Мышине CD19 CAR T-клетки были введены сингенным мышам с индуцированной лимфомой для исследования их противоопухолевого эффекта. Кроме того, гомологичная модель препарата была исследована *in vitro* на активацию секреции цитокинов при со-

культивировании с клетками, секретирующими и не секретирующими CD19.

Специфическую активность определяли по способности CD19 CAR T-клеток как предотвращать, так и элиминировать развитие лимфомы (в том числе метастазирование): введение сингенным мышам гомологичного препарата как с профилактической, так и с терапевтической целью приводило к длительному выживанию мышей по сравнению с контролем, где животные быстро погибали от развития лимфомы.

В ходе фармакокинетических исследований изучение абсорбции не проводилось. Биораспределение изучали с использованием гомологичного препарата у сингенных мышей с лимфомой методом проточной цитометрии. Мышине CD19 CAR T-клетки обнаруживались в селезёнке через 8 сут, но не позднее 63 сут после применения препарата [15]. Таким образом, персистенция CD19 CAR T-клеток может быть продемонстрирована только в течение короткого промежутка времени, несмотря на продолжительный противоопухолевый эффект и гибель В-клеток до 209 сут (последний исследованный момент времени). Наличие CD19 CAR T-клеток мыши в селезёнке подтверждено в течение 8–63 сут после инфузии. Других доклинических фармакокинетических исследований не проводилось.

Токсикологические исследования при однократном введении заявителем не проводились из-за отсутствия соответствующей модели животного. Исследования влияния на здоровые В-клетки гомологичного препарата были совмещены с фармакологическими исследованиями на сингенных мышях, в результате которых наблюдалось длительное истощение нормальных В-клеток. Обнаружение токсических эффектов как при использовании гомологичного препарата, так и человеческого препарата затруднено из-за следующих ограничений: препараты могут демонстрировать различное нецелевое (off-target) распознавание других антигенов из-за различных доменов scFvs; использование человеческого препарата на иммунодефицитных мышях ограничено из-за потенциальных различий в перекрёстном распознавании несвязанных антигенов, различий в паттернах экспрессии антигенов и различий в выживании *in vivo*.

Исследования генотоксичности, канцерогенности, репродуктивной токсичности и других видов токсичности не проводились. Данные литературы свидетельствуют о низкой вероятности инсерционного мутагенеза ретровирусных векторов, используемых в препарате. Исследования репродуктивной токсичности не проводились из-за отсутствия моделей животных, однако риск признан минимальным в соответствии с Ру-

ководством по доклинической оценке возможности случайной передачи зародышевой линии векторов переноса генов [16].

Исследование побочных эффектов, связанных с неконтролируемой пролиферацией Т-клеток, синдромом лизиса опухолевых клеток, синдромом высвобождения цитокинов и синдромом активации макрофагов не может быть проведено в ДКИ, так как такая ожидаемая токсичность в значительной степени будет зависеть от индивидуальных особенностей пациента, например, от степени опухолевой нагрузки.

Таким образом, в результате анализа ДКИ препаратов на основе химерных антигенных рецепторов, разрешённых к применению в мире, можно сделать следующие выводы:

1) В качестве препарата при оценке специфической активности и биораспределения может быть использован как целевой препарат (предназначенный для применения пациентам, например, KYMRIAH) на иммунодефицитных мышцах, так и гомологичная модель препарата (в случае с препаратом Yescarta) на иммунокомпетентных животных. Преимуществами использования в ДКИ гомологичного препарата является отсутствие неспецифических ксеногенных иммунных реакций на клетки человека у мышей или отсутствие сложных взаимодействий CD19 CAR Т-клеток с другими компонентами иммунной системы животного. Недостатками гомологичной модели препарата на основе химерных антигенных рецепторов являются отличия от препарата человека аффинность домена scFv, получение трансдуцированных клеток, состав подмножеств Т-клеток, различия в паттернах экспрессии антигенов и различия в выживании *in vivo*.

2) ДКИ препаратов включали исследования *in vitro*: анализ специфичности CD19-связывающего домена с использованием плазмы человека; изучение профиля секретируемых цитокинов CAR-Т клеток после стимуляции опухолевыми клетками.

3) ДКИ препаратов включали исследования *in vivo* (на мышцах):

- исследования по оптимизации дозы;
- специфическая (противоопухолевая) активность (по способности анти-CD19 CAR-Т клеток как предотвращать, так и элиминировать развитие лимфомы (в том числе метастазирование));
- фармакокинетические исследования (биораспределение);
- стандартные исследования токсичности однократной или многократных доз не были выполнены вследствие аутологичного однократного применения препаратов.

4) Потенциальный риск инсерционного мутагенеза оценивали при сокультивировании

CAR+ Т-клеток с клетками от здоровых доноров и пациентов. Риск трансформации и/или иммортизации Т-клеток выявлен не был.

**2. Препараты на основе генетически модифицированных гематopoэтических стволовых клеток, трансдуцированных вирусным вектором с целевым геном: Strimvelis (GSK, EC) и Zynteglo (bluebird bio, EC)**

В ходе ДКИ препарата Strimvelis на основе генетически модифицированных клеток (CD34+ клетки, трансдуцированные ретровирусным вектором GSK3336223, несущим ген фермента аденозиндезаминазы, ADA) для лечения тяжёлого комбинированного иммунодефицита, связанного с недостатком фермента ADA, были проведены фармакологические исследования *in vitro* по оценке уровня экспрессии целевого гена и активности фермента ADA. Культуральную среду с вектором GSK3336223 тестировали на способность трансфицировать ген ADA в прогениторные клетки ADA-негативных мышей, в результате чего была подтверждена активность фермента ADA в трансдуцированных клетках через неделю после трансдукции (15–36% от нормального уровня ADA в клетках костного мозга) [17].

Исследования специфической активности *in vivo* были проведены на моделях с использованием новорождённых иммунодефицитных мышей, характеризующихся отсутствием В-, Т- и NK-клеток. Мышам вводились CD34+ клетки из костного мозга (КМ) пациентов с недостатком ADA, трансдуцированные вектором, несущим ген фермента. Показано, что трансдуцированные клетки проникали в КМ животных и дифференцировались в Т- (CD4+ и CD8+) или В- (CD19+) лимфоциты в органах иммунной системы (тимусе, КМ, селезёнке), а также циркулировали в периферической крови. Вторичные фармакодинамические исследования не проводились из-за невозможности установления корреляционной связи результатов исследований на животных моделях с ожидаемыми результатами от введения препарата человеку. Исследования токсичности однократной и многократных доз, а также генотоксичности не проводились. Общая токсичность была оценена в исследовании биораспределения на мышцах. В ходе рассмотрения отчёта о ДКИ ЕМА был признан риск инсерционного мутагенеза, однако отсутствие моделей животных для длительного приживания трансдуцированных клеток (более 6 мес.) затрудняет его оценку. В качестве доказательства безопасности препарата были учтены результаты клинического опыта его применения: ни у одного из 18 пациентов (срок наблюдения от 6 до 13 лет), получавших препарат, не наблюдалось появление злокачественных новообразований [17].

Препарат Zynteglo представляет собой CD34+ клетки, генетически модифицированные

лентивирусным вектором, экспрессирующим ген  $\beta$ A-T87Q-глобина, и предназначен для лечения  $\beta$ -талассемии. В ходе ДКИ *in vivo* Zynteglo были использованы следующие модели [18]:

- гомологичный препарат на основе клеток КМ мышей с заболеванием ( $\beta$ -талассемией), трансдуцированных лентивирусным вектором BB305 (используется при производстве препарата) на иммунокомпетентных мышцах с  $\beta$ -талассемией;
- препарат на основе клеток КМ здоровых доноров, трансдуцированных лентивирусным вектором BB305 на иммунодефицитных мышцах SCID NOD (NSG).

ДКИ препарата Zynteglo включали: *in vitro* исследования по доказательству концепции (эффективность трансдукции), туморогенности и генотоксичности, *in vivo* фармакологические исследования и биораспределение. Исследования токсичности однократной дозы и местной токсичности были совмещены с фармакологическими исследованиями, никаких токсических эффектов в исследованных дозах ( $11 \times 10^6$ ,  $240 \times 10^6$  клеток/кг для гомологичного препарата и  $42 \times 10^6$ ,  $50 \times 10^6$  клеток/кг для препарата на основе клеток человека) и реакций в месте введения не наблюдалось.

В ходе ДКИ препарата не проводились:

- исследования вторичной фармакодинамики, что считается приемлемым, поскольку вторичные фармакодинамические эффекты препарата (нормализация содержания  $\beta$ -глобина, уровня общего гемоглобина и гематологических параметров, коррекция фенотипа) оценивали в основных фармакологических исследованиях на модели заболевания у мышей;

- исследования фармакологической безопасности, что считается приемлемым, поскольку ни в одном исследовании *in vivo* не было выявлено неблагоприятных воздействий на кровеносную, дыхательную, нервную или пищеварительную системы;

- долгосрочные исследования канцерогенности, поскольку препарат относится к препаратам передовой терапии, для которых данные исследования перед первым применением у человека не требуются;

- исследования репродуктивной токсичности из-за наличия противопоказания применения препарата беременным женщинам;

- исследования токсичности многократных доз в связи с однократным применением препарата;

- исследования иммунотоксичности и иммуногенности. Иммуногенность  $\beta$ A-T87Q-глобина отсутствует, пациенты во время лечения получают иммуносупрессивные препараты (кондиционирование бусульфамом), а применение препарата предполагает однократное введение.

При использовании гомологичного препарата

для определения специфической активности было выявлено, что у 92% животных, которым был применён препарат при внутривенном введении, приживление донорских клеток составило более 80%. При исследовании биораспределения как гомологичного препарата, так и препарата на основе клеток человека, было показано наличие генетически модифицированных клеток в КМ и периферической крови и их отсутствие в селезёнке, тимусе и лимфатических узлах.

Мутагенный и туморогенный потенциал, а также генотоксичность препарата Zynteglo были исследованы *in vitro*. Последовательности лентивируса были обнаружены внутри или рядом с шестью генами, которые не связаны с индукцией злокачественных новообразований. В качестве дополнительных сведений об отсутствии туморогенного потенциала, были представлены сведения о 10 пациентах, пролеченных препаратом, у которых отсутствовали до настоящего времени клональные перестройки в хромосомах и злокачественные новообразования.

В ходе исследований генотоксичности гомологичного препарата *in vivo* на мышцах через 4 и 6 мес. после введения препарата не было выявлено также признаков клональности или наличия опухолевого роста [18].

Таким образом, в результате анализа ДКИ препаратов для лечения генетических заболеваний Strimvelis и Zynteglo можно сделать следующие выводы:

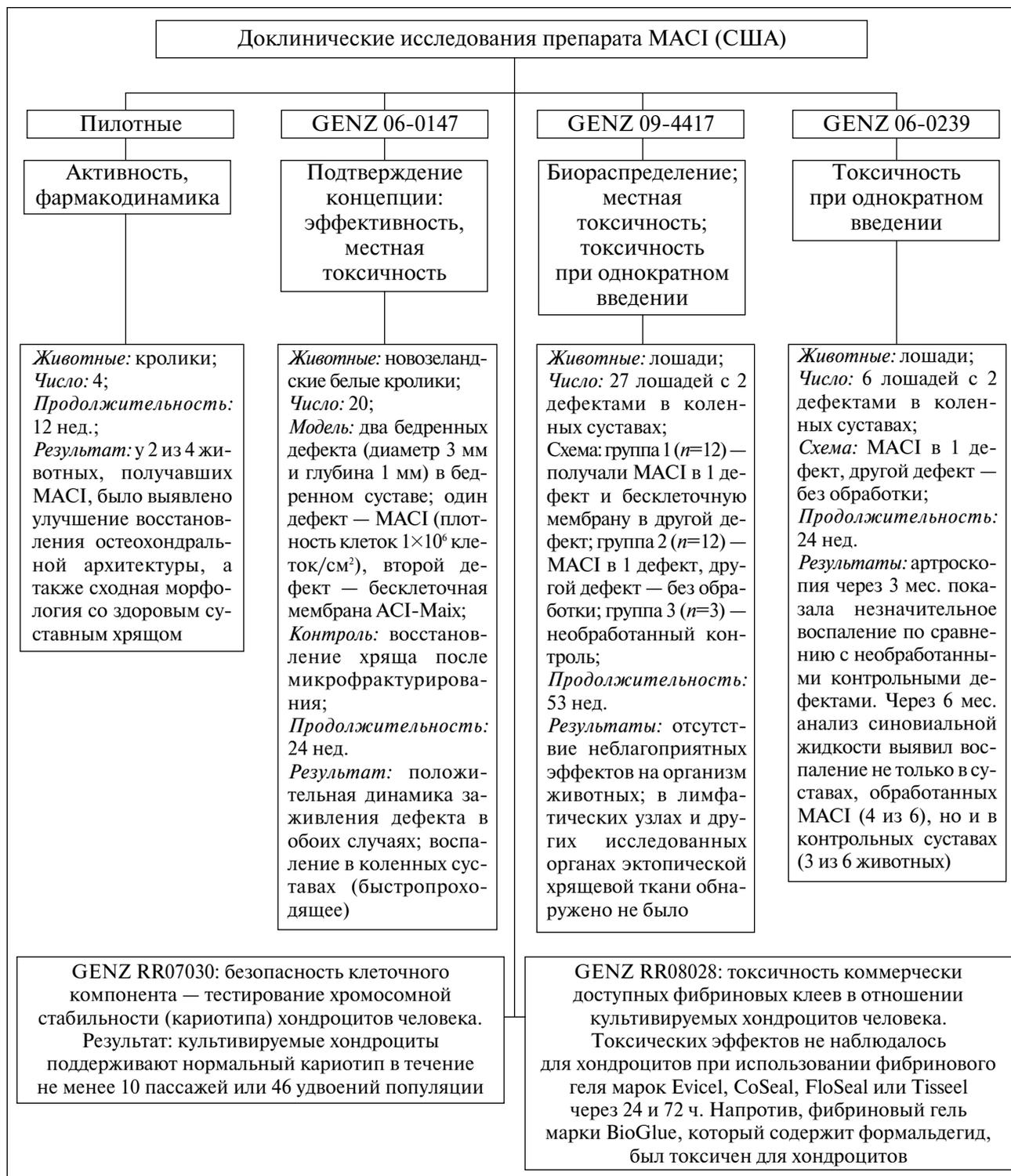
1) ДКИ препаратов на основе генетически модифицированных гематопоетических стволовых клеток, трансдуцированных вирусным вектором с целевым геном, содержат широкий перечень исследований. Для этой группы препаратов являются актуальными доказательства эффективности трансдукции вирусным вектором и исследования генотоксичности (проведено для Zynteglo).

2) Исследования осуществлялись с использованием как гомологичных препаратов на иммунокомпромиссных животных, так и целевого клинического продукта на иммунодефицитных грызунах. При этом большое значение имели *in vitro* модели, особенно в случае доказательства специфической активности препарата.

3) В связи с тем, что подобные препараты предназначены для лечения заболеваний, отнесенных к «необеспеченной медицинской потребности», ряд ДКИ был заменен данными КИ.

**Доклинические исследования препаратов клеточной терапии, содержащих дифференцированные клетки**

1. Препараты клеточной терапии на основе хондроцитов для лечения дефектов хряща коленного сустава: MACI (Vericel Corporation, США) и Spherex (Co.don AG, ЕС)



**Рис. 2. Дизайн доклинических исследований препарата MACI (США)**

Препарат MACI представляет собой аутологичные хондроциты на свиной коллагеновой мембране с плотностью от  $5 \times 10^5$  до  $1 \times 10^6$  клеток на см<sup>2</sup>/мембраны, которая в ходе имплантации фиксируется с помощью фибринового клея. Форма и размер импланта может корректироваться в ходе процедуры применения.

В ходе ДКИ MACI использовались гомологичные препараты на основе хондроцитов, полу-

ченных от животных [19]. Дизайн ДКИ представ-  
 лен на рис. 2.

При проведении ДКИ препарата MACI были проведены не только исследования конечного продукта (клетки на коллагеновой мембране), но и исследовались возможные токсические эффекты самого носителя (мембраны) и средства фиксации (фибринового геля разных марок) на хондроциты [19].

В виду локальности действия МАСІ классические фармакокинетические исследования не проводились. МАСІ предназначен для однократной имплантации в колено. Таким образом, в соответствии с руководством по продуктам на основе клеток человека исследования токсичности при повторных дозах считаются нецелесообразными [3]. Исследования генотоксичности не проводились, поскольку клетки в составе МАСІ не взаимодействуют непосредственно с геномом клеток реципиента.

Препарат Spheroх представляет собой трёхмерные сфероиды хондроцитов [20]. Сравнительный анализ хондроцитов от разных видов животных показал, что только клетки ограниченного числа животных, включая карликовых свиней и овец, были способны производить стабильные сфероиды, что и обусловило их использование в качестве моделей в ДКИ.

Биораспределение оценивали в соответствии с документами ЕМА [3, 21] с использованием иммунодефицитных мышей линии NSG и препарата, предназначенного для человека, имплантированного подкожно в спину в течение четырёх недель. Кроме того, при долгосрочном наблюдении не было выявлено никаких признаков системного распределения клеток, образования опухоли или эктопической ткани через 6 мес. в печени, лимфатических узлах, лёгких, селезёнке и почках. При оценке биораспределения на овцах (3 животных) имплантацию флуоресцентно меченых сфероидов проводили в один коленный сустав, а для оценки адгезии клеток в контрлатеральный сустав осуществляли инъекцию немеченых сфероидов. Это исследование показало, что сфероиды сохраняются в суставе. Однако в исследовании было задействовано небольшое количество животных и применялись аллогенные клетки, иммунный ответ на которые может ограничивать потенциал биораспределения клеток сфероидов.

Исследования фармакологического действия и вторичной фармакодинамики не проводили, учитывая, что продукт состоит из аутологичных хондроцитов, которые имплантируются локально — в их естественную среду, также клетки не выделяют никаких веществ, которые могли бы повлиять на жизненно важные функции органов.

Традиционные токсикологические исследования препарата не проводились, учитывая то, что продукт является аутологичным, а его производство происходит без использования факторов роста или других внешних стимулов, которые требуют проверки безопасности.

2. *Препараты клеточной терапии на основе кератиноцитов: Gintuit (Organogenesis Incorporated, США) и JACE (Japan Tissue Engineering Co., Ltd. (J-TEC), Япония)*

Препарат Gintuit (Allogeneic Cultured Keratinocytes and Fibroblasts in Bovine Collagen)

(Organogenesis), представляющий собой пластинку округлой формы, содержащую  $4 \times 10^6$  аллогенных кератиноцитов и фибробластов, белков внеклеточного матрикса и бычьего коллагена. Gintuit применяется в стоматологии для восстановления дефектов слизистой оболочки десны за счёт продуцирования кератиноцитами и фибробластами различных факторов роста, цитокинов и белков внеклеточного матрикса [22]. Разрешён к применению в 2010 г., является аналогом препарата Apligraf, предназначенным для лечения диабетических язв стопы и применяющимся в клинической практике с 1998 г. [23]. Поэтому фармакокинетические исследования, исследования острой и хронической токсичности, генотоксичности, канцерогенности, репродуктивной токсичности и иммунотоксичности не проводились в связи с природой Gintuit и обширным клиническим опытом Apligraf. Однако, учитывая разные показания к применению препаратов, в отчёте о ДКИ Gintuit представлены данные проведённых исследований совместимости клеточного компонента с материалами, используемыми в стоматологии (например, Barricaid и Сое-РакТМ, раствором для полоскания — 0,12% раствор хлоргексидина).

Тестирование на биосовместимость клеточного и неклеточного компонентов препарата включало: тесты на общую безопасность, цитотоксичность, сенсибилизацию, реактивность/раздражение при внутривенном введении, системную токсичность (острая и подострая), субхроническую токсичность и гемосовместимость. Тестирование биосовместимости не выявило каких-либо значительных проблем безопасности [23].

ДКИ препарата JACE (аутоотрансплантат на основе кератиноцитов, полученный по методике Грина) включали преимущественно *in vitro* тесты и ограниченные исследования *in vivo*:

- кариологический анализ образцов кератиноцитов на 1 и 5 пассажах хромосомных нарушений не выявил, в одном случае была выявлена хромосомная аномалия (транслокация) у клеток на 5 пассаже;

- тест колониеобразования в жидком агаре не выявил злокачественной трансформации клеток;

- пролиферативная активность была оценена на разных этапах процесса производства препарата для двух пациентов КИ;

- оценка туморогенности *in vivo*: при инокуляции иммунодефицитных мышей тремя образцами кератиноцитов образования опухолей не наблюдалось [24].

3. *Доклинические исследования препарата на основе миобластов — Heartsheet (Terumo Corporation, Япония)*

Препарат Heartsheet предназначен для лечения острой сердечной недостаточности. В ДКИ на модели карликовых свиней было показано,

что клеточный слой скелетных миобластов улучшает систолическую функцию левого желудочка. ДКИ включали: исследование системной токсичности и туморогенности на мышах линии NOG, анализ кариотипа и анализ колоний в жидком агаре [25]. В исследовании эффективности на модели сердечной недостаточности у карликовых свиней оценивали риск желудочковой аритмии после применения препарата. Миобласты ( $1,2 \times 10^6$  клеток/животное,  $6 \times 10^7$  клеток/кг) трансплантировали в количестве, в 10 раз превышающем клиническую дозу ( $6 \times 10^6$  клеток/кг), на поверхность сердца самцов и самок мышей линии NOG. В качестве контроля использовали группу ложнооперированных животных и группу без лечения.

Исследования туморогенности проводили на 6 самцах мышей линии NOG при подкожном введении ( $3,0 \times 10^7$  клеток/животное,  $1,5 \times 10^9$  клеток/кг). Через 3 мес. после трансплантации гистологическое исследование не выявило опухолевых образований в месте трансплантации, лёгких, печени, почках или селезёнке. Также был проведён анализ кариотипов культивируемых линий для выявления признаков генетической нестабильности.

Таким образом, в результате анализа ДКИ препаратов, основанных на использовании дифференцированных клеток, разрешённых к применению в мире, можно сделать следующие выводы:

1) Для проведения ДКИ препаратов, содержащих дифференцированные клетки, использовались как *in vitro*, так и *in vivo* модели, включавшие иммунокомпетентных животных для исследования целевого клинического продукта и иммунокомпромиссных животных для исследования гомологичного продукта. Исследования препаратов Spherex и Heartsheet проводились на животных нескольких видов.

2) Для подтверждения безопасности препарата проводились разносторонние исследования как на *in vitro* моделях, так и на животных. Несмотря на достаточно подтверждённую стабильность дифференцированных клеток в культуре и невысокий риск их злокачественной трансформации, для большинства препаратов осуществлялась оценка туморогенности.

3) В связи с тем, что для многих препаратов из этой группы свойственно применение внеклеточных компонентов (матриц, подложек и др) отдельно проводились исследования по подтверждению их безопасности, а также биосовместимости с клеточным компонентом.

4) Часто исследования биораспределения, вторичной фармакологии, репродуктивной токсичности и иммунотоксичности не проводились из-за преобладающего локального действия этих препаратов, исследования генотоксичности — из-за от-

сутствия способности клеточных продуктов оказывать воздействие на геном клеток реципиента.

5) Сокращение ДКИ, в том числе токсикологических исследований, объяснялось аутологичной природой клеточного материала, производством без использования дополнительных веществ, а также наличием обширного клинического опыта применения непосредственно исследуемого препарата или его аналогов.

**Доклинические исследования препаратов на основе стволовых клеток**

1. *Препарат на основе стволовых клеток из лимба роговицы — Holoclar (Holostem Terapie Avanzate S.R.L, ЕС)*

Отчет о ДКИ препарата Holoclar при подаче заявки на регистрацию включал оценку опубликованных данных в научной литературе в сочетании с программой тестирования препарата и конечного продукта на производстве. Кроме того, обоснование сокращённой программы ДКИ (отсутствие исследований первичной и вторичной фармакологии, фармакодинамики, токсикологических исследований) включало ссылку на опыт, полученный при клиническом использовании стволовых клеток из лимба роговицы в течение более 30 лет, и в частности препарата Holoclar, который использовался в клинической практике с 1998 г., а также отсутствие адекватных моделей животных из-за различий в структуре глаза большинства млекопитающих [26].

Литературные данные доказательства механизма действия включали результаты исследования на крысах, которые показали, что стволовые клетки на фибриновой подложке служат основой для замены и регенерации эпителия роговицы [27].

Фармакокинетические исследования: классические исследования по абсорбции, распределению, метаболизму и элиминации не проводились в соответствии с Руководством [3]. Некоторые подтверждающие доказательства отсутствия клеточной миграции были доступны из опубликованных данных [27, 28]. Помимо этого, миграция из области приживления считалась маловероятной из-за адгезионной зависимости нормальных эпителиальных клеток.

Кроме того, предлагаемое лечение препаратом представляет собой однократную местную заместительную терапию без системного эффекта. Трансплантированные клетки локализуются только на поверхности глаза. Для подтверждения отсутствия инвазии культивируемых клеток в базальные глазные структуры в отчёте ДКИ были предоставлены данные гистологического анализа срезов роговицы от пациентов, получавших препарат и перенёвших перфорационную кератопластику. Эти данные входили в оценку клинической безопасности. В дополнение были представлены данные литературы о сохранении целостно-

сти трансплантируемого препарата, полученные на бестимусных мышях [27, 28].

Характеристику канцерогенного потенциала клеток, входящих в состав препарата Holoclar, оценивали методами кариотипирования и анализом роста колоний в жидком агаре. Этим же исследованиям подвергалась и фидерная линия клеток мышей 3T3-J2, используемая при производстве препарата.

2. *Препараты на основе мезенхимальных стволовых клеток: Alofisel (Takeda Pharma A/S, ЕС) и Temcell (Prochymal) (JCR Pharmaceuticals Co., Ltd, Япония)*

Механизм действия препарата Alofisel (МСК жировой ткани (ЖТ)) для лечения параректальных свищей при болезни Крона основан на иммуномодулирующих и противовоспалительных свойствах МСК. С клетками МСК ЖТ, входящими в состав препарата, была проведена обширная программа ДКИ (таблица) [29].

Механизм действия препарата Temcell (ранее был зарегистрирован в Канаде под названием

Prochymal [36]) на основе МСК КМ для лечения «реакции трансплантат против хозяина» (РТПХ) после пересадки костного мозга при онкологических заболеваниях основан на выделении кортикостероидных гормонов, обладающих иммуносупрессивным действием. По некоторым данным, МСК также уменьшают активацию Т-клеток и таким образом подавляют иммунные механизмы [33, 34]. В рамках ДКИ препарата Temcell была изучена активность, биораспределение и токсичность при однократном и многократном введении (таблица) [33–35, 37, 38].

3. *Препарат на основе фибробластов LAVIV (Fibrocell, США)*

Классические ДКИ препарата для применения в косметологии LAVIV для устранения носогубных складок и морщин, точный механизм действия которого не установлен, но предположительно связан с действием секретируемого фибробластами коллагена, не проводились ввиду отсутствия модели животных, имитирующей морщины и носогубные складки [39].

**Программа доклинических исследований препаратов на основе мезенхимальных стволовых клеток**

Препарат	Alofisel	Temcell
Активность	Животные: мыши с моделируемым заболеванием. Способ введения: при введении внутрибрюшинно $3 \times 10^5$ или $1 \times 10^6$ . Параметры оценки: уровни воспалительных, противовоспалительных цитокинов, хемокинов и ингибирующего макрофаги белка 2 (MIP-2); роль МСК в индукции клеток Treg <i>in vivo</i> [29]	<i>In vitro</i> : иммуномодулирующий эффект, миграционную способность и иммуногенность КМ. Исследования <i>in vivo</i> не проводились из-за отсутствия подходящей модели животных [30–32]
Биораспределение	Животные: бестимусные иммунодефицитные крысы. Доза, кратность введения: $5 \times 10^6$ МСК, дважды с 2-недельным интервалом. Способы введения: комбинация перианального и интра ректального введения (предполагаемый клинический путь введения), внутривенно (системное введение), интравагинально. Параметры оценки: распределение введенных МСК ЖТ контролировали на 1–2-е, 14-е, 90–91-е, 182-е сутки	Животные: иммунодефицитные мыши обоих полов. Способ введения: в хвостовую вену радиоактивно меченные $^{51}\text{Cr}$ -JR-031 МСК КМ в дозе $20 \times 10^6$ клеток/кг Параметры оценки: распределение введенных МСК КМ в течение 28 сут [30–32]
Токсичность	Животные: бестимусные иммунодефицитные крысы. Способы введения: внутривенный, подкожный; токсичность при комбинированном и интравагинальном пути введения — в ходе исследований биораспределения. Параметры оценки: исследования токсичности однократного введения в дозах $5 \times 10^6$ клеток/крыса и $10 \times 10^6$ клеток/крыса; исследования токсичности многократного введения с интервалом в две недели при повторных дозах $2,5 \times 10^6$ клеток/крыса и $5 \times 10^6$ клеток/крыса [29]	Животные: крысы линии F344 и иммунодефицитные мыши. Способ введения: внутривенно. Параметры оценки: — исследования токсичности однократного введения (крысы: в дозах $10 \times 10^6$ , $40 \times 10^6$ , $65 \times 10^6$ клеток/кг); — исследования токсичности многократного введения: мыши — (2 раза в неделю) в течение 4 нед. клеток в дозах $2 \times 10^6$ клеток/кг, $20 \times 10^6$ клеток/кг; крысы — в течение 13 нед. при введении клеток в дозах $2 \times 10^6$ , $10 \times 10^6$ клеток/кг, $20 \times 10^6$ клеток/кг по схеме: 2 раза в неделю (4 нед.), далее 1 неделю без лечения, далее введение 1 раз в неделю на протяжении 4 нед.; — оценка общей токсичности при дозе, превышающей клиническую в 10 раз; — оценка воздействия препарата на нервную и дыхательную системы при однократном введении различных доз препарата
Генотоксичность	Исследования не проводились вследствие отсутствия взаимодействия непосредственно с ДНК и хромосомным материалом	
Туморогенность	<i>In vitro</i> : пролиферативная активность, активность теломеразы и экспрессии гена с-тус, кариотипирование <i>In vivo</i> : образование опухолей при подкожном введении иммунодефицитным мышам [29]	<i>In vitro</i> : анализ кариотипа и анализ колониеобразования в мягком агаре клеток на пассажах, более поздних, чем в клинике. <i>In vivo</i> : в ходе определения общей токсичности (на мышях в течение 4 нед. при многократном введении) [33–35]

При подаче заявки на регистрацию заявителем были приведены статьи [40–44], описывающие использование фибробластов на различных животных моделях: мышах, крысах и кроликах при подкожном введении в дозе  $5-8 \times 10^7$  клеток/кг. Активность клеток доказывали при наличии экспрессии коллагена методом проточной цитометрии, безопасность — отсутствием хромосомных аномалий методом кариотипирования.

При оценке биораспределения выявлено, что аутологичные клетки крысы выживали до 8 мес., клетки кролика не менее 5 мес., ксеногенные фибробласты человека не менее 2 мес. На 10-е сутки после введения присутствовали 80–90% клеток, на 9-ой неделе — 25% клеток. Проводили гистологическое исследование места введения клеток. У животных не было обнаружено никаких побочных реакций. Таким образом, обоснованием отсутствия токсичности препарата LAVIV служило отсутствие побочных эффектов у подопытных животных.

Таким образом, в результате анализа ДКИ препаратов, основанных на использовании стволовых клеток, разрешённых к применению в мире, можно сделать следующие выводы:

1) В подавляющем большинстве случаев ДКИ препаратов, содержащих СК, проводились на разнообразных моделях (модели *in vitro*, *in vivo* на иммунокомпетентных и иммунодефицитных животных). При этом использовались животные разных видов.

2) ДКИ, как правило, содержали оценку специфической активности препаратов, биораспределения, токсичности (однократного и при необходимости многократного введения, общую токсичность).

3) Для большинства препаратов осуществлялась оценка туморогенности (канцерогенности) *in vitro* методами, однако для ряда препаратов (Alofisel, Temcell) проводились дополнительные исследования возможности образования опухолей на иммунодефицитных животных.

4) Исследования генотоксичности не проводились для всех препаратов, вследствие отсутствия воздействия клеточных продуктов на геном клеток реципиента.

5) Из общих аспектов проведения ДКИ для СК выделяются ДКИ для препарата Holoclar, что связано с особенностями его использования (показание к применению, местное введение, отсутствие миграции клеток в другие органы), отсутствием адекватных моделей животных/заболева-

ния, большим опытом клинического применения и наличием обширных данных по специфическому действию и безопасности подобных препаратов в научной литературе.

## Заключение

Общие принципы проведения ДКИ в странах ЕС и США соответствуют требованиям национального законодательства и должны содержать исследования фармакологии (первичной, вторичной фармакодинамики), кинетики (биораспределения), токсикологии (токсичность однократной дозы, многократных доз, исследования местного раздражающего действия, в ряде случаев генотоксичность и туморогенность). Главным принципом рассмотрения результатов ДКИ препаратов клеточной терапии зарубежными регуляторными органами является персональный подход для каждого препарата.

В большинстве случаев для препаратов клеточной терапии, разрешённых к применению в медицинской практике, была проведена сокращённая программа доклинических исследований, обоснованием для которой служило:

— наличие продолжительного клинического опыта применения препарата или аналогичных клеток, входящих в состав препарата;

— практика учёта результатов ранее проведённых доклинических и клинических исследований препаратов на основе аналогичных клеток;

— отсутствие релевантных моделей животных из-за различий в строении органов и тканей, невозможность воспроизведения заболевания человека на животных, различий в ответе на введение препарата у человека и животных и др.

Кроме того, сокращённая программа проведения кинетических исследований допускается для препаратов для аутологичного применения; препаратов, содержащих клетки без генетической модификации, и для препаратов, в составе которых имеются матрицы, ограничивающие распространение клеток в организме. Однако в случае наличия носителей (скаффолдов, матриц, медицинских устройств) в составе клеточных препаратов проводились исследования совместимости клеточного и неклеточного компонентов.

**Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР АААА-А18-118021590045-2).**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Федеральный закон от 23 июня 2016 г. N 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». / Federal'nyj zakon ot 23 iyunya 2016 g. N 180-FZ «O biomeditsinskikh kletochnykh produktakh». [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_199967/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_199967/). [in Russian]
2. Приказ Минздрава России от 8 августа 2018 г. N 512н «Об утверждении правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами». / Prikaz Minzdrava Rossii ot 8 avgusta 2018 g.

N 512n «Ob utverzhenii pravil nadležashchej praktiki po rabote s biomeditsinskimi kletochnymi produktami». — URL: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_310301/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_310301/). [in Russian]

3. Guideline on human cell-based medicinal products. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003898.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003898.pdf).

4. Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products. Available from: <http://www.fda.gov/down>

- loads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm081670.pdf.
5. Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials (Draft) (EMA/CAT/852602/2018). — European Medicines Agency, 2019. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-non-clinical-clinical-requirements-investigational-advanced-therapy\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-non-clinical-clinical-requirements-investigational-advanced-therapy_en.pdf).
  6. Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells (Draft) (EMA/CAT/GTWP/671639/2008 Rev. 1). — European Medicines Agency, 2018. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-medicinal-products-containing-genetically\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-medicinal-products-containing-genetically_en.pdf).
  7. Summary Basis for Regulatory Action — KYMRIAH. — Food and Drug Administration; 2018. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM606836.pdf>.
  8. Summary Basis for Regulatory Action: KYMRIAH, ALL. — Food and Drug Administration, 2017. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM577221.pdf>.
  9. Assessment report. Kymriah (EMA/462626/2018). — European Medicines Agency, 2018. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  10. *Milone M.C., Fish J.D., Carpenito C. et al.* Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy *in vivo*. *Mol Ther* 2009; 17 (8): 1453–1464.
  11. *Berry C.C., Nobles C., Six E. et al.* INSPIRED: Quantification and Visualization Tools for Analyzing Integration Site Distributions. *Mol Ther Meth Clin Dev* 2017; 4: 17–26.
  12. *Afzal S., Wilkening S., von Kalle C. et al.* GENE-IS: Time-Efficient and Accurate Analysis of Viral Integration Events in Large-Scale Gene Therapy Data. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017; 6: 133–139.
  13. Assessment report. Yescarta (EMA/CHMP/481168/2018). — European Medicines Agency, 2018. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/yescarta-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/yescarta-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  14. *Kochenderfer J.N., Feldman S.A., Zhao Y. et al.* Construction and Pre-clinical Evaluation of an Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor. *J Immunotherapy (Hagerstown, Md.: 1997)* 2009; 32 (7): 689–702.
  15. *Kochenderfer J.N., Yu Z., Frasher D. et al.* Adoptive transfer of syngeneic T cells transduced with a chimeric antigen receptor that recognizes murine CD19 can eradicate lymphoma and normal B cells. *Blood* 2010; 116 (19): 3875–3886.
  16. Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors (EMEA/273974/2005). — European Medicines Agency, 2005. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-testing-inadvertent-germline-transmission-gene-transfer-vectors\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-testing-inadvertent-germline-transmission-gene-transfer-vectors_en.pdf).
  17. Annex I — Summary of Product Characteristics. In: Strimvelis: EPAR — Product Information. — European Medicines Agency. Available from: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/strimvelis-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/strimvelis-epar-product-information_en.pdf).
  18. Assessment report. Zynteglo (EMA/CHMP/226273/2019). — European Medicines Agency, 2019. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zynteglo-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zynteglo-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  19. Assessment report. MACI (EMA/25287/2013). — European Medicines Agency, 2013. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/maci-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/maci-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  20. Assessment report. Spherox (EMA/349863/2017). — European Medicines Agency, 2017. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spherox-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spherox-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  21. Reflection paper on in-vitro cultured chondrocyte containing products for cartilage repair of the knee (EMA/CAT/CPWP/568181/2009). — European Medicines Agency, 2010. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-vitro-cultured-chondrocyte-containing-products-cartilage-repair-knee\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-vitro-cultured-chondrocyte-containing-products-cartilage-repair-knee_en.pdf).
  22. GINTUIT®. Highlights of prescribing information. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM295525.pdf>.
  23. Summary Basis for Regulatory Action — GINTUIT. — Food and Drug Administration; 2018. Available from: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/ucm295465.htm>.
  24. Review Report. JACE. — 2007. — Available from: <http://www.pmda.go.jp/files/000223079.pdf>.
  25. Report on the Deliberation Results. HeartSheet. — 2015. — Available from: <http://www.pmda.go.jp/files/000215222.pdf>.
  26. Assessment report. Holoclax (EMA/25273/2015). — European Medicines Agency, 2015. — Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/holoclax-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/holoclax-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  27. *Rama P., Matuska S., Paganoni G. et al.* Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med* 2010; 363 (2): 147–155.
  28. *Di Nunzio F., Maruggi G., Ferrari S. et al.* Correction of laminin-5 deficiency in human epidermal stem cells by transcriptionally targeted lentiviral vectors. *Mol Ther* 2008; 16 (12): 1977–1985.
  29. Assessment report. Alofisel (EMA/CHMP/64055/2018). — European Medicines Agency, 2018. — Available from: [https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf).
  30. Report on the Deliberation Results. Temcell. — 2015. — Available from: <http://www.pmda.go.jp/files/000215658.pdf>.
  31. Successful Phase II Trial Using Mesenchymal Stem Cells (MSC) in Combination with Steroids for the Primary Treatment of Acute Graft Versus Host Disease (aGVHD). — 2006. — Available from: <http://mesoblast.com/images/pdf/adult-agvhd-ash-2006.pdf>.
  32. *Lalu M.M., McIntyre L., Pugliese C. et al.* Canadian Critical Care Trials Group. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* 2012; 10 (7): e47559.
  33. *Bernardo M.E., Fibbe W.E.* Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell* 2013; 13 (4): 392–402.
  34. *English K.* Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol* 2013; 91 (1): 19–26.
  35. *Xiao W., Mohseny A.B., Hogendoorn P.C. et al.* Mesenchymal stem cell transformation and sarcoma genesis. *Clin Sarcoma Res* 2013; 3 (1): 10.
  36. Osiris Therapeutics, Inc. — Available from: <http://www.osiris.com/>.
  37. *Lalu M.M., McIntyre L., Pugliese C. et al.* Canadian Critical Care Trials Group. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* 2012; 10 (7): e47559.
  38. *Von Bahr L., Batsis I., Moll G. et al.* Analysis of tissues following mesenchymal stromal cell therapy in humans indicates limited long-term engraftment and no ectopic tissue formation. *Stem Cells* 2012; 30 (7): 1575–1578.
  39. Summary Basis for Regulatory Action. LAVIV®. — Available from: <http://wayback.archive-it.org/7993/20170723023939/https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM262780.pdf>.
  40. *Remmler D., Thomas J.R., Mazoujian G. et al.* Use of injectable cultured human fibroblasts for percutaneous tissue implantation. An experimental study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989; 115 (7): 837–844.
  41. *Keller G., Sebastian J., Lacombe U. et al.* Safety of injectable autologous human fibroblasts. *Bull Exp Biol Med* 2000; 130 (8): 786–789.
  42. *Yoon E., Han S.K., Kim W.K.* Advantages of the presence of living dermal fibroblasts within Restylane for soft tissue augmentation. *Ann Plast Surg* 2003; 51 (6): 587–592.
  43. *Solakoglu S., Tiryaki T., Ciloglu, S.E.* The effect of cultured autologous fibroblasts on longevity of cross — linked hyaluronic acid used as a filler. *Aesthetic Surg* 2008; 28 (4): 412–416.
  44. *Zhao Y., Wang J., Yan X. et al.* Preliminary survival studies on autologous cultured skin fibroblasts transplantation by injection. *Cell Transplant* 2008; 17 (7): 775–783.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**

*Мельникова Е. В.* — к. б. н., начальник лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России

*Хорольский М. Д.* — инженер-лаборант лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России

*Рачинская О. А.* — к. б. н., ведущий эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России

*Меркулов В. А.* — д. м. н., проф., заместитель генерального директора ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России

# Актуальные вопросы эмпирической терапии тяжёлой бактериальной внебольничной пневмонии в сезон респираторных вирусных инфекций

\*В. Б. БЕЛОБОРОДОВ, И. А. КОВАЛЕВ, Г. В. САПРОНОВ

Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

## Current Issues of Empirical Therapy of Severe Bacterial Community-Acquired Pneumonia During the Season of Respiratory Viral Infections

\*V. B. BELOBORODOV, I. A. KOVALEV, G. V. SAPRONOV

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

Прогрессирующий рост заболеваемости и летальности пациентов внебольничной пневмонией (ВП) требует оптимизации лечения, в том числе антибактериальной терапии. Внедрение в клиническую практику молекулярно-генетических методов диагностики вирусных и вирусно-бактериальных инфекций существенно дополнило представление об этиологии внебольничной пневмонии. Сезонные колебания распространённости ВП совпадают с подъёмом заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями и гриппом, которые вносят свой вклад в этиологическую структуру ВП, увеличивают риск инфекции, вызванной стафилококками. Показана синергия с вирусом гриппа А и *Staphylococcus aureus*, связанная с увеличением репликации вирусов при наличии специфических протеаз стафилококков и способности вирусов повышать адгезию *S.aureus* в респираторном тракте, снижать фагоцитоз *S.aureus* макрофагами/нейтрофилами и продукцию антимикробных пептидов, повышать вероятность вторичной бактериальной суперинфекции. Поэтому важнейшими требованиями для препаратов эмпирической терапии тяжёлой ВП является высокая антистрептококковая и антистафилококковая активность. Согласно современным рекомендациям по антибактериальной терапии тяжёлой ВП, основными препаратами для лечения являются антипневмококковые цефалоспорины, макролиды, фторхинолоны, которые не обладают одновременно высокой антистафилококковой и антипневмококковой активностью присущей цефтаролину. Показаны преимущества цефтаролина перед цефтриаксоном и левофлоксацином по вероятности достижения целевых концентраций для клинически релевантных показателей фармакокинетики/фармакодинамики. При сравнении цефтаролина с цефтриаксоном, по данным метаанализа рандомизированных клинических исследований, показана более высокая клиническая эффективность цефтаролина при равном количестве нежелательных событий. Суммарный анализ данных чувствительности к антибиотикам, фармакокинетических/фармакодинамических, клинических данных, неблагоприятных эпидемиологических трендов свидетельствует о необходимости оптимизации антимикробной терапии тяжёлой ВП для реализации преимуществ цефтаролина по сравнению с другими бета-лактамами против пневмококков и, особенно, стафилококков. Именно поэтому, для лечения ВП у пациентов в критическом состоянии в период подъёма респираторных вирусных инфекций применение цефтаролина в качестве эмпирической терапии является наиболее обоснованным.

*Ключевые слова: внебольничная пневмония, грипп, респираторные вирусные инфекции, стафилококки, цефтриаксон, фторхинолоны, цефтаролин.*

Progressing growth of morbidity and mortality of patients with community-acquired pneumonia (CAP) requires optimization of treatment including antibacterial therapy. Implementation of molecular-genetic methods of diagnostics of viral and viral-bacterial infections in clinical practice has significantly augmented the conception of etiology of community-acquired pneumonia. Seasonal fluctuation of CAP prevalence corresponds with growth of morbidity of acute respiratory infections and influenza which contribute to the etiological structure of CAP by increasing the risk of infection caused by staphylococci. The synergy between influenza A virus and *S.aureus* has been shown; it is associated with an increase of virus replication in the presence of specific staphylococcal proteases and the ability of viruses to increase adhesion of *S.aureus* in the respiratory tract, to decrease phagocytosis of *S.aureus* by macrophages/neutrophils and production of antimicrobial peptides, as well as to increase the probability of secondary bacterial co-infection. Therefore, the most important requirement for the empiric therapy agents of CAP is high streptococcal and staphylococcal activity. According to the current guidelines on antimicrobial therapy of severe CAP, antipneumococcal cephalosporins, macrolides, and fluoroquinolones are the basic treatment agents, but none of them have the combined high anti-staphylococcal and antipneumococcal activity inherent in ceftaroline. The advantages of ceftaroline over ceftriaxone and levofloxacin in terms of the probability of reaching target concentrations for clinically relevant pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters are shown. Meta-analysis of randomized clinical trials showed the higher clinical efficacy of ceftaroline in comparison to ceftriaxone with similar adverse event rate. Summarized analysis of antibiotic susceptibility data, pharmacokinetic/pharmacodynamic and clinical data, as well as negative epidemiological trends confirms the necessity of optimization of antimicrobial therapy of CAP for implementation of ceftaroline advantages against pneumococci and staphylococci in comparison to other  $\beta$ -lactams. Therefore, empiric treatment with ceftaroline is the most rational option for the therapy of CAP in critically ill patients during the season of respiratory viral infection.

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1. РМАНПО, г. Москва, 125993

*Keywords: community-acquired pneumonia, influenza, respiratory viral infections, staphylococci, ceftriaxone, fluoroquinolones, ceftaroline.*

## Введение

Респираторные вирусные инфекции являются наиболее актуальной инфекционной проблемой населения Российской Федерации [1]. В течение последних 10 лет они занимают первое место в рейтинге инфекционных болезней по величине экономического ущерба, составляющего более 0,5 трлн руб. в год. В течение продолжительного времени заболеваемость составляет около 21 000/100 000 тыс. населения, т. е., в среднем, ежегодно болеет каждый 5-й житель страны. В 2018 г. было зарегистрировано 30,81 млн респираторных инфекций на 144,4 млн населения. Заболеваемость гриппом начала снижаться с 2018 г. и составила 26,33/100 000 тыс., что объясняется широким внедрением вакцинации: в 2018–2019 гг. было вакцинировано около 70,9 млн человек или 49% населения страны, в том числе 17,88 млн детей (около 61% от численности детского населения).

Число заболевших внебольничной пневмонией (ВП) прогредиентно возрастало в 2012–2018 гг. с 375,2 до 491,67 на 100 тыс. населения. В 2018 г. сохранялся рост заболеваемости ВП вирусной и бактериальной этиологии. Заболеваемость внебольничными пневмониями бактериальной этиологии в 2018 г. составила 139,24/100 тыс. населения, что также выше показателя 2017 года на 18,8%, из них вклад пневмонии, вызванной пневмококками, составил 9,95 на 100 тыс. населения, что на 38,2% выше показателя 2017 г. В 2018 г. зарегистрировано 77 вспышек внебольничных пневмоний с общим числом заболевавших — 715 человек, в 79,2% — возбудителем была *Mycoplasma pneumoniae*. Показатель смертности от внебольничной пневмонии в 2018 г. на различных территориях варьировал от 0 до 25,75 на 100 тыс. населения, в среднем — 4,25, погибло 6244 заболевших. С 2013 г. в Российской Федерации проводится иммунизация против пневмококковой инфекции детей, в рамках календаря прививок, и взрослого населения, относящегося к группам риска. По данным Роспотребнадзора, вакцинировано более 2,39 млн человек, что выше показателя 2013 г., примерно, в 20,8 раз, ревакцинировано более 1,36 млн детей и около 0,4 млн взрослых.

## Вклад вирусов в этиологию внебольничной пневмонии

Появление молекулярных методов выявления вирусных и вирусно-бактериальных инфекций изменило представления о вкладе этих инфекций в этиологию внебольничной пневмонии. В крупном метаанализе, включившем 23 оригинальных исследования и 6404 пациентов, было показано, что распространённость вирусных пневмоний варьирует от 8,6 до 56,2%, в среднем — 22,4%, а распространённость вирусно-бактериальных пневмоний — от 3 до 28%, в среднем — 12,4% (95% CI

9,7–15,0). Если суммировать эти показатели, то у 1/3 всех пациентов внебольничной пневмонией основными или ко-возбудителями были вирусы. Наиболее важными вирусами — возбудителями вирусной или вирусно-бактериальной ВП оказались: вирусы гриппа, риновирусы и коронавирусы [2].

Одним из методов профилактики гриппа и, следовательно, пневмонии, вызванной вирусом гриппа, — является вакцинация. При исследовании пациентов, госпитализированных с пневмонией ( $n=2767$ ), грипп был выявлен у 162 (5,9%), причём у 28 (17%) — возбудителем пневмонии был вирус гриппа. Из остальных 2605 пациентов с пневмонией, 766 (29%) — были ранее вакцинированы от гриппа. Таким образом, вакцинация против гриппа снижала вероятность возникновения пневмонии, вызванной вирусом гриппа (OR= 0,43 (95% CI 0,28–0,68), а эффективность вакцинации составила 56,7% (95% CI 31,9–72,5) [3]. В другом оригинальном исследовании показан подобный уровень эффективности вакцинации по наличию антител к гемагглютинуину вируса А у 55–58% пациентов, при этом низкий уровень сероконверсии наблюдался у лиц с сахарным диабетом, при наличии бактериальных инфекций, наличии «анамнестических» антител к вирусу гриппа В (Yamagata) и вакцинации в предшествующей сезон [4].

## Этиологическая структура внебольничной пневмонии

На этиологическую структуру ВП существенное влияние могут оказывать такие факторы, как географическое расположение исследованного региона и методы выявления возбудителей. В большинстве исследований госпитализированных пациентов с ВП значительное внимание уделяется результатам посева крови. В соответствии с имеющимися рекомендациями Российского респираторного общества, European Respiratory Society (ERS), European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), для подтверждения этиологии ВП рекомендуется забор двух образцов крови у госпитализированных пациентов [5]. Однако в исследованиях, проведённых на начале 2000-х годов, посев крови проводился только у половины госпитализированных пациентов [6]. Эта картина не изменилась в последующих наблюдениях, что указывает на неполное следование имеющимся рекомендациям [7]. Возможно, это связано с тем, что некоторые ЛПУ следуют недавним рекомендациям Infectious Diseases Society of America (IDSA)/American Thoracic Society (ATS), в которых предлагается проводить исследование крови только пациентам, госпитализированным в ОРИТ [8].

Имеются методические ограничения, связанные с забором образцов для микробиологического исследования. Например, сложность получения всех видов образцов у всех пациентов, при-

менение на догоспитальном этапе лечения антибиотиков снижают вероятность выделения флоры. Имеются сложности в получении полноценных образцов мокроты на ранних стадиях ВП у пациентов без ХОБЛ. Имеются технические ограничения диагностических тестов по чувствительности, низкой вероятности быстрого или появления специфических антител вообще, определение которых является целью серологической диагностики. Эти ограничения могут приводить к неточной оценке вклада различных возбудителей в этиологию ВП. Более того, у значительного числа пациентов этиология ВП вообще не может быть установлена. Поэтому в исследованиях, посвящённых этиологической структуре, могут встречаться ошибки в результате недооценки или переоценки отдельных возбудителей, вызванной ложнопозитивными и ложно-негативными результатами или невозможностью выделения возбудителя [9].

В подавляющем большинстве опубликованных исследований, посвящённых этиологии ВП, *Streptococcus pneumoniae* является наиболее частым возбудителем [10, 11], при этом его вклад составлял от 12 до 85% от общего количества выделенных возбудителей [12, 13].

Возбудители с множественной резистентностью являются возбудителями ВП менее чем в 20%, наиболее часто — *Staphylococcus aureus*, существенно реже — *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* или *Acinetobacter baumannii*. В европейском исследовании этиологии ВП у госпитализированных пациентов возбудители с множественной резистентностью составили 3,3–7,6%, причём резистентные к метициллину *S.aureus* были наиболее частыми [14]. Возбудителей с множественной резистентностью обычно выделяли у пациентов с более тяжёлой пневмонией на момент госпитализации, поэтому их пропорция у госпитализированных в ОРИТ может быть выше. Наличие такой проблемы требует более точной оценки чувствительности выделенной флоры именно у пациентов с тяжёлой ВП для повышения эффективности эмпирической терапии без необоснованного применения препаратов со спектром антимикробной активности, перекрывающим сложные механизмы резистентности грамотрицательной флоры. Таким образом, препараты эмпирической терапии тяжёлой внебольничной пневмонии в большей степени должны обладать антистрептококковой и антистафилококковой активностью, включающей резистентные штаммы, чем активностью против проблемных грамотрицательных микробов, актуальность которых существенно возрастает при лечении нозокомиальной пневмонии.

Распространённость ВП смешанной этиологии оставляет от 0,4 до 19,9%, но необходимо иметь в виду вариабельность диагностических

методов, которые применяются для идентификации возбудителей. Распространённость ВП смешанной этиологии будет возрастать при применении новых молекулярных методов диагностики, так как именно эти методы способны снизить количество нерасшифрованных случаев и повысить точность диагностики. Однако до настоящего времени эти методы нуждаются в клинической верификации в плане надёжности, так как высокая чувствительность методов предъявляет высокие требования к отсутствию контаминации, поэтому адекватными образцами являются те, которые могут быть получены из стерильных или локусов с низкой вероятностью контаминации. Кроме того, мало данных по продолжительности клиренса микробных и вирусных ДНК и РНК из биологических жидкостей организма — их нормальная длительная персистенция (несколько недель или месяцев) может затруднить и первичную диагностику, и оценку эффективности этиотропной терапии, особенно когда в качестве возбудителей обсуждается условно-патогенная флора, способная контаминировать нестерильные локусы, и не иметь отношение к пневмонии в данном конкретном случае.

Различия в этиологии возбудителей ВП у различных по тяжести или сопутствующей патологии пациентов наблюдаются с завидным постоянством. Например, обычно, *S.pneumoniae* оказывается наиболее частым возбудителем ВП. Однако при «привязке» возбудителей к различным группам по тяжести пневмонии, месту возникновения ВП (пациенты с амбулаторным применением антибиотиков), популяции пациентов (возраст, сопутствующая патология, наличие факторов риска), диагностическим методам (традиционные, новые), вклад каждого из возбудителей может существенно меняться. Например, в метаанализе посвящённом распространённости *S.pneumoniae* в Европе, его наиболее часто обнаруживали при применении ПЦР по сравнению с другими методами (OR 2,49 [95 % CI 1,39–4,46]) [12]. При изучении этиологии ВП у пожилых (65 лет и старше) наиболее частыми возбудителями оказались *S.pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и респираторные вирусы, а *Mycoplasma pneumoniae* обнаруживали чаще у пациентов моложе 65 лет. По другим данным, ВП, вызванная *S.pneumoniae*, чаще наблюдалась у пациентов 60 лет и старше, чем у пациентов моложе 60 лет (48 и 35%,  $p=0,04$ ). ВП, вызванная *M.pneumoniae*, чаще обнаруживали у пациентов в возрасте 15–44 года по сравнению с более старшими пациентами (24 и 3%,  $p<0,001$ ), при этом не было обнаружено возрастных особенностей при ВП, вызванной *H.influenzae* [13]. По некоторым данным, наличие ХОБЛ не оказывало влияния на этиологию пневмонии, точно также как и ВИЧ — в отсутствие тяжёлой имму-

**Чувствительность клинических изолятов *S.pneumoniae* к АБП в РФ (многоцентровое исследование ПеГАС, 2014–2017 гг., n=519) [11]**

АБ препарат	Распределение изолятов по категориям			МПК, мг/л	
	Ч	УР	Р	50%	90%
Ампициллин	74,8%	11%	14,3%	0,03	4
Цефтриаксон	79,0%	15,6%	5,4%	0,03	2
Цефтаролин	98,1%	0	1,9%	0,008	0,125
Азитромицин	76,8%	1,2%	31,0%	0,06	128
Кларитромицин	68,6%	2,9%	28,5%	0,03	128
Левифлоксацин	99,6%	0	0,4%	0,5	1,0
Моксифлоксацин	99,6%	0	0,4%	0,06	0,125
Эртапенем	93,6%	0	6,4%	0,016	0,5

**Примечание.** Ч – чувствительные; УР – умеренно резистентные; Р – резистентные (критерии CLSI, 2014 г.); МПК – минимальная подавляющая концентрация.

носупрессии или при проведении высокоактивной антиретровирусной терапии [10].

**Особенности возбудителей ВП, или одинаково ли эффективны разные антибактериальные препараты против пневмококков и стафилококков?**

Согласно международным и отечественным рекомендациям по лечению тяжёлой внебольничной пневмонии [11, 15–17], для лечения ВП применяются, примерно, одни и те же антибактериальные препараты: цефтриаксон, цефотаксим, цефтаролин, амоксициллин/клавуланат, ампициллин/сульбактам, эртапенем в/в + азитромицин или кларитромицин или моксифлоксацин, левофлоксацин в/в + цефтриаксон.

При сравнении активности перечисленных препаратов *in vitro* (таблица) можно предполагать, что для подавления 50% штаммов потенциальных возбудителей ВП активность всех перечисленных препаратов оказывается близкой [11]. Однако для подавления 90% штаммов пневмококков показатели минимальной подавляющей концентрации требуются существенно выше и наиболее активным оказались цефтаролин и моксифлоксацин — это может быть особенно важно при лечении пациентов в тяжёлом состоянии.

Обычно для лечения пневмонии, вызванной чувствительными к метициллину *S.aureus* (MSSA), парентерально применяют антистафилококковые пенициллины (оксациллин) и цефалоспорины 1-й генерации (цефазолин) [18,19]. Однако эти высокоэффективные препараты против *S.aureus* обычно не входят в стандартные рекомендации именно из-за узкого спектра действия, не соответствующего этиологии внебольничной пневмонии. Примеры применения препаратов более широкого спектра (цефтриаксона) показали низкую активность против *S.aureus*, возможность роста резистентности другой флоры и инфекций вызванных *Clostridium difficile* [20–23]. При сравнении эмпирического назначения цефтриаксона для лечения

ВП были получены противоречивые данные о клинической эффективности именно в отношении MSSA. По данным метаанализа, опубликованного в 2019 г., клиническая эффективность цефтриаксона достоверно уступала цефтаролину и цетобипролу (-28.5%, 95% CI -53,5% to -3,4%;  $p=0,026$ ;  $I^2=16,321\%$ ), что было связано именно с высокой частотой клинической неэффективности в лечении пневмонии, вызванной MSSA [24].

**Какое клиническое значение имеют микробиологические данные?!**

Известно, что прямой корреляции между минимальной подавляющей концентрацией, определённой в условиях *in vitro*, и клинической эффективностью препаратов не имеется, таким образом показатели МПК в отношении определённых микроорганизмов используются для сравнения активности препаратов между собой. Для выявления связи между МПК возбудителя и предполагаемой клинической эффективностью антимикробной терапии существуют методы математического моделирования, позволяющие прогнозировать подавление возбудителя в инфекционном очаге. В одной из недавно опубликованных работ, посвящённых ретроспективной оценке достижения целевых показателей концентрации препарата в очаге инфекции при пневмонии, было проведено сравнение трёх широко применяемых препаратов: цефтриаксона, левофлоксацина и цефтаролина против *S.aureus*, *S.pneumoniae* и *H.influenzae* [25]. В общепринятых фармакокинетических моделях левофлоксацина, цефтриаксона и цефтаролина использовали стандартные режимы дозирования для симуляции индивидуальных данных достаточного (5000) числа пациентов ВП. Вероятность достижения целевых концентраций для клинически релевантных показателей фармакокинетики/фармакодинамики изучали при достижении равновесной концентрации для клинически значимого спектра минимальных подавляющих концентраций. Показатели МПК возбудителей были взяты из глобальных данных наблюдения в 2012–2017 гг. Цефтаролин (600 мг через 12 ч) в более чем 90% достигал целевые кон-

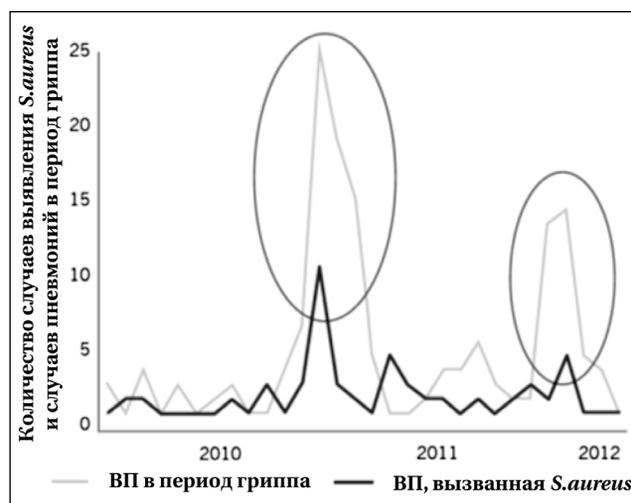
центрации в отношении всех возбудителей. В отношении *S.pneumoniae* цефтриаксон показал такой же уровень достижения целевых концентраций, как цефтаролин, однако этот показатель для левофлоксацина оказался ниже 90%. В отношении *S.aureus* достижение целевых концентраций левофлоксацином и цефтриаксоном оказалось ниже 90%. Таким образом, только цефтаролин оказался препаратом с равной вероятностью достижения целевой концентраций для подавления всех изученных возбудителей. Цефтриаксон оказался равным цефтаролину в отношении *S.pneumoniae* и *H.influenzae*, но уступал в отношении *S.aureus*. Левофлоксацин оказался равным цефтаролину в отношении *Haemophilus influenzae*, но уступал против *S.pneumoniae* и *S.aureus*.

**Каким образом эти различия в активности *in vitro* и фармакокинетические/фармакодинамические преимущества цефтаролина могут быть реализованы в клинической практике?**

Недавно опубликован метаанализ, посвящённый сравнению клинической эффективности и безопасности цефтаролина и цефтриаксона в лечении пациентов ВП. В исследовании использованы данные PubMed, Cochrane Library, Embase и рандомизированных контролируемых клинических исследований (clinicalTrials.gov), опубликованные до апреля 2019 г. [26]. В метаанализе использованы данные 5 рандомизированных контролируемых исследований. В первую очередь оценивалась клиническая эффективность, во вторую — риск побочных событий. У больных ВП в целом клиническая эффективность цефтаролина оказалась достоверно выше цефтриаксона: соотношение шансов — 1,61 (95% CI 1,31–1,99,  $I^2=0\%$ ). Число пациентов с клиническим выздоровлением на момент отмены препаратов также было выше при применении цефтаролина по сравнению с цефтриаксоном: соотношение шансов — 1,57 (95% CI 1,16–2,11,  $I^2=0\%$ ). Применение цефтаролина и цефтриаксона достоверно не отличалось по количеству тяжёлых побочных событий в целом, потребовавших лечения или отмены препаратов, связанных с этими событиями. Таким образом, было показано, что клиническая эффективность цефтаролина выше цефтриаксона у пациентов с ВП, а переносимость — равная.

**Каким образом может быть использована высокая антистафилококковая активность цефтаролина, применительно к ВП?**

Эпидемиология ВП, вызванной *S.aureus*, остаётся недостаточно изученной и это усложняет эмпирический выбор антибактериальных препаратов [27]. Более чем у 1/3 пациентов ВП возбудитель остаётся неизвестным — это может привести к недооценке вклада *S.aureus* [28, 29]. По данным нескольких исследований European Respiratory Society и European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, распространённость ВП, вызванной



**Рост случаев выявления *S.aureus* и случаев в пневмониях в период гриппа [27].**

*S.aureus*, составила 0,1% у амбулаторных пациентов, < 4% — у госпитализированных, < 19% — у госпитализированных в ОРИТ, 7–29% — у пожилых госпитализированных пациентов [30]. Летальность пациентов ВП, вызванной *S.aureus*, составила 20–75% [31–33]. Стафилококковая ВП ассоциируется с более высокой тяжестью по сравнению с пневмонией другой этиологии: 50,0% пациентов соответствовали классу риска IV–V по шкале PORT, по сравнению с 45,2% пациентов с пневмококковой ВП или 34,3% пациентов — нестафилококковой ВП [27].

Грипп А может осложняться или ко-инфицироваться пневмонией, вызванной *S.aureus* [33–36]. Эта связь двух возбудителей была показана в продолжительном исследовании (2,5 года): подъём заболеваемости ВП, вызванной *S.aureus*, был отмечен ежегодно в виде двух пиков, совпадающих с пиками заболеваемости сезонным гриппом (рисунок) [27]. Патогенез пневмонии, вызванной *S.aureus*, ассоциируемой с гриппом, отличается от обычной ВП. Такая пневмония отличается от обычной ВП фульминантным течением, коротким интервалом между началом заболевания и его диагностикой (< 7 дней), быстрым развитием тяжёлого состояния (< 24 ч), фатальным течением, быстро приводящим к смерти [36]. Синергия между *S.aureus* и вирусом гриппа А связана со способностью вируса повышать адгезию *S.aureus* в респираторном тракте и увеличивать количество специфических протеаз *S.aureus*, которые способствуют репликации вирусов [37–39]. Различные штаммы вируса гриппа А способны вызывать выделение интерферонов 1-го типа, способствующих снижению продукции интерлейкинов -1 $\beta$  и -23 (повышающих уровень интерлейкинов -10, -17, -22, -27), что приводит к снижению фагоцитоза *S.aureus* макрофагами и нейтрофилами, снижению продукции антимикробных пептидов и повышенной чувствительности к вто-

ричной бактериальной суперинфекции [40–46]. По эпидемиологическим данным, от 20% до 84% населения являются носителями *S.aureus* в полости носа, что является фактором риска вторичной стафилококковой пневмонии у заболевших гриппом А [47–49]. В клинических условиях, бета-лактамы, включённые в клинические рекомендации по лечению ВП, представляются оптимальными, однако данные мониторинга чувствительности указывают на то, что эти препараты, за исключением цефтаролина, не обладают достаточной антистафилококковой активностью. Активность *in vitro* цефтаролина по сравнению с цефтриаксоном была в 16 раз выше против MSSA (18 078 штаммов), собранных в 37 странах в 2014–2015 гг. (МПК<sub>90</sub> 0,25 и 4,0 мг/л, соответственно). По данным EUCAST, при МПК ≤ 1 мг/л цефтаролин подавлял 100,0% штаммов MSSA и 90,2% MRSA [50].

**Комбинации антимикробных препаратов или можно ли обойтись без них?**

Вопрос целесообразности и эффективности применения комбинированных режимов антибактериальной терапии, включающих бета-лактамы антибиотиков и макролиды/фторхинолоны до настоящего времени не получил строгого научного обоснования. При проведении метаанализа, включившего данные 17 исследований, проведённых у 16684 пациентов тяжёлой ВП, было показано, что применялись различные комбинации антибактериальных препаратов, летальность оценивалась в различные временные интервалы, поэтому степень доказательности полученных данных оказалась низкой [51]. Тем не менее, летальность пациентов, получавших комбинации бета-лактамов с фторхинолонами, была выше летальности пациентов, получавших бета-лактамы с макролидами: отношение шансов составило 1,33 (95% CI 1,15–1,54, I<sup>2</sup> 28%). Причём, не обнаружено в целом связи летальности пациентов, получавших комбинацию бета-лактамов и фторхинолонов, с дизайном исследования, временем регистрации летального исхода или периодом исследования. Эти различия оказались достоверными только в исследованиях, проведённых в Америке, но не Европе. Не обнаружено различий в леталь-

ности пациентов с ВП и бактериемией, и септическим шоком. В метаанализе 8 исследований, выбранных только по данным летальности, не было обнаружено достоверных различий при применении указанных выше режимов антибактериальной терапии: соотношение шансов составило 1,26 (95% CI 0,95–1,67, I<sup>2</sup> 43%) [52]. Поэтому авторы исследований делают вывод о необходимости проведения хорошо организованного рандомизированного контролируемого исследования для сравнения этих режимов для получения однозначного обоснованного решения об их использовании при тяжёлой внебольничной пневмонии. До получения результатов таких исследований имеется консенсус о применении комбинаций бета-лактамов и макролидов.

## Заключение

В период подъёма респираторных вирусных инфекций возбудителями бактериальных внебольничных пневмоний в подавляющем большинстве случаев становятся пневмококки и стафилококки. Суммарный анализ данных чувствительности к антибиотикам, фармакокинетических/фармакодинамических, клинических данных, неблагоприятных эпидемиологических трендов свидетельствует о необходимости оптимизации антимикробной терапии. У пациентов с тяжёлой пневмонией, требующих госпитализации в ОРИТ, кроме высокой антимикробной активности, требуется учёт фармакокинетических/фармакодинамических особенностей препаратов. С этой точки зрения, цефтаролин имеет существенные преимущества в отношении других β-лактамов против пневмококков и, в особенности, стафилококков. Именно поэтому, для лечения ВП у пациентов в критическом состоянии в период подъёма респираторных вирусных инфекций, применение цефтаролина в качестве эмпирической терапии является наиболее обоснованным.

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

## ЛИТЕРАТУРА

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. — 254 с. / О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019; 254. [in Russian]
2. Wu X., Wang Q., Wang M. et al. Incidence of Respiratory Viral Infections Detected by PCR and Real-Time PCR in Adult Patients with Community-Acquired Pneumonia: A Meta-Analysis. *Respiration* 2015; 89: 343–352.
3. Grijalva C.G., Zhu Y., Williams D.J. et al. Association between hospitalization with community acquired laboratory-confirmed influenza pneumonia and prior receipt of influenza vaccination. *JAMA*. 2015; 314 (14): 1488–1497.
4. Pratt C.Q., Yuwei Z., Grijalva C.G. et al. Serological response to influenza vaccination among adults hospitalized with community-acquired pneumonia. *Influenza Other Respi Viruses* 2019; 13: 208–212.
5. Woodhead M., Blasi F., Ewig S., Garau J., Huchon G., Ieven M., Ortqvist A., Schaberg T., Torres A., van der Heijden G., Read R., Verheij T.J. Joint Taskforce of the European Respiratory Society and European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infection. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17 (Suppl 6): E1–E59.
6. Reissig A., Mempel C., Schumacher U. et al. Microbiological diagnosis and antibiotic therapy in patients with community-acquired pneumonia and acute COPD exacerbation in daily clinical practice: comparison to current guidelines. *Lung* 2013; 191: 239–246.
7. Blasi F., Garau J., Medina J. et al. Current management of patients hospitalized with community-acquired pneumonia across Europe: outcomes from REACH. *Respir Res* 2013; 14: 44.

8. Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A. et al. American Thoracic Society Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007; 44 (Suppl 2): S27–S72.
9. Jokinen C., Heiskanen L., Juvenon H. et al. Microbial etiology of community-acquired pneumonia in the adult population of 4 municipalities in eastern Finland. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1141–1154.
10. Torres A., Blasi F. et al. The aetiology and antibiotic management of community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33 (7): 1065–1079.
11. Иванчик Н.В., Чагарян А.Н., Сухорукова М.В. и др. Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования ПеГАС 2014–2017. КМАХ. — 2019. — № 21 (3). — С. 230–237.
12. Welte T., Torres A., Nathwani D. Clinical and economic burden of community-acquired pneumonia among adults in Europe. *Thorax* 2012; 67: 71–79.
13. Rozenbaum M.H., Pechlivanoglou P., van der Werf T.S. et al. The role of *Streptococcus pneumoniae* in community-acquired pneumonia among adults in Europe: a meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 305–316.
14. Aliberti S., Cilloniz C., Chalmers J.D., Zanaboni A.M., Cosentini R., Tarsia P., Pesci A., Blasi F., Torres A. Multidrug-resistant pathogens in hospitalised patients coming from the community with pneumonia: a European perspective. *Thorax* 2013; 68: 997–999.
15. Jain S., Self W.H., Wunderink R.G. et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. *N Engl J Med* 2015; 373: 415–427.
16. Cao B., Huang Y., She D.Y. et al. Diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in adults: 2016 clinical practice guidelines by the Chinese Thoracic Society, Chinese Medical Association. *Clin Respir J* 2018; 12 (4): 1320–1360.
17. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжёлой внебольничной пневмонии у взрослых. М.: 2014. / Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжёлой внебольничной пневмонии у взрослых. М.: 2014. [in Russian]
18. Eljaaly K., Alshehri S., Erstad B.L. Systematic review and meta-analysis of the safety of antistaphylococcal penicillins compared to cefazolin. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62: e01816–17.
19. Monogue M.L., Ortwin J.K., Wei W. et al. Nafcillin versus cefazolin for the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Infect Public Health* 2018; 11: 727–731.
20. Williams D., Baker C., Kind A., Sannes M.R. The history and evolution of outpatient parenteral antibiotic therapy (OPAT). *Int J Antimicrob Agents* 2015; 46: 307–312.
21. Baxter R., Ray G., Fireman B. Case-control study of antibiotic use and subsequent *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 44–50.
22. Owens R.C. Jr., Donskey C.J., Gaynes R.P. et al. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008; 46 (Suppl 1): S19–31.
23. Zelenitsky S.A., Beahm N.P., Iacovides H. et al. Limitations of ceftriaxone compared with cefazolin against MSSA: an integrated pharmacodynamic analysis. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73: 1888–1894.
24. Eljaaly K., Walib H., Baslim A. Clinical cure with ceftriaxone versus ceftaroline or cefepime in the treatment of staphylococcal pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents* 2019; 54: 149–153.
25. Cristinacce A., Wright J.G., Stone G.G. et al. A retrospective analysis of probability of target attainment in community-acquired pneumonia: ceftaroline fosamil versus comparators. *Infect Dis Ther* 2019; 8: 185–198.
26. Lan S.-H., Chang S.-P., Lai C.-C. et al. Efficacy and safety of ceftaroline for the treatment of community-acquired pneumonia: a systemic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Med* 2019; 8: 824.
27. Self W.H., Wunderink R.G., Williams D.J. et al. *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia: prevalence, clinical characteristics, and outcomes. *Clin Infect Dis* 2016; 63: 300–309.
28. Moran G.J., Krishnadasan A., Gorwitz R.J. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as an etiology of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 1126–1133.
29. Morgan A.J., Glossop A.J. Severe community-acquired pneumonia. *BJA Education* 2016; 16: 167–172.
30. Woodhead M., Blasi F., Ewig S. et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17 (Suppl 6): E1–59.
31. Gillet Y., Issartel B., Vanhems P. et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002; 359: 753–759.
32. Liapikou A., Cilloniz C., Gabarrus A. et al. Multilobar bilateral and unilateral chest radiograph involvement: implications for prognosis in hospitalised community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2016; 48: 257–261.
33. Hageman J.C., Uyeki T.M., Francis J.S. et al. Severe community-acquired pneumonia due to *Staphylococcus aureus*, 2003–04 influenza season. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 894–899.
34. Kallen A.J., Brunkard J., Moore Z. et al. *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Ann Emerg Med* 2009; 53: 358–365.
35. Schwarzmann S.W., Adler J.L., Sullivan R.J. Jr., Marine W.M. Bacterial pneumonia during the Hong Kong influenza epidemic of 1968–1969. *Arch Intern Med* 1971; 127: 1037–1041.
36. Iverson A.R., Boyd K.L., McAuley J.L. et al. Influenza virus primes mice for pneumonia from *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 2011; 203: 880–888.
37. Davison V.E., Sanford B.A. Adherence of *Staphylococcus aureus* to influenza A virus-infected Madin-Darby canine kidney cell cultures. *Infect Immun* 1981; 32: 118–126.
38. Tashiro M., Ciborowski P., Reinacher M. et al. Synergistic role of staphylococcal proteases in the induction of influenza virus pathogenicity. *Virology* 1987; 157: 421–430.
39. Sanford B.A., Ramsay M.A. Bacterial adherence to the upper respiratory tract of ferrets infected with influenza A virus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987; 185: 120–128.
40. Robinson K.M., Lee B., Scheller E.V. et al. The role of IL-27 in susceptibility to post-influenza *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Respir Res* 2015; 16: 10.
41. Lee B., Robinson K.M., McHugh K.J. et al. Influenza-induced type I interferon enhances susceptibility to gram-negative and gram-positive bacterial pneumonia in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2015; 309: L158–167.
42. Robinson K.M., McHugh K.J., Mandalapu S. et al. Influenza A virus exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia in mice by attenuating antimicrobial peptide production. *J Infect Dis* 2014; 209: 865–875.
43. Kudva A., Scheller E.V., Robinson K.M. et al. Influenza A inhibits Th17-mediated host defense against bacterial pneumonia in mice. *J Immunol* 2011; 186: 1666–1674.
44. Robinson K.M., Choi S.M., McHugh K.J. et al. Influenza A exacerbates *Staphylococcus aureus* pneumonia by attenuating IL-1beta production in mice. *J Immunol* 2013; 191: 5153–5159.
45. Warnking K., Klemm C., Löffler B. et al. Super-infection with *Staphylococcus aureus* inhibits influenza virus-induced type I IFN signalling through impaired STAT1-STAT2 dimerization. *Cell Microbiol* 2015; 17: 303–317.
46. Warshauer D., Goldstein E., Akers T. et al. Effect of influenza viral infection on the ingestion and killing of bacteria by alveolar macrophages. *Am Rev Respir Dis* 1977; 115: 269–277.
47. Lamikanra A., Paul B.D., Akinwale O.B., Paul M.O. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in a population of healthy Nigerian students. *J Med Microbiol* 1985; 19: 211–216.
48. Dancer S.J., Noble W.C. Nasal, axillary, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* among women: identification of strains producing epidermolytic toxin. *J Clin Pathol* 1991; 44: 681–614.
49. Hamdan-Partida A., Sainz-Espunes T., Bustos-Martinez J. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1701–1705.
50. Hackel M., Iaconis J., Karlowsky J., Sahn D. Comparative in vitro activities of ceftaroline and ceftriaxone against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from 37 countries during 2014–2015. In: American Society of Microbiology Congress; 2017.
51. Vardakas K.Z., Trigkidis K.K., Falagas M.E. Fluoroquinolones or macrolides in combination with  $\beta$ -lactams in adult patients hospitalized with community acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2017; 23: 234.
52. Severiche-Bueno D., Parra-Tanoux D., Reyes L.F. et al. Hot topics and current controversies in community-acquired pneumonia. *Breathe* 2019; 15: 216–225.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Белобородов Владимир Борисович — д. м. н., профессор, ведущий кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Москва

Сапронов Георгий Витальевич — к. м. н., доцент, кафедра инфекционных болезней ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, 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: journal-gnca@yandex.ru или размещаются ЧЕРЕЗ САЙТ журнала после регистрации в личном кабинете автора. Рукописи статей в 1 экз. направляются по адресу: Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия», ул. Нагатинская, д. 3а, 117105. 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, наименования 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 названия, 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. 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 (m) и прописные (M) 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, O — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

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

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

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

12. В журнале используются международные непатентованные названия (МНН) препаратов. Торговые (патентованные) названия, под которыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся в разделе «Материал и методы», с указанием фирмы-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 библиографическом 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. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

17. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

# Ремаксол для печени – время для жизни!



Препарат инициальной терапии  
при поражениях печени  
различного генеза

- Воздействует на основные механизмы развития повреждения печени:
  - митохондриальную дисфункцию
  - повреждение клеточных мембран
  - оксидативный стресс
- активирует клеточное дыхание, повышает энергообеспечение
- стимулирует синтез нуклеотидов и обменные процессы в клетках
- способствует увеличению текучести мембран гепатоцитов, восполняет запасы глутатиона



включен в перечень\*  
**ЖНВЛП**

ПРОИЗВЕДЕНО  
ПО GMP

 **Полисан**

Инфузионный гепатотропный препарат

\* Распоряжение Правительства Российской Федерации от 10 декабря 2018 г. № 2738-р  
РЕКЛАМА. Пер. № АСР-009341/09 от 21.08.2017

www.polysan.ru

**Зинфоро**<sup>®</sup>  
цефтаролина фосамил



Для Вашего пациента с тяжелой инфекцией\*

Высокая антипневмококковая  
и антистафилококковая  
активность<sup>1,2</sup>

Первый β-лактам  
с активностью  
против MSSA и MRSA<sup>3</sup>



**ЗИНФОРО<sup>®</sup> – баланс скорости<sup>4,5</sup>  
и безопасности<sup>6</sup>**

\*С внебольничной пневмонией или осложненной инфекцией кожи и мягких тканей.

#### Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Зинфоро<sup>®</sup> 7

**МНН:** цефтаролина фосамил  
**Фармакологические свойства:** после внутривенного введения быстро превращается в активный цефтаролин — антибиотик класса цефалоспоринов с активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. В исследованиях *in vitro* показано бактерицидное действие цефтаролина, обусловленное ингибированием синтеза клеточной стенки за счет связывания с пенициллинсвязывающими белками (ПСБ). Цефтаролин проявляет бактерицидную активность в отношении метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) и пенициллин-чувствительного *Streptococcus pneumoniae* (PNSP) в связи с его высоким уровнем к измененным ПСБ этих микроорганизмов.

**Показания к применению:**  
Препарат Зинфоро<sup>®</sup> показан к применению у новорожденных, младенцев, детей, подростков и взрослых для лечения следующих инфекций:  
• осложненные инфекции кожи и мягких тканей;  
• внебольничная пневмония (включая случаи с сопутствующей бактериемией, вызванной *Streptococcus pneumoniae*).

Чувствительность антибиотиков *in vitro* меняется в зависимости от географического региона и с течением времени, поэтому при выборе антибактериальной терапии необходимо учитывать местную информацию о резистентности.

**Противопоказания:**  
• Повышенная чувствительность к цефтаролину фосамилю или L-аргинину.

• Повышенная чувствительность к цефалоспорином.  
• Тяжелые реакции повышенной чувствительности немедленного типа (например, анафилактическая реакция) на любое другое антибактериальное средство, имеющее бета-лактамную структуру (например, пенициллины или карбапенемы).

**С осторожностью:** судорожный синдром в анамнезе.

**Способ применения и дозы:**  
Вводится внутривенно в виде инфузии в течение 5-60 мин или 120 минут. Продолжительность терапии должна устанавливаться в зависимости от типа и тяжести инфекции, ответа пациента на терапию.

Рекомендованная дозировка препарата Зинфоро<sup>®</sup> составляет 600 мг каждые 12 часов в виде внутривенной инфузии продолжительностью 5-60 минут (стандартная доза), с соответствующим снижением дозы для пациентов детского возраста.

Для лечения осложненных инфекций кожи и мягких тканей, доказано или предположительно вызванных *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) с МПК цефтаролина <2 мг/л, дозировка препарата Зинфоро<sup>®</sup> составляет 600 мг каждые 12 часов в виде внутривенной инфузии продолжительностью 5-60 минут (стандартная доза), с соответствующим снижением дозы для пациентов детского возраста.

Для лечения пациентов с осложненными ин-

фекциями кожи и мягких тканей, доказано или предположительно вызванными *S. aureus* с МПК цефтаролина от 2 мг/л до 4 мг/л, дозировка препарата Зинфоро<sup>®</sup> составляет 600 мг каждые 8 часов в виде внутривенной инфузии продолжительностью 120 минут (высокая доза), с соответствующим снижением дозы для пациентов детского возраста.

Режим дозирования в зависимости от типа инфекции и возраста указаны в Таблицах 2 и 3 полной версии Инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Зинфоро<sup>®</sup>.

**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:**

При клиренсе креатинина ≤50 мл/мин требуется коррекция дозы согласно рекомендациям, указанным в полной версии Инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Зинфоро<sup>®</sup>.

**Побочное действие:** очень часто: положительная прямая проба Кумбса; часто: диарея, тошнота, рвота, боль в животе, запор, головная боль, головокружение, сыпь, зуд, флебит, брадикардия, повышение активности трансаминаз, гипергликемия, гипокалиемия, лихорадка, реакция в месте инфузии.

**Передозировка:** Данные о передозировке ограничены. Лечение: симптоматическое. Цефта-

ролин частично выводится с помощью гемодиализа.

**Взаимодействие с другими лекарственными средствами:** в исследованиях *in vitro* цефтаролин не ингибировал и не индуцировал основные изоферменты цитохрома P450, в связи с чем вероятность взаимодействия цефтаролина с препаратами, которые метаболизируются под действием изоферментов системы цитохрома P450, низка. Тесты *in vitro* не выявили антагонизма при совместном применении цефтаролина и других часто используемых антибактериальных препаратов.

**Особые указания:** У пациентов с гиперчувствительностью к цефалоспорином, пенициллинам или другим бета-лактамам антибиотикам в анамнезе, может также развиваться аллергическая реакция на цефтаролина фосамил. Следует принимать во внимание возможность развития колита при возникновении диареи на фоне применения цефтаролина фосамила.

**Срок годности:** 3 года.

**Условия отпуска:** по рецепту.

**Форма выпуска:** порошок для приготовления концентрата для приготовления раствора для инфузий, 600 мг, в прозрачных стеклянных флаконах вместимостью 20 мл

**Перед назначением препарата ознакомьтесь с полной инструкцией по медицинскому применению.**

**Регистрационный номер:** ЛП-001912 от 20.11.2012

**Ссылки:** 1. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, 2017. <http://www.eucast.org>. 2. Козлов P.C. и соавт. Чувствительность основных возбудителей бактериальных инфекций к цефтаролину в РФ KMAX. 2015, Том 17, № 3, 217-226. 3. Козлов P.C. и соавт. Цефтаролин – sui generis. KMAX, Том 15, № 2, 124-130. 4. Friedland HD, et al. CANVAS 1 and 2: analysis of clinical response at day 3 in two phase 3 trials of ceftaroline fosamil vs vancomycin plus aztreonam in the treatment of acute bacterial skin and skin structure infections. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56:2231-2236. 5. Eckburg PB, et al. Day 4 clinical response of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone for community-acquired bacterial pneumonia. Infect Dis Clin Pract. 2012;20:254-260. 6. Maggiore C, et al. Ceftaroline fosamil for treating skin and skin structure infections or community-acquired pneumonia in patients with renal insufficiency. Expert Rev Clin Pharmacol. 2015;8:141-153. 7. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Зинфоро<sup>®</sup> ЛП-001912.



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



Доступ к информации о препаратах компании Pfizer возможен на интернет-сайте по медицинской информации [www.pfizermedinfo.ru](http://www.pfizermedinfo.ru)  
Медицинский запрос Вы можете отправить нам по электронной почте [MedInfoRussia@pfizer.com](mailto:MedInfoRussia@pfizer.com)