

Межрегиональная ассоциация
по клинической микробиологии
и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский
институт антимикробной
химиотерапии
ГБОУ ВПО СГМУ
Минздрава России

Учредитель:

Межрегиональная ассоциация
по клинической микробиологии
и антимикробной химиотерапии

Издатель:

ООО «Издательский дом «М-Вести»
www.m-vesti.ru

Журнал зарегистрирован
Комитетом РФ по печати
30.09.1999 г. (№ 019273)
Тираж 2000 экз.

Подписные индексы:

По каталогу «Газеты. Журналы»
агентства «Роспечать»:
82125 – для индивид. подписчиков;
82126 – для организаций.

Адрес для корреспонденции:

127434, г. Москва, а/я 116.
Тел./факс: (495)980-8928

Адрес электронной почты:

smac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:

www.antibiotic.ru/smac
www.m-vesti.ru

Журнал входит в Перечень российских
рецензируемых научных журналов,
в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты
диссертаций на соискание ученой
степени доктора и кандидата наук

Присланные в редакцию статьи проходят
рецензирование

Мнение редакции может не совпадать
с точкой зрения авторов публикуемых
материалов

Ответственность за достоверность
рекламных публикаций несут
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал
обязательна

Содержание

Болезни и возбудители

А. И. Данилов, И. В. Алексеева, Т. В. Аснер, Е. Е. Власова, Е. М. Данилова,
А. В. Дехнич, Е. Л. Дроздович, Ю. В. Егер, Е. В. Елохина, А. Н. Калягин,
Р. С. Козлов, О. И. Кречикова, А. В. Литвинов, В. А. Милягин, В. В. Младов,
Э. А. Ортенберг, Ш. Х. Палютин, У. С. Портнягина, А. А. Рог, И. В. Трушин,
О. Б. Федорова, С. Г. Фоминых, Д. В. Шамес, М. Г. Шпунтов,
С. П. Якупова — Этиология инфекционного эндокардита в России 4

М. Ю. Калугина, Н. В. Каражас, Е. В. Мелёхина, Р. Е. Бошьян,
Т. Н. Рыбалкина, Л. В. Феклисова, И. Б. Репина, Т. М. Лебедева,
Н. Ю. Кан — Проблемы диагностики и лечения заболеваний, вызванных
β-герпесвирусами на современном этапе. 11

Антимикробные препараты

А. В. Голуб — Пероральные цефалоспорины III поколения в амбулаторной
клинической практике: современные аспекты применения 18

Антибиотикорезистентность

А. Г. Афиногенова, Т. М. Ворошилова, Г. Е. Афиногенов,
Г. Г. Родионов — «Метод шахматной доски» как тест для оценки
снижения уровня резистентности грамотрицательных микроорганизмов
к карбапенемам в присутствии бисфосфоната 24

Фармакоэкономика

Ю. А. Белькова, С. А. Рачина, Р. С. Козлов — Клинико-экономическая
оценка использования цефтаролина фосамила в терапии взрослых
госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией
пневмококковой этиологии с позиции общества 33

Лабораторная диагностика

С. Б. Яцышина, Т. И. Карпова, О. В. Мариненко, Ю. Е. Дронина,
Г. М. Галстян, И. С. Тартаковский — Применение ПЦР для диагностики
легионеллезной инфекции у гематологических больных. 52

Опыт работы

Е. В. Детушева, В. Б. Родин, П. В. Слукин, О. Н. Ершова,
И. А. Александрова, Н. В. Курдюмова, С. Ю. Сазыкина,
И. А. Дятлов, Н. К. Фурсова — Чувствительность нозокомальных
штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *P. mirabilis*
к антисептику на основе хлоргексидина 57

Н. И. Брико, Н. Ф. Дмитриева, Д. А. Клейменов, К. В. Липатов,
Е. В. Глушкова, В. В. Котин — Чувствительность к антибиотикам
стрептококков группы А различных *emt* генотипов, выделенных
от больных инвазивными и неинвазивными
инфекциями мягких тканей 67

Т. А. Семенов, Г. Ю. Никитина, Л. В. Ярош, А. И. Баженов,
Д. А. Эльгорт, Д. А. Клейменов, В. Б. Таничева, М. А. Годков,
А. П. Суслов — Серологический и молекулярно-биологический
анализ результатов вакцинации против гепатита В медицинского
персонала многопрофильного стационара 73

Информация

Краткие правила для авторов 79

Journal of:
Interregional Association for Clinical
Microbiology and Antimicrobial
Chemotherapy
Institute of Antimicrobial
Chemotherapy

Publisher:
«Ltd. Publishing House «M-Vesti»
www.m-vesti.ru

Journal is registered by
Russian Committee
on Press and Mass Media
30 September 1999 (No 019273)
Print run 2,000

Corresponding Address:
Journal «Clinical Microbiology
and Antimicrobial Chemotherapy»,
127434, Moscow, Russia,
PO Box 116
Tel./Fax: +7 (495)980-8928
Email: cmac@antibiotic.ru

Internet address:
www.antibiotic.ru/cmacc
www.m-vesti.ru

Peer reviewed

Opinions expressed do not necessarily
reflect the views of the Editorial Board

The publisher and the Interregional
Association for Clinical Microbiology and
Antimicrobial Chemotherapy disclaim
any responsibility for reliability
of advertisements

All rights reserved

Proper citation is required

Contents

Diseases and Pathogens

- A.I. Danilov, I.V. Alekseeva, T.V. Asner, E.E. Vlasova, E.M. Danilova,
A.V. Dekhnich, E.L. Drozdovich, Yu.V. Eger, E.V. Elokhina, A.N. Kalyagin,
R.S. Kozlov, O.I. Krechikova, A.V. Litvinov, V.A. Milyagin, V.V. Mladov,
E.A. Ortenberg, Sh.H. Palyutin, U.S. Portnyagina, A.A. Rog,
I.V. Trushin, O.B. Fedorova, S.G. Fominykh D.V. Shames,
M.G. Shpuntov, S.P. Yakupova — Etiology of Infective Endocarditis in Russia 4
- M.Yu. Kalugina, N.V. Karazhas, E.V. Melekhina, R.E. Boshyan ,
T.N. Rybalkina, L.V. Feklisova, I.B. Repina, T.M. Lebedeva,
N.Yu. Kan — Problems of Management of β -herpesviral Infections. 11

Antimicrobials

- A.V. Golub — Oral Third-Generation Cephalosporins
in Current Outpatient Clinical Practice 18

Antimicrobial Resistance

- A.G. Afinogenova, T.M. Voroshilova, G.E. Afinogenov,
G.G. Rodionov — «Checkerboard Array» as a Test for Evaluation
of Decrease in Gram-Negative Bacteria Resistance to Carbapenems
in the Presence of Bisphosphonate 24

Pharmacoeconomics

- Y.A. Belkova, S.A. Rachina, R.S. Kozlov — Clinico-Economic Effectiveness
of Ceftaroline Fosamil for the Treatment of Hospitalised Patients
with Pneumococcal Community-Acquired Pneumonia from
a Societal Perspective. 33

Laboratory Diagnosis

- S.B. Yatzyshina, T.I. Karpova, O.V. Marinenko, Yu.E. Dronina,
G.M. Galstyan, I.S. Tartakovskiy — Use of PCR for Diagnosis
of Legionella Infection in Hematological Patients. 52

Personal Experience

- E.V. Detusheva, V.B. Rodin, P.V. Slukin, O.N. Ershova,
I.A. Aleksandrova, N.V. Kurdyumova, S.Yu. Sazykina, I.A. Dyatlov,
N.K. Fursova — Susceptibility of Nosocomial *K. pneumoniae*,
P. aeruginosa, *A. baumannii*, and *P. mirabilis* Strains
to a Chlorhexidine-Based Antiseptic Preparation 57

- N.I. Briko, N.F. Dmitrieva, D.A. Kleymenov, K.V. Lipatov, E.V. Glushkova,
V.V. Kotin — Antimicrobial Susceptibility of Group A Streptococci
of Different *emm* Genotypes, Isolated from Patients with Invasive
and Non-Invasive Skin and Soft Tissue Infections 67

- T.A. Semenenko, G. Ju. Nikitina, L.V. Yarosh, A.I. Bazhenov, D.A. Elgort,
D.A. Kleimenov, V.B. Tanchikova, M.A. Godkov, A.P. Suslov — Serological
and Molecular Analysis of the Results of Medical Staff Vaccination
Against Hepatitis B 73

Information

- Rules for Authors. 79

Главный редактор:
А.И. Синопальников Москва

Editor-in-Chief:
A.I. Sinopalnikov Moscow

Исполнительный директор:
Г.Г. Пискунов Москва

Production Manager:
G.G. Piskunov Moscow

Зам. главного редактора:
А.В. Дехнич Смоленск

Deputy Editor-in-Chief:
A.V. Dekhnich Smolensk

Ответственный секретарь:
А.В. Веселов Смоленск

Editorial Manager:
A.V. Veselov Smolensk

Редакционная коллегия:

Г.Е. Афиногенов С.-Петербург
А.А. Визель Казань
Н.А. Ефименко Москва
Л.К. Катосова Москва
Н.Н. Климко С.-Петербург
Р.С. Козлов Смоленск
Ю.В. Лобзин С.-Петербург
В.В. Малеев Москва
Э.А. Ортенберг Тюмень
В.И. Петров Волгоград
В.В. Покровский Москва
М.Н. Преображенская Москва
В.А. Руднов Екатеринбург
А.М. Савичева С.-Петербург
С.В. Сидоренко Москва
И.С. Тартаковский Москва
А.А. Тотолян С.-Петербург
А.А. Фирсов Москва
Г.Я. Ценева С.-Петербург
С.Б. Якушин Смоленск

Editorial Board:

G.E. Afinogenov St.-Petersburg
A.A. Vizel Kazan
N.A. Efimenko Moscow
L.K. Katosova Moscow
N.N. Klimko St.-Petersburg
R.S. Kozlov Smolensk
Ju.V. Lobzin St.-Petersburg
V.V. Maleev Moscow
E.A. Ortenberg Tjumen
V.I. Petrov Volgograd
V.V. Pokrovskiy Moscow
M.N. Preobrazhenskaya Moscow
V.A. Rudnov Ekaterinburg
A.M. Savicheva St.-Petersburg
S.V. Sidorenko Moscow
I.S. Tartakovski Moscow
A.A. Totoljan St.-Petersburg
A.A. Firsov Moscow
G.Ya. Tseneva St.-Petersburg
S.B. Yakushin Smolensk

Международный редакционный совет:

П. Аппельбаум Херши, США
Дж. Бартлетт Балтимор, США
И. Березняков Харьков, Украина
Х. Гарау Барселона, Испания
Н. Дои Ниигата, Япония
Ж. Занель Манитоба, Канада
Э. Каплан Миннеаполис, США
Д. Корналия Верона, Италия
С. Леви Бостон, США
Д. Ливермор Лондон, Великобритания
Т. Мацеи Флоренция, Италия
Т. Мацумото Китакуши, Япония
К. Набер Штраубинг, Германия
К. Норд Гудинге, Швеция
А. Родлоф Лейпциг, Германия
Э. Рубинштейн Манитоба, Канада

International Advisory Board:

P. Appelbaum Hershey, USA
J. Bartlett Baltimore, USA
I. Bereznyakov Kharkov, Ukraine
J. Garau Barcelona, Spain
N. Doi Niigata, Japan
G. Zhanel Manitoba, Canada
E. Kaplan Minneapolis, USA
G. Cornaglia Verona, Italy
S. Levy Boston, USA
D. Livermore London, UK
T. Mazzei Florence, Italy
T. Matsumoto Kitakyushu, Japan
K. Naber Straubing, Germany
C. Nord Huddinge, Sweden
A. Rodloff Leipzig, Germany
E. Rubinstein Manitoba, Canada

Редактор номера:
С.М. Кузнецова Москва

Editor of Issue:
S.M. Kuznetsova Moscow

Этиология инфекционного эндокардита в России

А. И. Данилов¹, И. В. Алексеева², Т. В. Аснер³, Е. Е. Власова⁴, Е. М. Данилова⁵,
А. В. Дехнич¹, Е. Л. Дроздович⁶, Ю. В. Егеръ⁷, Е. В. Елохина⁸, А. Н. Калягин³, Р. С. Козлов¹,
О. И. Кречикова¹, А. В. Литвинов⁹, В. А. Милягин⁹, В. В. Младов¹, Э. А. Ортенберг¹⁰,
Ш. Х. Палютин¹¹, У. С. Портнягина², А. А. Рог⁴, И. В. Трушин¹, О. Б. Федорова¹²,
С. Г. Фоминых¹³, Д. В. Шамес¹⁴, М. Г. Шпунтов⁹, С. П. Якупова¹⁴

¹НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

²ГУЗ «Республиканская больница № 2 — Центр экстренной медицинской помощи», Якутск, Россия

³ГБОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, Иркутск, Россия

⁴Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова, Москва, Россия

⁵ОГБУЗ ДКБ детская поликлиника № 4, Смоленск, Россия

⁶ГБОУ ВПО Северный государственный медицинский университет Минздрава России, Архангельск, Россия

⁷ОГБУЗ «Клиническая больница скорой медицинской помощи», Смоленск, Россия

⁸ГУЗ «Омская областная клиническая больница», Омск, Россия

⁹ГБОУ ВПО Смоленский государственный медицинский университет Минздрава России, Смоленск, Россия

¹⁰ГБОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия Минздрава России, Тюмень, Россия

¹¹ГБОУ ВПО Ярославская государственная медицинская академия Минздрава России, Ярославль, Россия

¹²НУЗ ЦКБ № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД», Москва, Россия

¹³ГБОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Минздрава России, Омск, Россия

¹⁴ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань, Россия

Цель. Проанализировать этиологию инфекционного эндокардита в РФ.

Материал и методы. Проведено многоцентровое проспективное (сентябрь 2011 г. — декабрь 2013 г.) и ретроспективное (январь 2006 г. — сентябрь 2011 г.) исследование этиологии инфекционного эндокардита (ИЭ) в лечебных учреждениях 10 городов различных регионов РФ. В исследование включались пациенты с определенным и вероятным ИЭ, у которых проводился забор хотя бы одного образца крови для микробиологического исследования.

Результаты. Всего в анализ включен 401 случай ИЭ, из них 161 (40,1%) — при проспективном исследовании, 240 (59,9%) — при ретроспективном. Предполагаемый возбудитель ИЭ был обнаружен в 36,2% ($n=145$) случаев. Среди выделенных микроорганизмов преобладали

грам (+) микроорганизмы, которые составляли 88,3% ($n=125$), среди них: *Staphylococcus aureus* — 67 штаммов (46,2% от всех выделенных штаммов). Метициллинорезистентными являлись 28,4% (19/67) штаммов *S. aureus* и 38,1% (8/21) штаммов коагулаза(-) стафилококков. Из 23 штаммов *Enterococcus* spp. 13 (61,9%) были устойчивы к гентамицину.

Выводы. В Российской Федерации от пациентов с ИЭ наиболее часто выделяются грам(+) микроорганизмы, среди которых главную роль играет *S. aureus*. Существенную проблему в выборе терапии может представлять высокая частота устойчивости к бета-лактамам у *Staphylococcus* spp. и к аминогликозидам у *Enterococcus* spp.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, этиология, антибиотикорезистентность.

Контактный адрес:

Андрей Игоревич Данилов

Эл. почта: Andrey.Danilov@antibiotic.ru

Etiology of Infective Endocarditis in Russia

A.I. Danilov¹, I.V. Alekseeva², T.V. Asner³, E.E. Vlasova⁴, E.M. Danilova⁵, A.V. Dekhnich¹, E.L. Drozdovich⁶, Yu.V. Eger⁷, E.V. Elokhina⁸, A.N. Kalyagin³, R.S. Kozlov¹, O.I. Krechikova¹, A.V. Litvinov⁹, V.A. Milyagin⁹, V.V. Mladov¹, E.A. Ortenberg¹⁰, Sh.H. Palyutin¹¹, U.S. Portnyagina², A.A. Rog⁴, I.V. Trushin¹, O.B. Fedorova¹², S.G. Fominykh¹³, D.V. Shames¹⁴, M.G. Shpuntov⁹, S.P. Yakupova¹⁴

1 Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

2 Republic Hospital #2 – Center for Emergency Medical Care, Yakutsk, Russia

3 Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

4 City Clinical Hospital #15 named after O.M. Filatov, Moscow, Russia

5 Children Outpatient Clinic #4, Smolensk, Russia

6 Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

7 Clinical Emergency Care Hospital, Smolensk, Russia

8 Omsk Regional Clinical Hospital, Omsk, Russia

9 Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

10 Tyumen State Medical Academy, Tyumen, Russia

11 Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, Russia

12 Hospital named after N.N. Semashko, Moscow, Russia

13 Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia

14 Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Objective. To investigate etiology of infective endocarditis in Russian Federation.

Material and Methods. Multicenter prospective (September 2011 to December 2013) and retrospective (January 2006 – September 2011) studies to investigate etiology of infective endocarditis (IE) were performed at medical institutions in 10 Russian cities. Patients with definite or possible diagnosis of IE who have at least 1 blood culture collected were enrolled in the study.

Results. A total of 401 patients with IE were included in the analysis: 161 (40.1%) prospective cases and 240 (59.9%) retrospective cases. Probable pathogens were isolated from 145 patients (36.2%). Gram-positive bacteria were the most prevalent pathogens – 88.3% (n=125),

specifically *Staphylococcus aureus* (46.2% of all isolates). Methicillin resistance was found in 28.4% (19/67) of *S. aureus* isolates and 38.1% (8/21) of coagulase-negative staphylococci. Most enterococci isolates were resistant to gentamicin (61.9%).

Conclusions. Gram-positive bacteria are the most common pathogens in patients with IE in Russian Federation, with *S. aureus* as a predominant one. The high beta-lactam and aminoglycoside resistance rates in staphylococci and enterococci, respectively, would make it difficult to select appropriate therapy for IE.

Key words: infective endocarditis, etiology, antimicrobial resistance.

Введение

По данным различных авторов, заболеваемость инфекционным эндокардитом (ИЭ) составляет 3–10 случаев на 100 тыс. человек в год [1–6]. Несмотря на совершенствование методик диагностики и терапии, летальность от ИЭ остается достаточно высокой, составляя 15–20% [7–9].

Для обеспечения высокоэффективных мер контроля ИЭ прежде всего необходимо знать структуру возбудителей данной нозологии и осуществлять регулярный мониторинг динамики их резистентности к антимикробным препаратам. Знание этих показателей позволит не только более эффективно бороться с ИЭ, но и оптимизировать антимикробную терапию, что, в свою очередь, позволит повысить эффективность лечения больных.

Очевидно, что необходимо располагать отечественными данными по этиологической структуре ИЭ и уровню резистентности основных возбудителей к антимикробным препаратам. Однако до сих

пор в РФ недостаточно данных, характеризующих данную проблему.

Целью настоящего исследования явилось изучение этиологии ИЭ в РФ.

Материал и методы

Было проведено многоцентровое исследование, состоящее из 2 частей: проспективной (сентябрь 2011 г. – декабрь 2013 г.) и ретроспективной (январь 2006 г. – сентябрь 2011 г.).

В исследование включен 401 (в проспективной части – 161, в ретроспективной – 240) случай ИЭ. Пациенты находились на стационарном лечении в 11 лечебных учреждениях 10 городов России (табл. 1). Все стационары, принявшие участие в исследовании, имеют многопрофильный характер и располагают собственной микробиологической лабораторией.

В исследование включались пациенты обоего пола всех возрастных групп с определенным

Таблица 1. Географическое распределение включенных в исследование случаев ИЭ

Город	Число случаев ИЭ		
	Проспективное исследование	Ретроспективное исследование	Всего
Архангельск	33	12	45
Иркутск	–	13	13
Казань	2	1	3
Москва:	37	126	163
стационар 1	28	112	140
стационар 2	9	14	23
Омск	23	–	23
Санкт-Петербург	1	–	1
Смоленск:	34	58	92
стационар 1	18	47	65
стационар 2	16	10	26
стационар 3	0	1	1
Тюмень	5	–	5
Якутск	15	7	22
Ярославль	11	23	34
ВСЕГО	161	240	401

Таблица 2. Характеристика включенных в исследование случаев ИЭ

Характеристики	Проспективная часть исследования	Ретроспективная часть исследования	Все случаи
Возраст, М±m	45,0±16,9	42,0±15,4	43,0±16,1
Пол:			
мужчины	120/161 (74,5)	155/240 (64,6)	275/401 (68,6)
женщины	41/161 (25,5)	85/240 (35,4)	126/401 (31,4)
Локализация ИЭ:			
митральный клапан	72/161 (44,7)	103/240 (42,9)	175/401 (43,6)
аортальный клапан	65/161 (40,4)	88/240 (36,7)	153/401 (38,2)
трикуспидальный клапан	56/161 (34,8)	84/240 (35,0)	140/401 (34,9)
клапан легочной артерии	–	1/240 (0,4)	1/401 (0,3)
Тип клапана:			
нативный клапан	133/161 (82,6)	217/240 (90,4)	350/401 (87,3)
протезированный клапан	28/161 (17,4)	23/240 (9,6)	51/401 (12,7)
Факторы риска:			
в/в наркомания	49/161 (30,4)	90/240 (37,5)	139/401 (34,7)
ППС ¹	52/161 (32,3)	66/240 (27,5)	118/401 (29,4)
ВПС ²	14/161 (8,7)	23/240 (9,6)	37/401 (9,2)
ранее перенесенный ИЭ	27/161 (16,8)	38/240 (15,8)	65/401 (16,2)
предшествующая операция на сердце (1 год назад)	28/161 (17,4)	23/240 (9,6)	51/401 (12,7)
предшествующие ИКМТ ³ (90 дней назад)	12/161 (7,5)	18/240 (7,5)	30/401 (7,5)

Примечание. Здесь и в табл. 3.

¹ ППС – приобретенный порок сердца; ² ВПС – врожденный порок сердца; ³ ИКМТ – инфекции кожи и мягких тканей.

и вероятным ИЭ. Критериями включения в исследование были:

- 1) наличие диагноза определенного или вероятного ИЭ в истории болезни пациента;
- 2) факт взятия хотя бы одного образца крови для бактериологического исследования;

- 3) данные эхокардиографии;
- 4) доступность медицинской документации для заполнения индивидуальной регистрационной карты пациента.

Взятие крови для микробиологического исследования, идентификация возбудителя и определе-

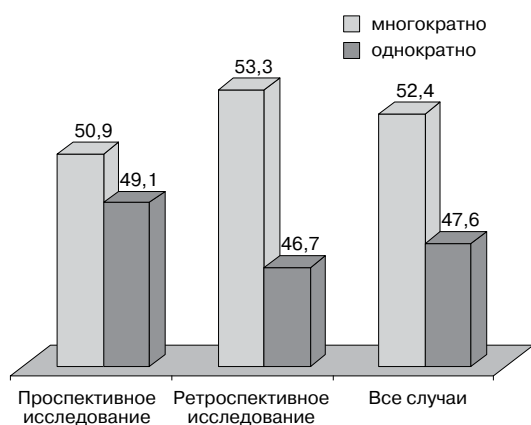


Рис. 1. Соотношение кратности микробиологического исследования крови при включенных в исследование случаях ИЭ, %.

ние его чувствительности к антибиотикам проводились в соответствии с рутинной локальной практикой.

В ходе исследования на пациента собирались анамнестические и клинические данные. Данные вносились в специально разработанные индивидуальные регистрационные карты и в дальнейшем вводились с использованием метода двойного ввода в специализированную базу данных, разработанную на основе базы управления данными Microsoft Access для Windows. Статистическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета SAS Institute (США), версия 8.02 для Windows XP.

Результаты исследований

Демографическая характеристика пациентов, локализация инфекции, тип пораженного клапана, факторы риска развития ИЭ приведены в табл. 2.

При проведении микробиологического исследования крови однократное взятие крови было в 47,6%, многократное – в 52,4% случаев (рис. 1).

Взятие образцов крови для микробиологического исследования проводилось до назначения стартовой антимикробной терапии только в 16,7% случаев (рис. 2).

Возбудитель инфекции был определен только в 35,4% ($n=142$) из включенных в исследование случаев. Среди выделенных микроорганизмов преобладали грам(+) бактерии (90,1%, $n=128$), в том числе – *Staphylococcus aureus* (47,2% от всех выделенных возбудителей) (табл. 3). При этом *S. aureus* был ведущим возбудителем во всех группах пациентов вне зависимости от наличия/отсутствия различных факторов риска и типа пораженного



Рис. 2. Распределение случаев взятия крови для микробиологического исследования относительно времени назначения стартовой антимикробной терапии в ходе настоящей госпитализации, %.

клапана. Однако наибольшая частота выделения данного возбудителя отмечалась при в/в наркомании и у пациентов с ранее перенесенным ИЭ: 60,6 и 50,0% соответственно (табл. 3).

В рамках проспективного исследования метициллинорезистентными являлись 12 из 30 штаммов *S. aureus* (40,0%) и 1 из 6 штаммов коагулаза (-) стафилококков (16,7%); 3 из 12 штаммов *Enterococcus* spp. (25%) были устойчивы к гентамицину. В ретроспективном исследовании метициллинорезистентными являлись 7 из 37 штаммов *S. aureus* (18,9%) и 7 из 15 штаммов коагулаза(-) стафилококков (46,7%); 10 из 11 штаммов *Enterococcus* spp. (90,9%) были устойчивы к гентамицину. Таким образом, за весь период исследования 19 из 67 выделенных штаммов *S. aureus* (28,4%) и 8 из 21 штамма коагулаза(-) стафилококков (38,1%) являлись метициллинорезистентными, а 13 из 23 штаммов *Enterococcus* spp. (56,5%) были резистентны к гентамицину.

Из наиболее значимых факторов риска ИЭ наибольшая частота выделения MRSA отмечалась при ранее перенесенном ИЭ – 7/7 (100%) и при ранее перенесенной операции на сердце – 8/9 (88,9%).

При поражении протезированных клапанов доля выделения MRSA была достоверно выше в сравнении с поражением нативных клапанов (72,7% vs 19,4%, $p=0,0011$).

Обсуждение результатов

Микробиологическая диагностика играет ведущую роль в выборе режима антимикробной терапии у пациентов с ИЭ [6–10]. В то же время

Таблица 3. Этиология случаев ИЭ с выявленным возбудителем

Особенности заболевания (число случаев ИЭ)	<i>S. aureus</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	Коагулаза(-) стафилококк	<i>Streptococcus</i> gr. <i>viridans</i>	Грам(-) бактерии
Все случаи ИЭ (n=142)	67 (47,2%)	23 (16,2%)	21 (14,8%)	17 (12%)	14* (9,8%)
В/в наркомания (n=61)	37 (60,6%)	5 (8,2%)	8 (13,1%)	4 (6,6%)	7 (11,5%)
ИКМТ, 90 дней (n=13)	4 (30,8%)	4 (30,8%)	—	3 (23,1%)	2 (15,3%)
Ранее перенесенный ИЭ (n=20)	10 (50,0%)	6 (30,0%)	2 (10,0%)	1 (5,0%)	1 (5,0%)
Ранее перенесенная операция на сердце (n=23)	11 (47,8%)	4 (17,4%)	4 (17,4%)	1 (4,4%)	3 (13,0%)
ВПС (n=9)	3 (33,3%)	3 (33,3%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)
ППС (n=33)	143 (42,4%)	6 (18,2%)	5 (15,1%)	6 (18,2%)	2 (6,1%)
Нативные клапаны (n=119)	56 (47,1%)	19 (16,0%)	17 (14,3%)	16 (13,4%)	11** (9,2%)
Протезированные клапаны (n=23)	11 (47,8%)	4 (17,4%)	4 (17,4%)	1 (4,4%)	3*** (13,0%)

Примечание. * — *Acinetobacter* spp. — 4 (2,8%), *Serratia marcescens* — 2 (1,4%), *Klebsiella* spp. — 2 (1,4%), *Achromobacter xylosoxidans* — 1 (0,7%), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* — 1 (0,7%), *Weeksella virosa* — 1 (0,7%), *Alcaligenes faecalis* — 1 (0,7%), *Escherichia coli* — 1 (0,7%), *Stenotrophomonas maltophilia* — 1 (0,7%).

** — *Acinetobacter* spp. — 4 (3,36%), *Serratia marcescens* — 2 (1,68%), *Klebsiella* spp. — 2 (1,68%), *Weeksella virosa* — 1 (0,84%), *Alcaligenes faecalis* — 1 (0,84%), *Escherichia coli* — 1 (0,84%).

*** — *Achromobacter xylosoxidans* — 1 (4,35%), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* — 1 (4,35%), *Stenotrophomonas maltophilia* — 1 (4,35%).

в проведенном исследовании этиологически значимый возбудитель был выявлен лишь в 35,4% случаев. Такая низкая результативность микробиологической диагностики может быть объяснена рядом факторов, среди которых: 1) назначение антимикробной терапии в большинстве случаев до взятия образцов крови (88,3%); 2) недостаточная кратность посевов крови; 3) недостаточный объем крови для исследования; 4) отсутствие использования молекулярно-биологических и серологических методов диагностики [9, 10].

В качестве возбудителей ИЭ могут выступать различные микроорганизмы, большинство из которых является грам(+) бактериями [9–12]. Вместе с тем, за последние десятилетия в этиологической структуре ИЭ произошли определённые изменения. Основным из них является то, что ведущим возбудителем стал *S. aureus*, а не стрептококки группы *viridans*, как это было ранее [9, 10]. Это объясняется изменениями в соотношении факторов риска данной патологии. Среди них первостепенное значение в настоящее время играют в/в наркомания, инвазивные диагностические и лечебные манипуляции на сердце и крупных сосудах, катетеризация центральных вен. В то же время роль стоматологических манипуляций и плохой гигиены полости рта стала менее значимой [9, 10].

Вышеуказанное повышение роли *S. aureus* в этиологии ИЭ наблюдается в большинстве стран [13, 14]. В проведенном нами исследовании *S. aureus* также был наиболее часто выделяемым возбудителем (см. табл. 3).

Наряду с увеличением роли *S. aureus* в последние десятилетия имеет место и некоторая тенденция роста частоты выделения *Enterococcus* spp. при ИЭ [13, 15–17]. Возможной причиной этого является то, что на сегодняшний день *Enterococcus* spp. стал одним из основных возбудителей амбулаторных и нозокомиальных случаев бактериемии. В проведенном нами исследовании доля *Enterococcus* spp. составила 16,2% (см. табл. 3), т.е. данный возбудитель являлся вторым по частоте выделения после *S. aureus*.

Характеризуя этиологические особенности ИЭ, также следует отметить, что, согласно ряду публикаций, в последние годы несколько увеличилась частота ИЭ, вызванного грам(-) микроорганизмами (включая представителей группы НАСЕК) [18,19]. Так, по данным одного из локальных российских исследований, частота выделения грам(-) бактерий составила 11,1% [13]. В проведенном нами исследовании грам(-) бактерии (в том числе представители группы НАСЕК) составляли 9,8% в этиологической структуре исследованных случаев ИЭ.

Определённая роль в этиологии ИЭ в последнее время отводится некультивируемым и труднокультивируемым бактериям (*Coxiella burnetii*, риккетсии, *Bartonella* spp., *Brucella* spp., *Tropheryma whipplei*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp.), идентификация которых требует проведения молекулярных и серологических методов исследования [20]. Более того, в ряде регионов, например в некоторых южно-европейских странах, *Coxiella burnetii* стала одним из самых частых возбудителей ИЭ. Вместе с тем, согласно проведенному нами исследованию, молекулярные и серологические методы диагностики ИЭ в нашей стране пока не применяются.

Обращает на себя внимание и имеет важное значение при выборе режима терапии рост антибиотикорезистентности ряда возбудителей ИЭ, в первую очередь *S. aureus* [21]. Согласно проведенному нами исследованию, 28,4% всех выделенных штаммов *S. aureus* являлись метициллинорезистентными (MRSA). И этот факт не может быть оставлен без внимания, поскольку означает, что возбудителями ИЭ в 13,4% случаев с установленной этиологией были штаммы *S. aureus*, устойчивые к стандартной стартовой эмпирической терапии, основой которой в большинстве случаев являются бета-лактамы антибиотиков. Кроме того, наиболее часто назначаемый при терапии MRSA инфекций ванкомицин имеет целый ряд фармакокинетических и фармакодинамических недостатков, потенциально снижающих

эффективность антибиотикотерапии при ИЭ, вызванном данным возбудителем [22].

Ещё одним тревожным моментом с точки зрения антибиотикорезистентности является крайне высокая частота устойчивости к аминогликозидам (гентамицину) выделенных в проведенном исследовании штаммов *Enterococcus* spp. — 61,9%. Фактически это означает, что в 10% случаев ИЭ с установленной этиологией невозможно будет достичь бактерицидного эффекта при применении комбинаций аминопенициллинов или ванкомицина с гентамицином, являющихся терапией выбора при энтерококковом эндокардите.

Конечно же, представленное исследование имеет определённые ограничения. Эти ограничения связаны, в первую очередь, с недостаточно адекватной микробиологической диагностикой ИЭ в нашей стране. Это, в свою очередь, обусловлено взятием материала для исследования уже после начала антибиотикотерапии, малым объемом крови для исследования и недостаточной кратностью её забора, а также практически полным отсутствием применения молекулярных и серологических методов диагностики. Поэтому полученные данные по этиологии ИЭ могут быть искажены, предположительно за счет снижения доли труднокультивируемых и некультивируемых микроорганизмов, а также возбудителей, отличающихся высокой чувствительностью к антибиотикам.

Литература

1. Hoen B., Alla F., Selton-Suty C., Beguinot I., et al. Changing profile of infective endocarditis: results of a 1-year survey in France. *JAMA* 2002; 288:75-81.
2. Hogevik H., Olaison L., Andersson R., Lindberg J., Alestig K. Epidemiologic aspects of infective endocarditis in an urban population. A 5-year prospective study. *Medicine (Baltimore)* 1995; 74:324-39.
3. Moreillon P., Que Y.A. Infective endocarditis. *Lancet* 2004; 363:139-49.
4. Friedman N.D., Kaye K.S., Stout J.E., McGarry S.A., et al. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002; 137:791-7.
5. Durack D.T., Lukes A.S., Bright D.K. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings. Duke Endocarditis Service. *Am J Med* 1994; 96:200-9.
6. Чипигина Н.С., Белостоцкий А.В. Инфекционный эндокардит: изменение предрасполагающих факторов и эволюция возбудителей. *Сердце: журнал для практикующих врачей* 2010; 9(4):242-50.
7. Cabell C., Jollis J., Peterson G. et al. Changing patient characteristics and the effect on mortality in endocarditis. *Arch Intern Med* 2002;162(1):90-4.
8. Li J.S., Sexton D.J., Mick N., Nettles R., et al. Proposed modifications to the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2000; 30:633-8.
9. Habib G., Hoen B., et al. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009). *Eur Heart J* 2009; 30:2369-413.
10. Baddour L., Wilson W., Bayer A., et al. Infective endocarditis: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation* 2005; 111:e394-434.
11. Murdoch D.R., Corey G.R., Hoen B., Miro J.M., et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study. *Arch Intern Med* 2009; 169:463-73.

12. Fitzsimmons K., Bamber A., Smalley H. Infective endocarditis: changing aetiology of disease. *Br J Biomed Sci* 2010; 67(1):35-41.
13. Моисеев В. С., Котова Е. О., Караулова Ю. Л. Эпидемиология и клиническое течение современного инфекционного эндокардита (по данным муниципальной больницы). *Клин фармакол тер* 2014; 23(3):62-6.
14. Николаевский Е. Н., Хубулава Г. Г., Шустов С. Б. Современные этиологические аспекты инфекционного эндокардита. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2006; 8(2):31.
15. Тюрин В. П. Современные подходы к терапии инфекционного эндокардита. *Сердце: журнал для практикующих врачей* 2010; 9(5):307-12.
16. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S., Seifert H., Wenzel R., Edmond M. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309-17.
17. Luzzaro F., Ortisi G., Larosa M., Drago M., Brigante G., Gesu G. Prevalence and epidemiology of microbial pathogens causing bloodstream infections: results of the OASIS multicenter study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 69: 363-69.
18. Morpeth S., Murdoch D., Cabell C.H., Karchmer A.W. Non-HACEK gram-negative bacillus endocarditis. *Ann Intern Med* 2007; 147(12):829-35.
19. Das M., Badley A.D., Cockerill F.R., Steckelberg J.M., Wilson W.R. Infective endocarditis caused by HACEK microorganisms. *Ann Rev Med* 1997; 48:25-33.
20. Brouqui P., Raoult D. Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(1):177-207.
21. Prendergast B. The changing face of infective endocarditis. *Heart* 2006; 92:879-85.
22. Cosgrove S.E., Qi Y., Kaye K.S., Harbarth S., Karchmer A.W., Carmeli Y. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, hospital charges. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26(2):166-74.

Проблемы диагностики и лечения заболеваний, вызванных β -герпесвирусами, на современном этапе

М. Ю. Калугина¹, Н. В. Каражас¹, Е. В. Мелёхина², Р. Е. Бошнян¹, Т. Н. Рыбалкина¹, Л. В. Феклисова³, И. Б. Репина³, Т. М. Лебедева², Н. Ю. Кан²

¹ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

³ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия

В статье представлена современная классификация герпесвирусов. Описаны клинические формы инфекций, которые вызывают β -герпесвирусы. Рассмотрены современные методики диагностики данных инфекций. Даны

схемы этиотропного лечения описанных вирусных заболеваний.

Ключевые слова: β -герпесвирусы, ЦМВ, ВГЧ-6, диагностика, лечение.

Problems of Management of β -herpesviral Infections

M. Yu. Kalugina¹, N. V. Karazhas¹, E. V. Melekhina², R. E. Boshyan¹, T. N. Rybalkina¹, L. V. Feklisova³, I. B. Repina³, T. M. Lebedeva², N. Yu. Kan²

¹Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya, Moscow, Russia

²Piragov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³Moscow Regional Clinical Research Institute named after M. F. Vladimirovsky, Moscow, Russia

The article presents the current classification of herpesviruses, clinical features of infections caused by β -herpesviruses, as well as methods of laboratory diagnosis and treatment of these infections.

Key words: β -herpesviruses, CMV, HHV-6, diagnosis, treatment.

На протяжении многих лет *герпесвирусные инфекции* (ГВИ) вызывают стойкий интерес у вирусологов, микробиологов, иммунологов, гистологов, фармакологов и клиницистов различных специальностей. Это объясняется полиорганотропностью вирусов этого семейства и, как следствие, разнообразной симптоматикой, что обуславливает трудности в диагностике и лечении пациентов. Нельзя не сказать и о том, что подавля-

ющее большинство населения Земли инфицировано одним или несколькими вирусами этого семейства. Отдельно стоит упомянуть тот факт, что герпесвирусы используют различные пути и механизмы передачи. Все эти особенности затрудняют диагностику, препятствуют изучению течения вызванных ими заболеваний, а также значительно усложняют связанные с ними эпидемиологические исследования.

Основная цель данного сообщения — обзор наиболее интересных исследований, посвящённых проблеме изучения β -герпесвирусов, выполненных в последние годы.

Контактный адрес:

Мария Юрьевна Калугина

123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Вирусы герпеса способны поражать эритроциты, тромбоциты, лейкоциты и макрофаги. Длительная персистенция вирусов в организме формирует нестерильный иммунитет. При герпесвирусных инфекциях, как и при других хронических заболеваниях, могут развиваться иммунодефицитные состояния, обусловленные недостаточностью различных звеньев иммунной системы и ее неспособностью элиминировать вирус из организма. Сохраняющиеся в течение всей жизни вируснейтрализующие антитела хотя и препятствуют распространению, но не предупреждают возникновение рецидивов.

На сегодняшний день известно 8 типов *герпесвирусов* (ГВ) человека, которые, в силу сходства структуры, отдельных биологических свойств и особенностей строения принадлежат к тому или иному семейству. Всего таких семейств три: α , β и γ .

Вирусы подсемейства *Alphaherpesvirinae* характеризуются коротким циклом репродукции с цитопатическим эффектом в клетках инфицированных культур. К ним относятся: вирус простого герпеса 1-го и 2-го типов и вирус Varicella Zoster.

Вирусы подсемейства *Bethaherpesvirinae* характеризуются строго выраженной патогенностью для одного вида хозяев. В состав их входят цитомегаловирус и вирусы герпеса человека 6-го и 7-го типов.

Вирусы подсемейства *Gammaherpesvirinae* характеризуются строго выраженным тропизмом к В- или Т-лимфоцитам, в которых они длительно персистируют. К ним относятся вирус Эпштейна–Барр и вирус герпеса человека 8-го типа.

Как известно, β -герпесвирусы имеют длительный цикл репликации, могут находиться в латентном состоянии в разных органах и тканях (лейкоцитах, железах секреции, почках и т. д.). Они имеют ограниченный диапазон носителей и отличаются медленным ростом в культуре.

Цитомегаловирус (ЦМВ), относящийся к β -семейству, является вирусом герпеса человека 5-го типа. Вирус характеризуется пожизненным персистенцированием в организме и образованием в пораженных органах специфических гигантских клеток — цитомегалов. Как при первичном инфицировании, так и при реактивации цитомегаловирусной инфекции могут развиваться поражения самых разных органов, проявляющиеся интерстициальной пневмонией, гепатитом, энтероколитом, хориоретинитом, также возможны менингоэнцефалит, язвенное поражение кишечника и пищевода.

Особое внимание врачей различных специальностей, в первую очередь гинекологов, акушеров и педиатров, вызывает врожденная цитомегалия, которая возникает при первичном инфицировании

женщин во время беременности и при обострении латентной инфекции. Поражение плода характеризуется большим разнообразием и зависит от сроков гестации. На ранних сроках возможны выкидыш, гибель плода, мертворождение или рождение с пороками развития. Более поздние сроки инфицирования приводят к лихорадке новорождённого. Возможно развитие желтухи, геморрагий на коже, гепатоспленомегалии, поражения легких, ЦНС и пищеварительного тракта. У 5% детей цитомегалия протекает с симптомами, сходными с краснухой. Ещё в 5% случаев впоследствии развивается церебральная кальцификация, сопровождающаяся снижением коэффициента интеллекта, нейросенсорной глухотой и психомоторной заторможенностью.

ЦМВ-инфекция является большой проблемой в неонатологии, поражает в основном недоношенных детей с ослабленным иммунитетом и обычно проявляется в виде сыпи, пневмонии, гепатоспленомегалии или энцефалита. Индийскими учёными недавно был описан необычный случай постнатально приобретённой ЦМВ-инфекции, которая проявлялась как энтероколит с затяжной диареей у иммунокомпетентного ребенка в неонатальном периоде. Они доказали, что ЦМВ следует рассматривать в дифференциальной диагностике диарей у детей в неонатальном периоде и лечение ганцикловиром при ЦМВ-энтероколите является наиболее эффективным [1].

ЦМВ-инфекция — одна из основных причин болезней и смертей у пациентов с иммунодефицитами, включая реципиентов органов; пациентов, находящихся на гемодиализе; пациентов со злокачественными новообразованиями; ВИЧ-инфицированных, а также лиц, получающих иммунодепрессанты. Эти пациенты должны быть максимально защищены от источников инфекции, чтобы минимизировать риск возникновения острого заболевания. При отсутствии необходимого внимания восприимчивые люди могут заразиться через препараты крови при переливании или при трансплантации заражённых органов. Таким образом, цитомегаловирусная инфекция — яркий представитель оппортунистических инфекций.

У иммунокомпрометированных пациентов ЦМВ-инфекция протекает более остро и может проявляться как:

- ✓ цитомегаловирусный гепатит, сопровождающийся острой печёночной недостаточностью;
- ✓ цитомегаловирусный хориоретинит, увеит;
- ✓ цитомегаловирусный колит;
- ✓ цитомегаловирусная пневмония;
- ✓ полирадикулопатия (корешковый синдром).

Другим представителем β -герпесвирусов является *вирус герпеса человека 6-го типа* (ВГЧ-6). Считается, что ВГЧ-6 играет не последнюю роль в возникновении *синдрома хронической усталости* (СХУ). Наряду с другими инфекционными агентами, которые могли бы вызвать развитие СХУ (энтеровирусы, ВЭБ, ВГЧ-7, ВИЧ-1 и др.), не было подтверждено, что какой-то из этих возбудителей был истинным этиологическим фактором СХУ. Именно по этой причине хотелось бы особо отметить работу американских исследователей, в которой у пациентов с СХУ из мононуклеарных клеток периферической крови была выделена ДНК нового вируса семейства γ -ретровирусов человека под названием ксенотропный вирус, родственный вирусу мышиной лейкемии — XMRV (xenotropic murine leukemia virus — related virus). Проведённые оригинальные исследования на пациентах с СХУ (озеро Тахо, США), отобранных по жёстким требованиям, учитывая диагностические критерии заболевания, позволили обнаружить в 67% случаев (68 человек из 101) вирус XMRV. Достоверность полученных данных была подтверждена не только высокоточными автоматизированными методами, но и в ходе биотестов на культуре чувствительных к вирусу клеток. Всё это позволяет полагать, что между СХУ и вирусом XMRV может быть связь. Однако для подтверждения этиологической роли вируса в развитии заболевания потребуются проведение дополнительных исследований [2].

Следует учитывать то обстоятельство, что ВГЧ-6 обладает иммунодепрессивными и нейротропными свойствами, может вызывать острое лихорадочное заболевание, энцефалит и эпилептические приступы. Эти симптомы могут развиваться во время первичной инфекции. Вирус способен к реактивации в организме иммунокомпрометированных пациентов после длительной латенции, по прошествии многих лет после первичного инфицирования. При этом развиваются самые разнообразные органические поражения и системные проявления.

В последние годы к ВГЧ-6 растёт интерес среди кардиологов. Немецкими исследователями была опубликована работа, в которой показано, что ВГЧ-6 вызывает миокардит намного чаще, чем считалось ранее: 31 из 87 биопсий миокарда (35%), взятых у пациентов с миокардитом, оказались положительными на ВГЧ-6. Учёными также было доказано, что ВГЧ-6 причастен к процессу прогрессирования поражения миокарда и способствует более частому возникновению хронической сердечной недостаточности. Кроме того, в отличие от пациентов с инфекцией, вызванной парвовирусом В-19 (наиболее распространённый вирус, иден-

тифицированный в миокарде), пациенты с ВГЧ-6 часто не предъявляют жалоб на боли в грудной клетке и вовремя не обращаются за медицинской помощью [3].

Американские коллеги определили наличие ВГЧ-6 в 23% из 172 биопсий от больных миокардитом и пришли к выводу, что в случае исчезновения вируса (что произошло спонтанно в 44% случаев), отмечалось медленное восстановление левожелудочковой фракции выброса, в то время как у пациентов, у которых сохранялась репродуктивная активность вируса, имело место прогрессирующее ухудшение состояния с развитием сердечной недостаточности [4].

А. М. Lerner нашел отклонения при холтеровском мониторинге пациентов с СХУ, у которых были выявлены повышенные титры антител к ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6. Кроме того, он продемонстрировал улучшение симптомов СХУ и показателей кардиальной функции при проведении антивирусной терапии с использованием ганцикловира и валацикловира [5–7].

Другая группа исследователей определила снижение функциональной активности сердца у пациентов с СХУ при проведении импедансной кардиографии [8]. По результатам исследований был сделан вывод, что ВГЧ-6 заражает эндотелиоциты аорты и эндотелиальные клетки сердца, способствуя развитию локального воспаления с повышенной выработкой провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые известны как факторы прогрессирования сердечной недостаточности [9]. ВГЧ-6 поражает эндотелиальные клетки аорты, вен и капилляров сердца, а также повреждает сосуды и эндотелий, являясь более агрессивным, чем ЦМВ, и может вызывать тромботическую микроангиопатию [10]. Также были описаны истории болезни пациентов с ВГЧ-6-инфекцией в ассоциации с артериитом крупных сосудов и молниеносным миокардитом [11].

Клинические признаки дают возможность диагностировать ВГЧ-6-инфекцию только в случае «внезапной экзантемы», когда присутствует яркая специфическая клиническая картина. Только методы лабораторной диагностики способны дать врачу информацию для верификации диагноза.

Молекулярно-генетическая диагностика, состоящая из ДНК-гибридизации или ПЦР, даёт возможность верифицировать диагноз в большинстве случаев ГВИ. Специфичность результатов ДНК-гибридизации составляет 90%, однако чувствительность метода не превышает 65–70%. В то же время чувствительность ПЦР составляет 98%, а специфичность — 94%, что ставит это

исследование на лидирующее место в диагностике ГВИ. Несомненным преимуществом ПЦР-диагностики является возможность проведения скринингового исследования с большим охватом обследованных, а также высокая скорость (3–6 часов) получения результатов. Укоренившееся мнение о том, что выявление ДНК в крови — признак реактивации инфекции, а выявление в слюне — признак персистирующей инфекции, не всегда отражает действительное положение дел, так как встречаются случаи тяжёлых форм инфекции, не сопровождающиеся вирусемией. Врач должен понимать, что вирус необходимо искать в тех средах и тканях, где отмечаются клинические симптомы поражения.

Известно, что различают качественную, полуколичественную и количественную методики ПЦР-анализа. На сегодняшний день разработано более 10 разновидностей ПЦР. Одной из них является количественная ПЦР или ПЦР *в реальном времени* (real-time). Основным отличием данного метода от других является подсчёт результатов после каждого цикла амплификации, такая методика ведёт к получению наиболее точных результатов. Качественная и полуколичественная методики ПЦР не позволяют однозначно различить латентную, персистирующую и реактивированную инфекцию в периферических тканях и органах, так как при всех этих ситуациях в организме присутствует вирусная ДНК. В большинстве случаев задача решается путём проведения количественной real-time ПЦР, поскольку этот метод позволяет корректно оценить отличия в величине вирусной нагрузки, которые имеют место при персистирующей и реактивированной инфекции. Считается, что наиболее корректно разграничить персистирующую и реактивированную инфекцию позволяет метод ПЦР обратной транскрипции, обеспечивающий идентификацию вирусных мРНК, т. е. продуктов экспрессии вирусного генома. Вложенная или гнездовая (nested) ПЦР позволяет выявлять низкое количество вирусной ДНК в пробе, характеризуясь повышенной чувствительностью, однако требует более длительного времени для постановки, поэтому не применима в экстренных случаях.

Иммунобиологические методы, направленные на идентификацию антигенов вируса и определение антител к ним (иммуноферментный анализ, иммунофлюоресцентный метод), помогают преодолеть ложноотрицательные или ложноположительные результаты ПЦР. Специфичность таких методов составляет около 90%, однако чувствительность гораздо ниже 60–90%.

Большим достоинством иммунобиологических методов серодиагностики является возможность

оценки напряжённости гуморального иммунитета, что указывает также и на состояние иммунного статуса обследуемого и способствует подбору рациональной иммунотерапии. Специфичность таких тестов свыше 90%, чувствительность находится в пределах 80–95%.

Существует мнение, что при реактивации вируса титр антител будет нарастать скачкообразно примерно более чем в 3–4 раза за 2 недели. К сожалению, на практике получить такие результаты не всегда удаётся, так как имеется существенное ограничение по времени для проведения таких исследований. Несмотря на это, метод парных сывороток остаётся в арсенале врачей и сегодня. Следует также отметить, что выявление титров антител, значительно превышающих верхние границы нормы, при наблюдении клинической картины свидетельствует о реактивации инфекции. В то же время, у лиц с дефицитом антителообразования даже при реактивации такого эффекта может не последовать.

Выявление антител класса IgM практически всегда свидетельствует о первичной инфекции и только в редких случаях о реактивации, причем после длительного латентного периода. Не следует забывать, что у некоторого количества людей (5%) IgM не продуцируется, в то время как у других этот маркер может находиться чрезвычайно долго, до 3 месяцев и более. Кроме того, искажать результаты может применение специфического иммуноглобулина и сывороток.

Определение антител к ранним антигенам того или иного герпесвируса, которые присутствуют только в острый период инфекции, а также оценка avidности противовирусных антител весьма приемлемы для разграничения первичной и хронической инфекции, но такой подход не всегда надёжен и доступен.

Иммунобиологические методы диагностики, направленные на определение антител, не всегда высокоинформативны. Причина этого — значительная распространённость герпесвирусов в человеческой популяции. Данные методы не выявляют непосредственно возбудитель или его составляющие, такие как антигены и ДНК. Применение этих методов в комплексе с молекулярно-генетическими и иммунологическими существенно увеличивает их диагностическую ценность. Кроме того, постановка серологических реакций в динамике даёт возможность выявить сероконверсию.

Применение **серологических методов при диагностике нейроинфекций** имеет свои особенности. Гематоэнцефалический барьер в норме практически непроницаем для антител, но при некоторых патологиях (эпилепсия, рассеянный склероз, энце-

фалит) он становится проницаем для них. В этой ситуации необходимо проводить сравнительное исследование концентрации антител в сыворотке и ликворе, что позволит провести дифференциальный диагноз между этими заболеваниями и реактивацией герпесвирусов.

Разновидностью иммунобиологического метода диагностики является вирусологический метод, который предусматривает **применение культуры клеток** и обладает рядом бесспорных преимуществ: позволяет отличить штаммы ВГЧ-6А и ВГЧ-6В, латентную и реактивированную инфекцию, а также оценить чувствительность выделенного вируса к противовирусным препаратам. Однако этот метод характеризуется сложным техническим выполнением и потому малодоступен, а также требуется сравнительно длительное время для выявления репродукции вируса (для ЦМВ — 21 день, для ВГЧ-6 — 5–15 суток), которое определяется сроком развития цитопатического эффекта в культуре заражённых клеток, что ограничивает его использование в рутинных лабораторных исследованиях.

Ускорить получение результатов можно за счёт **быстрого культурального метода (БКМ)**, что достигается за счёт добавления митогенов, усиливающих пролиферацию клеток. Однако эта методика не всегда позволяет адекватно отличить латентную и реактивированную инфекцию, так как возможна реактивация скрытого вируса под влиянием митогенов.

Цитологический и гистологический методы используются для верификации злокачественных новообразований, индуцированных герпесвирусами, а также для подтверждения диагноза ГВИ в сложных случаях, при этом в биоптатах обнаруживают характерные крупные шарообразные клетки с эозинофильными тельцами вирусных включений. Кроме того, при мононуклеозоподобном синдроме ВГЧ-6-этиологии в крови можно выявить небольшое количество атипичных мононуклеаров (вирицитов). Также возможно проведение иммуногистохимического анализа, при помощи которого можно выявить антигены вируса в исследуемых тканях с использованием диагностикумов, состоящих из специфических меченых антител.

Иммунологическое обследование в случае реактивации ВГЧ-6-инфекции является обязательным, учитывая оппортунистические свойства вируса и его способность индуцировать вторичную иммуносупрессию. Результаты этого обследования можно использовать для дальнейшего назначения иммунотерапии. Необходимо провести дифференциальную диагностику между нарушениями

показателей иммунитета, вызванными самой ВГЧ-6-инфекцией, и предшествующими нарушениями, которые спровоцировали формирование хронического вирусного поражения (например побочных эффектов иммуносупрессивных препаратов или изменения в иммунном статусе у больных с первичным иммунодефицитом). Кроме того, иммунологические обследования незаменимы для мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции у ВГЧ-6-инфицированных пациентов, а также для ранней диагностики проявлений реакции отторжения трансплантата и реакции “трансплантат против хозяина”, учитывая важную патогенетическую роль ВГЧ-6 при этих клинических ситуациях [12].

Результаты исследований ряда авторов [11, 13, 14] убедительно показали необходимость и значение лабораторной диагностики инфекций, вызванных β -герпесвирусами. Поставленный в лаборатории предварительный диагноз на основании выявления маркеров острых моно- и микст-ГВИ, как при первичном инфицировании, с учетом клинической картины заболевания позволяет врачам своевременно назначить или скорректировать этиотропную терапию своим пациентам.

Подходы к терапии герпесвирусных инфекций состоят не только в элиминации вирусов из организма, но и в коррекции тех изменений в иммунной системе, которые возникают под действием вирусов. Для правильного подбора противовирусного средства необходимо установить клинко-эпидемиологическую стадию течения инфекции [15, 16].

В настоящее время наиболее широко применяемым при активных формах герпесвирусной инфекции является метод противогерпетической химиотерапии ациклическими нуклеозидами.

Суть метода состоит в том, что активным действующим препаратом становится синтетический аналог какого-либо естественного нуклеозида, входящего в состав молекулы ДНК герпесвируса. При насыщении организма псевдонуклеозидом он будет широко использоваться при построении дочерних ДНК вируса, делая ДНК (а следовательно, и вирусы) функционально неактивными.

Хронологически первым лечебным синтетическим нуклеозидом был **ацикловир** — 9 [(2-гидрокситокси)-метил]-гуанин, синтетический ациклический аналог нуклеозида гуанозина, созданный на британской фирме Wellcome Foundation Ltd в 1974 году. Гуанозин — один из самых частых концевых и внутренних нуклеозидов ДНК герпесвирусов, он составляет 16% всех повторов в цепях ДНК герпесвирусов. Это обусловило очень высокую терапевтическую активность ацикловира, ставшего «золотым стандартом» про-

тивогерпетической химиотерапии. Этот препарат используют у грудных детей и беременных женщин. Создатель ацикловира Гертруда Элион была удостоена Нобелевской премии.

Валацикловир представляет собой L-валиновый эфир ацикловира. Эфирная «надстройка» обеспечивает высокий уровень всасываемости перорально введенного препарата, повышая его биодоступность в 4–5 раз, при полном сохранении уникально высокого уровня безопасности и переносимости. Механизм действия валацикловира отличается от механизма действия ацикловира только на первом этапе, когда в кишечнике и печени валацикловир при помощи фермента валацикловир-гидролазы освобождается от своей эфирной «надстройки», превращаясь в ацикловир, который в дальнейшем включается в синтез дефектных ДНК новых поколений герпесвирусов.

Пенцикловир используется при герпетическом везикулярном дерматите губ (*herpes labialis*), простом герпесе в любой клинической стадии. Используется в виде крема наружно. Взрослым и детям старше 16 лет наносят на высыпания каждые 2 часа днем в течение 4 дней. Активен в отношении ВПГ-1, ВПГ-2, ВВЗ, ВЭБ, ЦМВ, ВГВ.

Ганцикловир — препарат выбора при ЦМВ-инфекции. Используется парентерально в виде натриевой соли и в капсулах для поддерживающей терапии у больных ВИЧ-положительных, группы риска по ЦМВ-инфекции. У детей до 12 лет его применяют в случаях, когда ожидаемая польза терапии превышает риск развития побочных эффектов.

Фамцикловир относится к группе пенцикловиринов. Применяется перорально и обладает активностью в отношении широкого спектра вирусов герпеса, включая ВВЗ, ВПГ-1 и ВПГ-2, также продемонстрирована его активность в отношении ВГВ.

В детском возрасте до 12 лет разрешён только препарат ацикловир. В литературе встречаются сообщения об успешном применении ганцикловира, валацикловира у детей младше 3 лет с генерализованными формами герпесвирусной инфекции — по жизненным показаниям.

Однако все без исключения ациклические нуклеозиды подавляют только активно размножающиеся (репродуцирующиеся) герпесвирусы. А это зна-

чит, что даже самое эффективное разовое использование курса какого-либо химиотерапевтического препарата ни в коей мере не предотвращает возможный рецидив той же самой ГВИ или, тем более, новую ГВИ, вызванную родственным штаммом или новым типом герпесвируса. Вероятно, это — самое серьезное ограничение существующей химиотерапии ГВИ.

Сейчас ни у кого уже не вызывает сомнений, что длительная хроническая инфекция, вызванная вирусами герпетической группы, приводит к изменению реакций иммунной системы. В результате длительно существующей инфекции, вызванной вирусами, располагающимися внутриклеточно, у пациентов развивается вторичная иммунная недостаточность, характеризующаяся нарушением неспецифической защиты, а также клеточного и гуморального звена (гипоиммуноглобулинемия, сенсibilизация к антигенам вируса) адаптивного иммунитета [17–21].

В нашей стране применяется большое количество препаратов, направленных на коррекцию нарушений иммунной системы, их можно подразделить на три группы.

I. Противовирусные препараты:

- аналоги нуклеозидов;
- ингибиторы с другим механизмом действия.

II. Средства для иммунозаместительной и интерферозаместительной терапии:

- специфические иммуноглобулины;
- интерфероны и их индукторы.

III. Герпетические вакцины: живые, инактивированные, рекомбинантные.

Зарубежные авторы пишут лишь о возможности применения противогерпетических иммуноглобулинов и интерферонов внутривенно, а также об использовании препарата Инозин пранобекс, который оказывает комбинированное противовирусное и иммуномодулирующее действие.

Терапия герпесвирусных инфекций должна быть длительной и поэтапной. Регулярное обследование пациентов на активность инфекции с определением вирусных частиц в клетке крайне необходимо для подбора терапии и её коррекции. Только в этом случае назначение противовирусных и иммуномодулирующих средств может быть высокоэффективно.

Литература

1. Dasari V., Smith C., Khanna R. Recent advances in designing an effective vaccine to prevent cytomegalovirus-associated clinical diseases. *Expert Rev Vaccines* 2013; 12(6):661-76.
2. Lombardi V. C., Ruscetti F. W., Das Gupta J., et al. Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science* 2009; 326:585-9.

3. Mahrholdt H., Wagner A., Deluigi C. C., et al. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation* 2006; 114(15):1581-90.
4. Kuhl U., Pauschinger M., Seeberg B., et al. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation* 2005; 112(13):1965-70.
5. Lerner A. M., Beqaj S. H., Deeter R. G., et al. A six-month trial of valacyclovir in the Epstein-Barr virus subset of chronic fatigue syndrome: improvement in left ventricular function. *Drugs Today* 2002; 38(8):549-61.
6. Lerner A. M., Zervos M., Chang C. H., et al. A small, randomized, placebocontrolled trial of the use of antiviral therapy for patients with chronic fatigue syndrome. *Clin Infect Dis* 2001; 32(11):1657-8.
7. Lerner A. M., Lawrie C., Dworkin H. S. Repetitively negative changing T waves at 24-h electrocardiographic monitors in patients with the chronic fatigue syndrome. Left ventricular dysfunction in a cohort. *Chest* 1993; 104(5):1417-21.
8. Peckerman A., LaManca J. J., Dahl K. A., et al. Abnormal impedance cardiography predicts symptom severity in chronic fatigue syndrome. *Am J Med Sci* 2003; 326(2):55-60.
9. Caruso A., Rotola A., Comar M., et al. HHV-6 infects human aortic and heart microvascular endothelial cells, increasing their ability to secrete proinflammatory chemokines. *J Med Virol* 2002; 67(4):528-33.
10. Takatsuka H., Wakae T., Mori A., et al. Endothelial damage caused by cytomegalovirus and human herpesvirus-6. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31(6):475-9.
11. Toyabe S., Harada W., Suzuki H., et al. Large vessel arteritis associated with human herpesvirus 6 infections. *Clin Rheumatol* 2002; 21(6):528-32.
12. Казмирчук В. Е., Мальцев Д. В. Методические рекомендации. Диагностика и лечение инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа. Киев, 2010.
13. Калугина М. Ю., Каражас Н. В., Рыбалкина Т. Н. и др. Актуальность диагностики инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа. *Детские инфекции* 2012; 11(1):60-3.
14. Рыбалкина Т. Н., Каражас Н. В., Калугина М. Ю. и др. Роль возбудителей оппортунистических инфекций в этиологии обструктивного бронхита и длительного субфебрилитета у детей. *ЖМЭИ* 2012; (4):121-5.
15. Ершов Ф. И., Романцов М. Г., Мельникова И. Ю. Антивирусные препараты в практике педиатра: справочник практикующего врача. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013.-337с.
16. Исаков В. А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей /- СПб: СпецЛит, 2006. - 303 с.
17. Боковой А. Г. Герпесвирусные инфекции у детей. Москва, МАКС Пресс 2008 г., 140 с.
18. Лындин А. А. Клинико-иммунологическая характеристика нефротической формы гломерулонефрита, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией у детей и повышение эффективности его лечения: Автореф. дисс. канд. мед. наук. - М, 2012. - 22 с.
19. Мюкке Н. А., Сенцова Т. Б., Таточенко В. К. Клинико-вирусологическое обоснование патогенетической терапии герпетической инфекции типа 6 у детей. *Педиатрическая фармакология* 2006; 3(4):17-21.
20. Романцов М. Г., Ершов Ф. И. Часто болеющие дети. Современная фармакотерапия: Руководство для врачей. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2009. - 352 с.
21. Рыбалкина Т. Н., Каражас Н. В., Калугина М. Ю. и др. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций при длительных субфебрилитетах и обструктивных бронхитах у детей при микст-инфекциях. *Детские инфекции* 2013; 12(3):40-3.

Пероральные цефалоспорины III поколения в амбулаторной клинической практике: современные аспекты применения

А. В. Голуб

ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

В статье рассмотрены актуальные вопросы применения пероральных цефалоспоринов III поколения в амбулаторной клинической практике с точки зрения принципов рациональной антимикробной терапии, национальных данных по чувствительности возбудителей к антибиотикам

и доказательных данных, полученных в результате качественных клинических исследований.

Ключевые слова: инфекции мочевых путей, инфекции дыхательных путей, обострение ХОБЛ, цефиксим.

Oral Third-Generation Cephalosporins in Current Outpatient Clinical Practice

A.V. Golub

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

This paper presents current issues with the oral third-generation cephalosporins in outpatient clinical practice. These data are based on the principles of appropriate antimicrobial therapy, national antimicrobial susceptibility

data, and evidence-based data from the well-designed clinical trials.

Key words: urinary tract infections, respiratory tract infections, COPD exacerbation, cefixime.

Вопросы рационального использования антибиотиков являются сегодня краеугольным камнем *антибактериальной терапии* (АБТ) инфекционных заболеваний, что связано, прежде всего, с глобальной тенденцией роста устойчивости их возбудителей и риском неэффективности назначаемых препаратов. Согласно основному принципу АБТ — этиологической направленности — назначаемый препарат должен обладать высокой активностью в отношении основных возбудителей данного заболевания с минимальным риском селективного дав-

ления на другие микроорганизмы. Последнее условие является важным и для уменьшения последствий т. н. «параллельного ущерба», суть которого заключается в селекции резистентности возбудителей, не являющихся целью терапии, а также селекции резистентности к другим (не используемым в настоящий момент) *антимикробным препаратам* (АМП) [1].

Цефалоспорины (ЦС) являются одним из основных и жизненно важных классов современных АМП, широкое применение которых обусловлено химиотерапевтической эффективностью при различных инфекциях и хорошим профилем безопасности, присущим всем бета-лактамам. К отличительным особенностям ЦС III поколения относят их более высокую активность в отношении широкого круга грамотрицательных бактерий, связанную

Контактный адрес:
Алексей Викторович Голуб
Эл. почта: Alex.Golub@antibiotic.ru

с устойчивостью к действию некоторых бета-лактамов, вырабатываемых данными возбудителями. На этом фоне ЦС III поколения уступают ранним поколениям в плане активности в отношении лишь некоторых грамположительных бактерий, например золотистого стафилококка, преобладающего при инфекциях кожи и мягких тканей, на фоне высокой активности в отношении пенициллиночувствительных штаммов *Streptococcus pneumoniae* как основного бактериального возбудителя *инфекций дыхательных путей* (ИДП).

Широкий антимикробный спектр ЦС III поколения обуславливает и показания к их применению, основными из которых являются *инфекции мочевых путей* (ИМП), инфекции верхних и нижних дыхательных путей (вызванные в т. ч. пенициллиночувствительными *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*), некоторые *инфекции* (гонорея), *передаваемые половым путем* (ИППП). В плане комбинированной терапии ЦС III поколения показаны при *интраабдоминальных инфекциях* (ИАИ) и *воспалительных заболеваниях органов малого таза* (ВЗОМТ). В плане рассматриваемой нами амбулаторной клинической практики основным экономическим преимуществом и важным условием комплаентности терапии является возможность перорального приема препарата с как можно более редким интервалом дозирования. В этом свете национальная практика амбулаторного использования ЦС III поколения была обеднена по объективным причинам изначально небогатого выбора и доступности обсуждаемых препаратов.

Относительно недавнее появление на отечественном рынке цефиксима, обладающего всеми свойствами классических пероральных ЦС III поколения и отвечающего при этом жестким требованиям рационального применения антибиотиков в амбулаторных условиях, существенно расширило возможности выбора для врача в терапии ИДП и ИМП. Далее рассмотрим обоснования для рекомендаций по использованию цефиксима в амбулаторных условиях на основе национальных данных по чувствительности возбудителей таких инфекций к препарату и результатов клинических исследований.

Инфекции дыхательных путей

Высокая социальная значимость респираторных инфекций, обусловленная их повсеместной распространенностью, частотой и тяжестью, предъявляет высокие требования к эффективности и безопасности АМП, назначаемых при риносинусите, внебольничной пневмонии и инфекционном обострении *хронической обструктивной болезни легких*

(ХОБЛ). Несмотря на известную анатомическую и этиологическую общность инфекционной патологии дыхательных путей, спектр возбудителей последних имеет определенные различия и особенности, исключая возможность обобщенного подхода к вопросу выбора АБТ.

Принимая во внимание риски хронизации и нередкую возможность развития серьезных орбитальных и внутричерепных осложнений острого риносинусита, особенно актуальным становится вопрос об адекватной стартовой терапии данного заболевания [2]. Согласно данным, полученным НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» и Научно-методическим центром по мониторингу антибиотикорезистентности Минздрава России в многоцентровом исследовании SSSR, к наиболее частым возбудителям острого риносинусита относятся *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, частота выделения которых из максиллярного синуса у взрослых пациентов составила 47,0 и 23,8% соответственно (суммарно — 70,8%). При этом ассоциации данных возбудителей были выделены еще в 6,9% случаев [3].

Наибольшей активностью в отношении данных возбудителей, наряду с ингибиторозащищенными аминопенициллинами, современными макролидами и респираторными фторхинолонами, обладали и ЦС III поколения (для 100 и >97% пневмококка и гемофил). На этом фоне 28,2 и 41,6% штаммов *S. pneumoniae* продемонстрировали резистентность к тетрациклину и ко-тримоксазолу, а резистентность среди *H. influenzae* к амоксициллину (вследствие возможной продукции микроорганизмом бета-лактамаз) и ко-тримоксазолу составила 9,0 и 25,4% штаммов соответственно.

Наиболее частыми причинами инфекционных обострений ХОБЛ являются бактериальные, вирусные респираторные инфекции и атмосферные поллютанты, однако причины примерно 20–30% случаев обострений установить не удастся. Среди бактерий при обострении ХОБЛ наибольшую роль играют *H. influenzae*, *S. pneumoniae* и *M. catarrhalis*. Исследования, включавшие больных с тяжелыми обострениями ХОБЛ, показали, что у таких больных могут чаще встречаться энтеробактерии и *Pseudomonas aeruginosa* (см. таблицу). Именно поэтому выбор наиболее подходящих антибиотиков для терапии обострения ХОБЛ зависит от многих факторов, таких как тяжесть ХОБЛ, факторы риска неблагоприятного исхода терапии (например пожилой возраст, низкие значения ОФВ₁, предшествующие частые обострения, сопутствующие заболевания и предшествующая АБТ).

Вероятные возбудители инфекционного обострения ХОБЛ, с учетом тяжести течения, и рекомендации выбора АМП

Тяжесть течения ХОБЛ	ОФВ ₁	Наиболее частые возбудители	Выбор АМП
Лёгкое и среднетяжёлое течение, без факторов риска*	>50%	Вирусы <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Амоксициллин Макролиды (азитромицин, кларитромицин) ИЗП (амоксициллин/клавуланат, ампициллин/сульбактам) ЦС III (цефиксим, цефдиторен, цефтибутен) Респираторные ФХ (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин)
Лёгкое и среднетяжёлое течение, с факторами риска*	>50%	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> PRSP	ИЗП (амоксициллин/клавуланат, ампициллин/сульбактам) ЦС III (цефиксим, цефдиторен, цефтибутен, цефтриаксон)
Тяжёлое течение	30–50%	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> PRSP Энтеробактерии	Респираторные ФХ (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин)
Крайне тяжёлое течение	<30%	<i>Haemophilus influenzae</i> PRSP Энтеробактерии <i>P. aeruginosa</i> **	ФХ с антисинегнойной активностью (левофлоксацин, ципрофлоксацин) ЦС с антисинегнойной активностью (цефтазидим, цефепим, цефоперазон/сульбактам) Карбапенемы (имипенем, меропенем) Пиперациллин/тазобактам

Примечание. PRSP — пенициллинорезистентные *S. pneumoniae*

*Факторы риска: возраст ≥ 65 лет, сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, печеночная/почечная недостаточность, частые обострения (≥ 2 в год).

**Предикторы инфекции *P. aeruginosa*:

- частые курсы антибиотиков (>4 за последний год);
- ОФВ₁ $<30\%$;
- выделение *P. aeruginosa* в предыдущие обострения, колонизация *P. aeruginosa*;
- частые курсы системных ГКС (>10 мг преднизолона в последние 2 недели);
- бронхоэктазы.

Важнейшим обоснованием использования ЦС III поколения при ИДП в России являются данные, полученные нами в крупномасштабном исследовании «ПеГАС», проведенном в 1999–2009 гг. в различных регионах России, когда за указанный период было выделено 2419 штаммов пневмококков — возбудителей пневмонии, острого среднего отита, обострения ХОБЛ, бактериемии и др. Чувствительность самого частого возбудителя ИДП к цефиксиму при этом была выявлена у 93,2% штаммов [4].

Наши данные, касающиеся второго по частоте (но не по значимости, т. к. продукция бета-лактамаз является фактором, ограничивающим выбор АМП) возбудителя ИДП — гемофильной палочки, выделенного за период с 2004 по 2009 гг., и охватившие 691 штамм патогена, показали, что чувствительность *H. influenzae* к ЦС III поколения была сохранена у 100% штаммов [5].

Тем не менее, только результаты качественных клинических исследований эффективности и безопасности АМП являются окончательными аргументами для дальнейших рекомендаций выбора препарата при той или иной инфекции. Так, по

данным зарубежных исследователей клиническая и микробиологическая эффективность цефиксима при остром риносинусите у взрослых достаточно высока и составляет от 84 до 90% [6, 7]. В недавних отечественных исследованиях была продемонстрирована высокая клиническая эффективность цефиксима у пациентов с острым риносинуситом и острым средним отитом, составлявшая, по разным данным, от 86,7 до 96,4% [8, 9]. Сегодня также существует не лишнее оснований мнение, что с широким использованием конъюгированной пневмококковой вакцины именно бета-лактамазопродуцирующие гемофилы и моракселлы могут играть ведущую роль в возникновении инфекций дыхательных путей, в связи с чем возрастает и значимость пероральных ЦС III поколения в их этиотропной терапии [10].

АБТ инфекционных обострений ХОБЛ является предметом непрекращающихся исследований и дискуссий, что обусловлено объективными сложностями многогранной этиологии и патогенеза заболевания. В целом, согласно данным зарубежных авторов, клиническая эффективность цефиксима при данной патологии превышает

80–85%, что является достаточно хорошим показателем [11–13].

Инфекции мочевых путей

Как известно, основным возбудителем ИМП является кишечная палочка, этиологическая значимость которой может достигать 95%. Суммарно, все энтеробактерии в качестве единственного возбудителя могут быть ответственны и за все случаи ИМП в популяции. Характерной особенностью грамтрицательных инфекций в настоящее время является проблема возможной продукции возбудителями *бета-лактамаз расширенного спектра* (БЛРС), что существенно осложняет задачу эмпирического выбора АМП для терапии ИМП. БЛРС способны разрушать не только аминопенициллины, но и ингибиторозащищенные пенициллины, а также ЦС. Кроме того, продукция этих ферментов является предиктором множественной устойчивости патогенов, в том числе и к фторхинолонам и аминогликозидам. На сегодняшний день всевозрастающая проблема продукции БЛРС энтеробактериями характерна не только для внутрибольничных инфекций, но и для инфекций внебольничной этиологии, что не позволяет формально подходить к выбору АМП и требует обязательного изучения локальной эпидемиологии резистентности.

В крупнейшем отечественном исследовании «ДАРМИС», проведенном нами в 2010–2011 гг. в 26 центрах 18 городов России, у детей и взрослых всех возрастных групп с острыми (и обострениями хронических) внебольничными ИМП (включая беременных с бессимптомной бактериурией) было выделено 903 штамма патогенов. Доминирующим возбудителем являлась *E. coli* (65,1%) при общей доле всех энтеробактерий, составившей 85,4% в структуре возбудителей. В субпопуляции взрослых пациентов с неосложненными ИМП чувствительностью к цефиксиму характеризовались 94,5% штаммов кишечной палочки. Сравнимо высокой (93,6%) оказалась и чувствительность кишечной палочки, выделенной от аналогичной субпопуляции детей (пациентов в возрасте до 18 лет) [14].

Исходя из задачи сохранения активности бета-лактамов и фторхинолонов в отношении энтеробактерий, рациональным сегодня считается назначение препаратов из группы нитрофуранов или фосфомицина при неосложненном цистите (у женщин), когда основной задачей является создание и поддержание эффективных концентраций в моче. Тем не менее, показания к назначению ЦС могут возникать при неэффективности указанных препаратов или рецидиве заболевания, а также в случае

имеющихся противопоказаний к использованию фторхинолонов.

Дополнительным требованием при лечении неосложненного пиелонефрита является создание бактерицидных концентраций АМП в паренхиме почек. Именно в таких клинических ситуациях оправданно возникают показания для назначения фторхинолонов и ЦС III поколения [15]. Здесь следует отметить, что имеющиеся ограничения применения фторхинолонов в педиатрии и относительная небезопасность аминогликозидов делают ЦС III поколения антибиотиками первоочередного выбора в свете высокой устойчивости кишечной палочки к ко-тримоксазолу (23,5%), аминопенициллинам и ингибиторозащищенным пенициллинам (41,5% — к ампициллину и 29,5% — к амоксициллину/клавуланату) при неосложненных пиелонефритах у детей [14].

Клиническая и бактериологическая эффективность цефиксима при неосложненных пиелонефритах всегда была достаточно высока (до 92 и 100% соответственно) и сопоставима с эффективностью цефтриаксона, что было показано в проспективном рандомизированном исследовании, проведенном у 144 женщин в возрасте 18–75 лет [16]. Тем не менее, исходя из факта в целом большей эффективности фторхинолонов по сравнению с бета-лактамами при ИМП, большинство относительно недавних исследований цефиксима в этой области касаются только двух групп пациентов — беременных и детей [17].

Отечественными авторами была продемонстрирована равная клиническая эффективность (по 93,3%) цефиксима и ципрофлоксацина (3 дня парентерально с последующим переходом на пероральную форму препарата) у пациентов с обострением хронического пиелонефрита и одинаково высокая эффективность цефиксима в сравнении с цефотаксимом при пиелонефрите у беременных женщин [18].

Согласно выводам экспертов Кокрановского сотрудничества (сообщества), острый пиелонефрит у детей может быть успешно излечен бета-лактамами (в т. ч. цефиксимом) в виде пероральной или ступенчатой (2–4 дня внутривенный АМП в последующем переходом на пероральные формы) терапии с одинаковыми показателями эффективности различных режимов [19, 20]. В недавнем исследовании французскими авторами также не удалось показать достоверную разницу клинических характеристик эффективности (в т. ч. частоты рубцовых изменений паренхимы почек) у младенцев и маленьких детей (в возрасте от 1 до 36 мес.) с острым пиелонефритом, получавших перорально

цефиксим или ступенчатую (цефтриаксон — 4 дня, затем 6 дней — цефиксим) терапию [21].

Таким образом, в соответствии с локальными данными по чувствительности уропатогенов к АМП в России, пероральный цефиксим может быть рекомендован при неосложненных пиелонефритах (в т. ч. у беременных и детей), а также при рецидивирующих инфекциях нижних мочевых путей и бессимптомной бактериурии у беременных [22].

Заключение

Неоднородность структуры и особенности чувствительности возбудителей ИДП, наряду с современным состоянием устойчивости уропатогенов к антибиотикам, определяют нишу пероральных ЦС III поколения в целом (и цефиксима в частности) в амбулаторной клинической практике.

Литература

1. Козлов Р. С. Селекция резистентных микроорганизмов при использовании антимикробных препаратов: концепция «параллельного ущерба». Клин микробиол антимикроб химиотер 2010; 12:284-94.
2. Anon J. B., Jacobs M. R., Poole M. D., et al. Antimicrobial treatment guidelines for acute bacterial rhinosinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg 2004; 130(Suppl. 1): 1-45.
3. Страчунский Л. С., Тарасов А. А., Крюков А. И. и др. Возбудители острого бактериального синусита. Клин микробиол антимикроб химиотер 2005; 7:337-49.
4. Козлов Р. С., Сивая О. В., О. И. Кречикова и др. Динамика резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999-2009 гг. Клин микробиол антимикроб химиотер 2010; 12:329-41.
5. Сивая О. В., Козлов Р. С., Кречикова О. И. и др. Антибиотикорезистентность в России: результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС. Клин микробиол антимикроб химиотер 2014; 16:57-69.
6. Gehanno P., Boucot I., Berche P., et al. Clinical efficacy and tolerability of cefixime in the treatment of acute sinusitis. Drugs 1991; 42 (Suppl. 4):19-24.
7. Matthews B. L., Kohut R. I., Edelstein D., et al. Evaluation of cefixime in the treatment of bacterial maxillary sinusitis. South Med J 1993; 86:329-33.
8. Панякина М. А., Овчинников А. Ю. Эффективность препарата Супракс в лечении больных различными формами синуситов. Фарматека 2003; 13:71-3.
9. Кунельская Н. Л., Гуров А. В., Кудрявцева Ю. С. и др. Эффективность цефиксима (Супракса) у больных с острым гнойным синуситом и обострением хронического гнойного синусита. Вестник оториноларингологии 2008; 6:55-8.
10. Hedrick J. A. Community-acquired upper respiratory tract infections and the role of third-generation oral cephalosporins. Expert Rev Anti Infect Ther 2010; 8:15-21.
11. Lorenz J., Steinfeld P., Drath L., et al. Efficacy and tolerability of 5- vs 10-day cefixime therapy in acute exacerbation of chronic bronchitis. Clin Drug Invest 1998; 15:13-20.
12. Arthur M., McAdoo M., Guerra J., et al. Clinical comparison of cefuroxime axetil with cefixime in the treatment of acute bronchitis. Am J Ther 1996; 3:622-9.
13. Lieberman D., Schlaeffer F. Once-a-day cefixime versus co-amoxiclav three times daily in the treatment of lower respiratory infections. J Antimicrob Chemother 1995; 35:354-7.
14. Палагин И. С., Сухорукова М. В., Дехнич А. В. и др. Современное состояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты исследования «ДАРМИС» (2010-2011). Клин микробиол антимикроб химиотер 2012; 14:280-302.
15. Козлов Р. С., Голуб А. В. Выбор антимикробных препаратов при неосложненных инфекциях мочевых путей: как принять соломоново решение? Клин микробиол антимикроб химиотер 2014; 16:18-25.
16. Sanchez M., Collvinent B., Miro O., et al. Short-term effectiveness of ceftriaxone single dose in the initial treatment of acute uncomplicated pyelonephritis in women. A randomised controlled trial. Emerg Med J 2002; 19:19-22.
17. Gupta K., Hooton T. M., Naber K. G., et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the IDSA and the ESCMID. Clin Infect Dis 2011; 52:103-20.

18. Карпов О. И. Пиелонефрит: актуальны ли цефалоспорины III поколения? Фарматека 2005; 6:65-9.
19. Bloomfield P., Hodson E.M., Craig J.C. Antibiotics for acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev 2003; 3:CD003772.
20. Hodson E.M., Willis N.S., Craig J.C. Antibiotic for acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev 2007; 4:CD003772.
21. Bocquet N., Sergent A.A., Jais J.P., et al. Randomized trial of oral versus sequential IV/oral antibiotic for acute pyelonephritis in children. Pediatrics. 2012; 129:269-75.
22. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Российские национальные рекомендации. М: «Типография ПРИМА», 2014.
23. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению ХОБЛ. 2014 г. Available at ULR: <http://www.pulmonology.ru/publications/guide.php>
24. Власова И. Пациенты предпочитают однократный прием антибиотиков. Фармацевтический вестник 2007. Available at ULR: <http://www.pharmvestnik.ru/publs/lenta/v-rossii/4036.html#.VF-TEmdih0s>
25. Claxton A.J., Cramer J., Pierce C. A systematic review of the associations between dose regimens and medication compliance. Clin Ther 2001; 23:1296-310.

«Метод шахматной доски» как тест для оценки снижения уровня резистентности грамотрицательных микроорганизмов к карбапенемам в присутствии бисфосфоната

А. Г. Афиногенова¹, Т. М. Ворошилова², Г. Е. Афиногенов¹, Г. Г. Родионов²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Одним из основных механизмов резистентности грамотрицательных микроорганизмов к антимикробным препаратам является ферментативный гидролиз бета-лактамазами (в частности, металло-бета-лактамазы). Одним из путей усиления действия карбапенемов является их сочетанное применение с препаратами, ингибирующими действие металло-бета-лактамаз, независимо от генотипа ферментов и их локализации, в частности лекарственными средствами из группы бисфосфонатов, разрешенными для применения в клинике. Впервые в наших исследованиях показано, что сочетанное применение меропенема или имипенема с препаратом «Бонефос» (клодроновая кислота) усиливает действие соответствующего антиби-

отика в 4–1024 раза. Данный эффект выявлен у бисфосфоната в концентрациях ниже МПК карбапенемов в 2÷64 раза, которые оказались в 2÷68 раз меньше максимальной концентрации этого препарата в сыворотке крови через 30 мин после перорального приема однократной дозы. Сочетанное применение карбапенемов и бисфосфонатов позволит клиницистам добиться эффективной терапии тяжелых инфекций, вызванных грамотрицательными высокорезистентными бактериями, продуцирующими металло-бета-лактамазы.

Ключевые слова: карбапенемы, бета-лактамазы, бисфосфонаты, метод шахматной доски, антибиотикорезистентность.

«Checkerboard Array» as a Test for Evaluation of Decrease in Gram-Negative Bacteria Resistance to Carbapenems in the Presence of Bisphosphonate

A. G. Afinogenova¹, T. M. Voroshilova², G. E. Afinogenov¹, G. G. Rodionov²

¹ Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia

One of the main mechanisms of resistance of Gram-negative microorganisms to antibiotics is enzymatic hydrolysis by beta-lactamases (for example, metallo-beta-lactamases). Searching of paths of strengthening

of carbapenems action is possible due to their combined application with the preparations inhibiting the action of metallo-beta-lactamases, irrespective of a genotype of enzymes and their localization (for example, among pharmaceuticals from group of bisphosphonates, allowed for application in clinic). For the first time in our researches it is shown that the combined application of meropenem or imipenem with the preparation «Bonefos» (clodronic acid) strengthens action of the corresponding antibiotic from

Контактный адрес:

Анна Геннадьевна Афиногенова

Эл. почта: spttestcenter@mail.ru

4 to 1024 times. This effect is revealed at bisphosphonate in concentration from 1/2 MIC to 1/64 MIC which appeared up to 68 times less maximal concentration of this preparation in blood serum in 30 minutes after per os single-pass dose. The combined application of carbapenems and bisphosphonates will allow clinical

Введение

В настоящее время у пациентов, находящихся на стационарном лечении, наблюдается увеличение доли грамотрицательных аэробных бактерий как возбудителей инфекций [1]. Речь идет о *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* и др. Эти микроорганизмы, как правило, обладают низкой чувствительностью к различным классам антибиотиков, а также способностью приобретать резистентность в процессе лечения, что представляет существенные проблемы при проведении антибактериальной терапии и резко ограничивает арсенал применяемых для лечения больных антибактериальных препаратов, в том числе карбапенемов. Устойчивость среди *Enterobacteriaceae* обусловлена комбинацией нескольких механизмов, например гиперпродукцией бета-лактамаз и снижением проницаемости внешней мембраны микробной клетки (обычно это связано с утратой пориновых белков). Все известные в настоящее время бета-лактамазы делят на четыре молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и определенной аминокислотной гомологией. Бета-лактамазы классов А, С, D относятся к ферментам «серинового» типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). Ферменты класса В относятся к *металло-бета-лактамазам* (МβЛ), поскольку в качестве ко-энзима в них присутствует цинк (Zn^{2+}) [2].

Ранее были проведены исследования МβЛ у грамотрицательных бактерий с помощью *этилендиаминтетраацетата* (ЭДТА) [1]. Этот тест показывает способность ЭДТА ингибировать МβЛ у грамотрицательных бактерий, что проявляется в расширении зон задержки роста вокруг диска с карбапенемом. Синтез бета-лактамаз грамотрицательными бактериями и возникшая в этой связи их устойчивость к бета-лактамам антибиотикам очень часто не может быть определена традиционными, привычными для лабораторной службы клинических учреждений фенотипическими методами — методом дисков и методом серийных разведений. Есть специальные методы, но далеко не все из них стандартизированы и в большинстве случаев не получили формального признания, не «узаконе-

physicians to achieve efficient therapy of the heavy infections caused by Gram-negative high-resistance bacteria producing metal-beta-lactamases.

Key words: carbapenems, beta-lactamases, bisphosphonates, checkerboard array, antimicrobial resistance.

ны» [3]. Сравнительно высокая токсичность ЭДТА и легкость проникновения внутрь клетки ограничивают его применение в лечебной практике. В связи с этим несомненный интерес могут представлять нетоксичные хелатообразующие лекарственные препараты, разрешенные к клиническому применению.

Целью нашего исследования было изучение возможности усиления действия карбапенемов в отношении резистентных грамотрицательных микроорганизмов с помощью лекарственного препарата «Бонефос» из группы бисфосфонатов.

Ранее в наших исследованиях методом «двойных дисков с ЭДТА» [1] выявлена хелатирующая активность веществ из группы бисфосфонатов, которая не уступала таковой у ЭДТА в отношении штамма *P. aeruginosa* — продуцента МβЛ [4]. Наиболее признанным по изучению эффекта сочетанного действия антибиотиков является так называемый «метод шахматной доски» [3, 5, 6], который был использован в нашей работе.

Материал и методы

Стандартными методами [7,8] были выделены 20 изолятов грамотрицательных микроорганизмов из клинического материала пациентов (кровь, ликвор, мокрота, раневое отделяемое, моча) клиники № 2 ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. Идентификацию проводили на бактериологическом анализаторе VITEK-2 (Биомерье, Франция). Уровень резистентности выделенных изолятов определяли методом серийных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон (OXOID) с определением *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) антибиотиков [9]. Фенотипическую детекцию МβЛ тест-штаммов с высоким уровнем резистентности к карбапенемам проводили с помощью Е-теста (имипенем и имипенем + ЭДТА, Биомерье, Франция). Методом ПЦР проводили генотипирование карбапенемаз у всех штаммов грамотрицательных микроорганизмов с использованием приборов Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (Bio-Rad, США) и наборов реагентов для выделения генов карбапенемаз «АмплиСенс» (предоставлены ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). В работе использовали бисфос-

Таблица 1. Уровень резистентности к карбапенемам у грамотрицательных микроорганизмов в зависимости от генотипа карбапенемаз

№ п/п	№ штамма	Тест-микроорганизм	МПК антибиотика, мкг/мл		Генотип карбапенемазы
			меропенем	имипенем	
1	346/14	<i>A. baumannii</i>	128	256	OXA-40
2	947/12	<i>A. baumannii</i>	64	128	OXA-40
3	2847	<i>A. baumannii</i>	128	32	OXA-40
4	4459/13	<i>A. baumannii</i>	32	32	OXA-23
5	598/13	<i>A. baumannii</i>	64	32	OXA-40
6	798/12	<i>A. baumannii</i>	128	128	OXA-40
7	965/12	<i>A. baumannii</i>	16	16	OXA-23
8	807/12	<i>A. baumannii</i>	32	64	OXA-40
9	944/12	<i>A. baumannii</i>	32	64	OXA-40
10	792/12	<i>A. baumannii</i>	64	64	OXA-40
11	4459/13	<i>A. baumannii</i>	16	32	OXA-23
12	193	<i>A. baumannii</i>	16	8	OXA-23
13	2474/14	<i>A. baumannii</i>	32	32	OXA-40
14	532/14	<i>P. aeruginosa</i>	512	512	VIM
15	53/14	<i>P. aeruginosa</i>	512	512	VIM
16	827	<i>P. aeruginosa</i>	32	128	VIM
17	2314	<i>P. aeruginosa</i>	16	16	VIM
18	2365/14	<i>P. aeruginosa</i>	32	128	VIM
19	886	<i>K. pneumoniae</i>	16	8	NDM
20	4058/13	<i>K. pneumoniae</i>	128	128	NDM

фонат «Бонефос» (клодроновая кислота) и ЭДТА в качестве контроля.

Изучение усиления действия карбапенемов (имипенема и меропенема) в сочетании с ЭДТА или Бонефосом проводили «методом шахматной доски». В исследованиях использовали микроразведения в полистироловых 96-луночных планшетах (ОАО «Медполимер», Россия). Для данного исследования готовили раствор ЭДТА с содержанием 50 мг препарата в 1 мл стерильной дистиллированной воды, далее в среде Мюллера–Хинтон получали 2-кратные разведения. В ячейки, содержащие по 100 мкл разведения антибиотиков, вносили по 100 мкл разведений ЭДТА, объем смеси составил 200 мкл. При этом в ряду А2 – А8 содержалось по 200 мкл разведений ЭДТА, тогда как в ряду Б1 – Б31 содержалось по 200 мкл разведений антибиотика. Ячейка А1 – контроль культуры 200 мкл, ячейка Б38 – контроль среды 200 мкл. Аналогичным способом готовили разведения препарата Бонефос.

Исследования проводили с тест-культурами *P. aeruginosa* штамм 532/14 и *Acinetobacter baumannii* штамм 346/14 с наиболее высоким уровнем устойчивости к карбапенемам.

Для получения инокулюма готовили исходную суспензию суточной культуры микроба по стандарту 0,5 McFarland, далее суспензию разводили в 31 раз в бульоне Мюллера–Хинтон, при этом полученная взвесь содержала 5×10^6 КОЕ/мл. Далее во все ячейки, кроме ячейки Б38 (контроль среды), вносили по 10 мкл микробной взвеси. Таким образом, в каждой ячейке конечная микробная нагрузка соответствующего тест-штамма составляла 5×10^4 КОЕ в 200 мкл. Разведение в ячейке, содержимое которой было прозрачным, принимали за МПК препаратов после высева на плотную питательную среду и получения роста тест-штамма.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты при генотипировании карбапенемаз тест-культур и значения МПК исследуемых карбапенемов представлены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, все выделенные изоляты обладали высоким уровнем резистентности к карбапенемам. Так, для *A. baumannii* МПК меропенема составляла от 16 до 128 мкг/мл, МПК имипенема – от 8 до 256 мкг/мл. Основными генотипами карбапенемаз у *A. baumannii* являлись OXA-40 и OXA-23. По данным литературы [10],



Рис. 1. Оценка наличия МβЛ у *P. aeruginosa* штамм 532/14 с помощью Е-теста (имипенем — имипенем + ЭДТА)



Рис. 2. Оценка наличия МβЛ у *A. baumannii* штамм 346/14 с помощью Е-теста (имипенем — имипенем + ЭДТА)

группа ферментов ОХА-40 и ОХА-23 имеют плазмидную или хромосомную локализацию и характерны преимущественно для *Acinetobacter* spp. МПК меропенема и имипенема для изолятов *P. aeruginosa* составляла от 16 до 512 мкг/мл. Ферменты группы VIM являются одними из наиболее значимых среди МβЛ, описанных у *P. aeruginosa* [11]. Они гидролизуют все бета-лактамы, кроме монобактамов. МПК в отношении изолятов *K. pneumoniae* составила от 16 до 128 мкг/мл для меропенема и от 8 до 128 мкг/мл для имипенема. Ферменты группы NDM также являются значимыми среди металло-бета-лактамаз.

Генотипированием у штамма *P. aeruginosa* 532/14 выявлена МβЛ генотипа VIM, а у *A. baumannii* 346/14 показано наличие карбапенемаз типа ОХА. Однако с помощью Е-теста с ЭДТА показано наличие МβЛ у обоих штаммов, при этом наблюдалось снижение МПК имипенема до 1 мкг/мл (рис. 1, 2).

Влияние перспективного препарата бисфосфоната — ингибитора МβЛ — изучали «методом шахматной доски», где в контрольных тестах использовали сочетание одного из карбапенемов с ЭДТА. При обосновании заключения об усилении действия антибиотика в присутствии хелатирующего агента оценивали индекс фракционной ингибирующей концентрации (ΣFIC), который находили по формуле [5]:

$$\Sigma FIC = \frac{МПК_{ac}}{МПК_a} + \frac{МПК_{bc}}{МПК_b}, \text{ где}$$

МПК_{ac} — минимальная подавляющая концентрация антибиотика (в мкг/мл), взятого в сочетании с комплексоном;

МПК_a — минимальная подавляющая концентрация антибиотика, взятого как монопрепарат (в мкг/мл);

МПК_{bc} — минимальная подавляющая концентрация комплексона (в мкг/мл), взятого в сочетании с антибиотиком;

МПК_b — минимальная подавляющая концентрация комплексона, взятого как монопрепарат (в мкг/мл).

Авторами метода предложена следующая трактовка индекса: синергизм — индекс до 0,5; индифферентность — индекс от 0,51 до 4; антагонизм — индекс более 4.

В опыт с ЭДТА был взят антибиотик имипенем в разведениях от 1/16 до 1/1024 МПК (табл. 2). Использовали комплексон в дозах как превышающих МПК в 2–16 раз, так и ниже МПК в 2 и 4 раза. При этом в дозах, меньших МПК, наблюдали синергидное действие, при котором чувствительность антибиотика повышалась в 1024 раз. Следует отметить, что наши данные по МПК ЭДТА (1562 мкг/мл) совпадают с данными литературы [11].

Таким образом, по схеме «шахматной доски» (см. табл. 2) минимальная концентрация имипенема в первом эффективном сочетании с ЭДТА составила 0,5 мкг/мл, а комплексона — соответственно 390 мкг/мл (ячейка Б2).

$$\Sigma FIC = \frac{0,5}{512} + \frac{390}{1562} = 0,25$$

По формуле получаем, что индекс FIC составил 0,25, то есть в отношении *P. aeruginosa* штамм 532/14 наблюдали синергидный эффект таких концентраций комплексона и имипенема, что позволило повысить чувствительность микроорганизма к антибиотику в 1024 раза.

В табл. 3 представлен аналогичный эффект сочетания меропенема с ЭДТА в отношении *P. aeruginosa* штамм 532/14. Индекс FIC составил 0,25 (синергидный эффект).

Таблица 2. Чувствительность *P. aeruginosa* штамм 532/14 (МПК имипенема 512 мкг/мл) к сочетанному действию имипенема и ЭДТА

№ ячейки	ЭДТА, мкг/мл	Имипенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	390	Р	—	—	—	—	—	—	—
3	781	Р	—	—	—	—	—	—	—
4	1562	—	—	—	—	—	—	—	—
5	3125	—	—	—	—	—	—	—	—
6	6250	—	—	—	—	—	—	—	—
7	12500	—	—	—	—	—	—	—	—
8	25000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

Примечание. Здесь и в табл. 3–8: Р — рост есть; «—» — роста нет; K₁ — контроль культуры, рост есть; K₂ — контроль питательной среды, роста нет.

Таблица 3. Чувствительность *P. aeruginosa* штамм 532/14 (МПК меропенема 512 мкг/мл) к сочетанному действию меропенема и ЭДТА

№ ячейки	ЭДТА, мкг/мл	Меропенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	390	Р	—	—	—	—	—	—	—
3	781	Р	—	—	—	—	—	—	—
4	1562	—	—	—	—	—	—	—	—
5	3125	—	—	—	—	—	—	—	—
6	6250	—	—	—	—	—	—	—	—
7	12500	—	—	—	—	—	—	—	—
8	25000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

Таблица 4. Чувствительность *P. aeruginosa* штамм 532/14 (МПК имипенема 512 мкг/мл) к сочетанному действию имипенема и Бонефоса

№ ячейки	Бонефос, мкг/мл	Имипенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	469	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
3	938	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
4	1875	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
5	3750	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
6	7500	Р	Р	Р	—	—	—	—	—
7	15000	Р	Р	Р	—	—	—	—	—
8	30000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

В дальнейшем во всех опытах с бисфосфонатом получены и описаны данные по двум ячейкам — с МПК Бонефоса и его минимальной эффективной

концентрацией, усиливающей действие антибиотика. Это сделано с целью показать синергидный эффект препарата, концентрация которого после-

Таблица 5. Чувствительность *P. aeruginosa* штамм 532/14 (МПК меропенема 512 мкг/мл) к сочетанному действию меропенема и Бонефоса

№ ячейки	Бонефос, мкг/мл	Меропенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	469	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
3	938	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
4	1875	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
5	3750	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—	—
6	7500	Р	—	—	—	—	—	—	—
7	15000	Р	—	—	—	—	—	—	—
8	30000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

Таблица 6. Чувствительность *A. baumannii* штамм 346/14 (МПК имипенема 256 мкг/мл) к сочетанному действию имипенема и Бонефоса

№ ячейки	Бонефос, мкг/мл	Имипенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	469	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
3	938	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
4	1875	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
5	3750	Р	Р	—	—	—	—	—	—
6	7500	Р	Р	—	—	—	—	—	—
7	15000	Р	—	—	—	—	—	—	—
8	30000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

Таблица 7. Чувствительность *A. baumannii* штамм 346/14 (МПК меропенема 128 мкг/мл) к сочетанному действию меропенема и Бонефоса

№ ячейки	Бонефос, мкг/мл	Меропенем, мкг/мл							
		K ₁	0,5	1	2	4	8	16	32
1		Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
2	469	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—
3	938	Р	Р	Р	Р	Р	Р	—	—
4	1875	Р	Р	Р	Р	Р	—	—	—
5	3750	Р	—	—	—	—	—	—	—
6	7500	Р	—	—	—	—	—	—	—
7	15000	Р	—	—	—	—	—	—	—
8	30000	—	—	—	—	—	—	—	K ₂
		А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	З

однократного внутривенного или перорального введения постепенно снижается в организме пациента как в крови, так и в пораженных тканях. При этом в наших исследованиях полученные данные

по МПК Бонефоса 30 000 мкг/мл совпадают с данными литературы, где описана МПК аналогичного препарата Синдронат на основе натриевой соли клотроновой кислоты [13].

При использовании сочетаний Бонефоса с имипенемом выявлены следующие закономерности (табл. 4). В опыт были взяты следующие концентрации Бонефоса: МПК в отношении тест-штамма (30000 мкг/мл), а также $1/2 \div 1/64$ МПК. Выявлено максимальное увеличение чувствительности *P. aeruginosa* штамм 532/14 к имипенему в 256 раз при сочетании с дозой Бонефоса, равной $1/4$ МПК (ячейка Г6). Индекс FIC в данном опыте составил 0,25 (синергидный эффект). Необходимо отметить увеличение чувствительности тест-культуры к имипенему в 16 раз при сочетании с дозой Бонефоса, равной $1/16$ МПК (ячейка З4). Индекс FIC при этом составил 0,12 (синергидный эффект).

При сочетании Бонефоса с меропенемом (табл. 5) максимальное усиление действия антибиотика в 1024 раза получено при дозе комплексона $1/4$ МПК (ячейка Б6). Индекс FIC составил 0,25 (синергидный эффект). Следует отметить, что при повышении чувствительности тест-штамма к меропенему в 16 раз доза Бонефоса составила $1/64$ МПК (ячейка З2). Индекс FIC при этом был равен 0,08. Таким образом, в данных опытах был также выявлен эффект синергизма меропенема и Бонефоса.

В другой группе опытов изучали сочетанное действие бисфосфоната и карбапенемов в отношении тест-штамма *A. baumannii* 346/14. Бонефос использовали в концентрациях, равных МПК, а также $1/2 \div 1/64$ МПК. Наблюдали усиление действия имипенема (табл. 6) в 512 раз при сочетании с Бонефосом в дозе $1/2$ МПК (ячейка Б7). Индекс FIC составил 0,5 (синергидный эффект). При сочетанном использовании препарата в дозе $1/8$ МПК получено усиление действия имипенема в 256 раз (ячейка В5). При этом индекс FIC равен 0,13 (синергидный эффект).

При сочетании Бонефоса в дозе $1/8$ МПК с меропенемом (табл. 7) получено усиление действия антибиотика в 256 раз (ячейка Б5). Индекс FIC равен 0,13 (синергидный эффект). Увеличение чувствительности тест-штамма *A. baumannii* 346/14 в 4 раза наблюдали в сочетании с Бонефосом в дозе $1/64$ МПК (ячейка З2). Индекс FIC в этом случае составил 0,27 (синергидный эффект).

Таким образом, выявлено синергидное действие бисфосфоната Бонефос и карбапенемов в отношении штаммов *P. aeruginosa* 532/14 и *A. baumannii* 346/14, продуцирующих МβЛ.

Следует отметить, что при генотипировании *A. baumannii* штамм 346/14 МβЛ не были выявлены, но их наличие подтверждено фенотипически с помощью E-теста с ЭДТА. Можно предположить, что данный тест-штамм обладает редким видом МβЛ, которая не была выявлена с помощью ПЦР.

Известно, что ЭДТА не ингибирует другие группы бета-лактамаз, в том числе бета-лактамазы расширенного спектра и AmpC-бета-лактамазы. Таким образом, чувствительность к ингибитору является одним из важнейших маркеров образования МβЛ [3].

К. Bush и G. Jacoby [14] классифицировали бета-лактамазы, учитывая их принадлежность к тому или иному молекулярному классу по R. Ambler [2], но при этом брали за основу спектр их действия на антибиотики бета-лактаманной структуры и чувствительность к ингибиторам бета-лактамаз [15].

Проведенные нами ранее исследования [16] показали, что хелатообразующие агенты, в частности ЭДТА, продуцирующие стабильные комплексы с катионами металлов, способны изменять проницаемость бактериальных мембран. Это обусловлено быстрым выделением из клеточной оболочки в окружающую среду липополисахарида и некоторых белков, которые удерживаются в наружной мембране грамотрицательных бактерий за счет связывания их ионами металлов через фосфатные группы. В результате обработки микробных клеток ЭДТА возрастает их проницаемость для многих антибиотиков (актиномицина, полимиксина В, тетрациклина, хлорамфеникола и пенициллинов), а также антисептиков (хлоргексидина, диметилбензилалкиламмоний хлорида).

Результаты последних исследований показали высокий уровень резистентности к карбапенемам клинических штаммов *P. aeruginosa* 532/14 и *A. baumannii* 346/14 и его снижение в присутствии препарата Бонефос в $4 \div 1024$ раза (синергидный эффект), поэтому можно предположить, что Бонефос способен ингибировать металло-бета-лактамазы. Эти данные свидетельствуют о возможном действии бисфосфонатов на разные механизмы резистентности у микроорганизмов, а именно: ингибирование МβЛ и повышение проницаемости клеточных мембран.

Заключение

Все выделенные изоляты *P. aeruginosa* обладали металло-бета-лактамазой VIM. Тест-культуры *A. baumannii* содержали карбапенем-гидролизующие бета-лактамазы класса D (ОХА-23, ОХА-40).

Достижение синергидного действия двух антибиотиков с целью повышения эффективности химиотерапии привлекает самое большое внимание исследователей. При этом можно выделить два положения: 1) синергидное действие достижимо при использовании определенного круга антимикробных препаратов; 2) синергидный эффект проявляется относительно не часто, методы его про-

гнозирования пока недостаточно надежны [17]. На сегодняшний день изучен принцип эффективного сочетанного действия антибиотиков на микроб — подавление одним из препаратов механизма защиты микроорганизма. Ингибиторы бета-лактамаз (клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам) оказывают слабое действие на микроорганизмы, но отличаются высоким сродством к бета-лактамазам. Именно эти препараты обеспечивают инактивацию ферментов до того, как последние успевают расщепить С–N-связь в структуре другого антибиотика.

К сожалению, современные ингибиторы бета-лактамаз не универсальны по действию на бактериальные ферменты, число которых растет. Кроме того, подобрать сочетание ингибитора с активным антибактериальным веществом непросто, для этого оба препарата должны иметь совпадающие (хотя бы частично) фармакокинетические свойства, иначе они будут действовать не синергидно. Среди других механизмов синергидного действия можно допустить возможность того, что угнетение двумя антибиотиками разных мишеней в бактериальной клетке будет способствовать потенцированному эффекту.

Бисфосфонаты обладают высоким сродством к минеральным компонентам костной ткани. Основным механизмом действия клодроновой кислоты (Бонефос) является подавление активности остеокластов и уменьшение опосредованной ими резорбции костной ткани. При применении этого препарата в максимальных дозах влияние на нормальную минерализацию кости у человека не наблюдается [18]. Бисфосфонаты — лекарственные средства, применяемые, в основном, для профилактики и лечения остеолитических метастазов злокачественных опухолей и миеломной болезни (множественной миеломы), а также гиперкальциемии, обусловленной злокачественными опухолями. Они разрешены для системного применения (перорального и внутривенного). При этом отмечено, что явная связь между концентрацией клодроновой кислоты в плазме крови и терапевтическим эффектом или побочными реакциями отсутствует [18]. Курс лечения Бонефосом составляет 7 дней (максимальная суточная доза при пероральном приеме — 3200 мг, при внутривенном введении — 1500 мг). Всасывание клодроновой кислоты в ЖКТ происходит быстро и составляет приблизительно 2% от суточной пероральной дозы в 1600 мг [18]. При этом внутривенное введение препарата гарантирует 100% биодоступность, так как клодронат практически моментально всасывается из крови в костную и мышечную ткани [19]. Степень абсорб-

ции препарата и его выведения могут значительно варьировать у различных пациентов. Отмечено, что около 70–80% абсорбированного препарата выводится почками в течение 1–2 дней после приема суточной дозы, т.е. 20–30% клодроната остаются абсорбированными в костной ткани и выводятся из организма в течение длительного времени [18, 20]. Имеются данные о фармакокинетике клодроната, введенного внутривенно в дозе 200 мг/сутки, где отмечено, что 50% препарата выводится почками и 50% абсорбируется в костную ткань. Таким образом, показано, что 100 000 мкг препарата остаются в тканях [19]. В то же время необходимо отметить, что в соответствии с Инструкцией по медицинскому применению препарата, на которую должны ориентироваться клинические фармакологи и практикующие врачи, максимальная суточная доза Бонефоса при внутривенном введении составляет 1500 мг, при пероральном применении — 1600 мг (максимальная доза — 3200 мг в сутки) [18].

Сочетанное применение бисфосфоната (препарата «Бонефос») с карбапенемами приводило к усилению действия соответствующего антибиотика по принципу синергидного эффекта, при этом были получены следующие закономерности. Во всех опытах наблюдали синергидное действие совместного применения Бонефоса с импением или меропенемом в отношении обоих тест-штаммов грамотрицательных микроорганизмов. В сочетании с Бонефосом в отношении *P. aeruginosa* штамм 532/14 отмечено усиление действия импие-нема в 16–256 раз, меропенема — в 16–1024 раза; в отношении *A. baumannii* штамм 346/14 наблюдали увеличение активности импие-нема в 256–512 раз, меропенема — в 4–256 раз. Следует отметить, что такой эффект получен при использовании Бонефоса в концентрациях, равных от 1/2 МПК (15 000 мкг/мл) до 1/64 МПК (469 мкг/мл).

Основываясь на данных литературы о фармакокинетике клодроната, нами была проведена оценка возможной терапевтической эффективности полученных концентраций Бонефоса, при которых наблюдали синергидное действие с карбапенемами. Так, концентрация препарата 3750 мкг/мл соответствует эффективному пероральному приему 937,5 мг клодроната при условии всасывания 2% из них и остаточной абсорбции в костной ткани 20%, тогда как рекомендованная суточная доза составляет 1600 мг. Таким образом, полученное нами эффективное (до уровня чувствительности) снижение МПК карбапенемов в присутствии Бонефоса наблюдали в концентрациях препарата 3750–7500 мкг/мл, что значительно ниже содержания клодроната в тканях скелета человека после

перорального приема или внутривенного введения рекомендованных суточных доз.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования бисфосфонатов как

ингибиторов МβЛ, особенно при инфекционно-воспалительных заболеваниях костной ткани.

Литература

1. Шевченко О. В., Эйделъштейн М. В., Степанова М. Н. Металло-β-лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2007; 9(3):211-19.
2. Ambler R., Coulson A., Frere J., et al. A standart numbering scheme for the Class A beta-lactamases. *Biochem J* 1991; 276 (1):269-72.
3. Поляк М. С. Лабораторное обеспечение антибиотикотерапии 2012; 256.
4. Афиногенова А. Г., Мадай Д. Ю., Афиногенов Г. Е., Лебедева И. К., Петрова Т. М. Влияние бисуанидинов и бисфосфонатов на факторы антибиотикорезистентности грамотрицательных бактерий. *Инфекции в хирургии* 2013; 11 (3):15-8.
5. Eliopoulos G. M., Moellering R. C. 1991. Antimicrobial combinations, p. 432-492. In: V. Lorian (ed.), *Antibiotics in laboratory medicine*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.
6. Moody J. Sinergism Testing: Broth Microdilution Checkerboard and Broth Macrodilution Methods. In H. Isenberg (Ed.) *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 2004; 2:5.12.1-21.
7. Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
8. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга I. Под редакцией Лабинской А. С., Волиной Е. Г. 2008; 1080.
9. Методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». МУК 4.2.1890-04.
10. Сидоренко С. В., Партина И. В., Агеевец В. А. Имипенем: 30 лет терапии. *Антибиотики и химиотерапия* 2013; 58 (5-6):55-61.
11. Watanabe M., Iyobe S., Inoue M., Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:147-51.
12. Lambert R. G. W. The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*. *JAMA* 2004; 96:244-53.
13. Kruszewska H. Search of antimicrobial activity of selected non-antibiotic drugs. *Acta Pol Pharm* 2002; 59(6):436-9.
14. Bush K., Jacoby G. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3):969-76.
15. Drawz S., Bonomo R. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23 (1):160-201.
16. Афиногенов Г. Е., Панарин Е. Ф., Копейкин В. В. Влияние полимерных комплексов на основе сополимеров винилипиролидона с винилиминодиуксусной кислотой и метакрилоилацетоном на чувствительность к антибиотикам антибиотикочувствительных штаммов бактерий. *Антибиотики* 1978; 5:419-24.
17. Поляк М. С. Антибиотикотерапия. Теория и практика 2010; 424.
18. Государственный реестр лекарственных средств РФ (<http://grls.rosminzdrav.ru>).
19. Muratore M. Clinical utility of clodronate in the prevention and management of osteoporosis in patients intolerant of oral bisphosphonates. *Drug Design, Development and Therapy* 2011; 5:445-54.
20. Castren-Kortekangas P., Löyttyniemi E., Liukko-Sipi S., Juhakoski A, Smal J., Laitinen L. Pooling of clodronate urinary excretion data: A new pharmacokinetic method to study drugs with highly variable gastrointestinal absorption. *J Bone Miner Res* 1997; 12:66-71.

Клинико-экономическая оценка использования цефтаролина фосамила в терапии взрослых госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией пневмококковой этиологии с позиции общества

Ю. А. Белькова, С. А. Рачина, Р. С. Козлов

ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

Благодаря высокой активности в отношении *Streptococcus pneumoniae* цефтаролина фосамила (ЦФ) является перспективным выбором в лечении пациентов с пневмококковой внебольничной пневмонией (ВП), нуждающихся в парентеральной антибактериальной терапии. Целью исследования являлось провести сравнительный анализ клинико-экономической эффективности ЦФ у взрослых госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП с позиции общества.

Материал и методы. На основании данных двух клинических исследований III фазы (FOCUS 1, FOCUS 2) была построена модель «дерева решений», отражающая стандартную тактику ведения госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП и их дальнейшую судьбу при использовании в качестве стартовой терапии ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч в сравнении с цефтриаксоном (ЦС) в дозе 1 г или 2 г каждые 24 ч с учетом возможного рецидива заболевания, непосредственной и отсроченной атрибутивной летальности. В качестве критерия эффективности выбрана частота достижения раннего (на 4-е сутки) положительного клинического ответа. Совокупные затраты оценены с позиции общества, включая прямые медицинские (стоимость стартовой и альтернативной фармакотерапии первичного эпизода ВП, лечения рецидива заболевания), а также прямые (социальные выплаты) и косвенные (потери производительности труда) немедицинские затра-

ты. Стоимость фармакотерапии рассчитана для оригинальных препаратов, исходя из оптовых расценок в базе «ФАРМиндекс». Расчет потерь производительности труда, обусловленных преждевременной смертью пациентов, выполнялся на основе недопроизведенного валового внутреннего продукта с дисконтированием затрат на 5% в год. Стабильность результатов анализа проверялась серией односторонних и двусторонних детерминистических анализов чувствительности, а также в ходе вероятностного анализа чувствительности Монте-Карло.

Результаты. Суммарные затраты на лечение взрослого госпитализированного пациента с пневмококковой ВП при применении ЦС в дозе 1 г / 2 г в сутки превышали таковые для ЦФ (572719,08 руб. / 575361,86 руб. vs. 560998,95 руб. соответственно), что, с учетом превосходящей эффективности ЦФ, позволяет считать данную стратегию абсолютно доминирующей. Потери ранней эффективности при использовании ЦС в качестве стартовой терапии пневмококковой ВП составили 17%, экономические потери общества — 11720,13 руб. / 14362,91 руб., что эквивалентно 689,41 руб. / 844,88 руб. соответственно на каждый 1% ранней эффективности. По результатам детерминистического анализа чувствительности на выбор предпочтительной стратегии терапии оказывала влияние эффективность препаратов сравнения (снижение до 66% / 65% для ЦФ или возрастание до 62% / 63% для ЦС), а также длительность терапии ЦФ (более 11,2/11,8 сут). В ходе вероятностного анализа чувствительности с учетом порога готовности общества платить (435 руб. за 1% прироста ранней кли-

Контактный адрес:

Юлия Андреевна Белькова

Эл. почта: Yuliya.Belkova@antibiotic.ru

нической эффективности) ЦФ оставался предпочтительной стратегией стартовой терапии ВП в 95,1% / 97,3% случаев.

Вывод. В лечении взрослых госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП использование в качестве стартовой терапии ЦФ в дозе 600 мг каждые 24 ч является более целе-

сообразным с позиции общества в сравнении ЦС в дозе 1 г / 2 г каждые 24 ч в связи с меньшими суммарными затратами при превосходящей клинической эффективности.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, *Streptococcus pneumoniae*, цефтаролина фосамил, цефтриаксон, фармакоэкономика.

Clinico-Economic Effectiveness of Ceftaroline Fosamil for the Treatment of Hospitalised Patients with Pneumococcal Community-Acquired Pneumonia from a Societal Perspective

Y. A. Belkova, S. A. Rachina, R. S. Kozlov

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Due to high activity against *Streptococcus pneumoniae* ceftaroline fosamil (CF) presents a good option for the treatment of adults with *pneumococcal community-acquired pneumonia* (PCAP) requiring parenteral antibacterial therapy. We aimed to assess cost-effectiveness of CF for the treatment of PCAP in a multi-field hospital in Russia from a societal perspective.

Materials and Methods. Decision tree model based on the results of two 3rd phase clinical trials (FOCUS 1, FOCUS 2) was created to represent a standard approach to the management of hospitalised patients with PCAP and estimated outcomes including possible recurrence of infection, direct and delayed attributive mortality in case of initial therapy with CF 600 mg BID vs. *ceftriaxone* (CS) 1 g / 2 g QD. Day 4 clinical response was taken for effectiveness outcome. Total expenses were estimated from societal perspective and comprised of direct medical (initial and alternative antibacterial therapy, PCAP recurrence treatment) as well as nonmedical direct (social benefits) and indirect ones (performance loss). Original drugs costs were extracted from wholesale prices database PHARMindex. Performance loss assessment was based on human capital approach (loss in gross domestic product per capita) with 5% discount rate per year. Uncertainty was explored in a series of one- and two-way deterministic and in probabilistic sensitivity analysis.

Results. The respective total expenses of PCAP treatment with CF 600 mg BID vs. CS 1 g / 2 g QD were as follows: RUB 560 998.95 vs. RUB 572 719.08 / 575 361.86 which in view of higher effectiveness rates makes CF strategy the dominating one. In case of CS initial therapy effectiveness loss amounted to 17%, incremental costs — to RUB 11 720.13 / 14 362.91 with incremental cost-effectiveness ratios RUB 689.41 / 844.88 per 1% of lost effectiveness. The results were sensitive to change in rate of early clinical response to comparators (decrease to 66% / 65% for CF, increase to 62% / 63% for CS) and duration of CF course (increase to 11.2 / 11.8 days, respectively). Given the ceiling ratio RUB 435 95.1% / 97.3% of iterations in probabilistic sensitivity analysis recommended CF over CS 1 g / 2 g QD for the treatment of PCAP.

Conclusion. CF 600 mg BID is more cost effective than CS 1 g / 2 g QD in the treatment of hospitalised patients with PCAP from a societal perspective in Russia due to lesser total expenses and higher effectiveness rates associated with the strategy.

Key words: community-acquired pneumonia, *Streptococcus pneumoniae*, ceftaroline fosamil, ceftriaxone, pharmacoeconomy.

Введение

Несмотря на широкое использование *антибактериальных препаратов* (АБП) и средств интенсивной терапии, *внебольничная пневмония* (ВП) остается одной из ведущих причин заболеваемости и смертности в мире, выходя по данным показателям на первое место среди инфекционных болезней в развитых странах [1–3]. Согласно официальной статистике, в 2012 г. заболеваемость пневмонией в России среди лиц 18 лет и старше составляла

374/100 000 населения [4], однако эти цифры не отражают истинных масштабов явления, которые, по мнению экспертов, превышают приведенные показатели, как минимум, в 2 раза. Так, по данным американских исследователей, заболеваемость только ВП, требующей госпитализации, в период, предшествовавший широкой вакцинации от пневмококковой инфекции, достигала 92/100 000 населения в возрасте <45 лет, 277/100 000 в возрастной группе 45–64 лет и 1012/100 000 у лиц ≥65 лет [5].

Несмотря на относительно невысокий уровень летальности при ВП среди амбулаторных пациентов (до 5%), в случае госпитализации данный показатель возрастает до 8–10%, а у отдельных категорий больных (пожилого возраста, при тяжелом течении заболевания и др.) может достигать 40% [6], существенно не отличаясь от такового в доантибиотическую эру. Более того, приведенные показатели не учитывают данные о неблагоприятных исходах в отсроченном периоде. В то же время летальность, ассоциированная с перенесенным эпизодом ВП, потребовавшей госпитализации, в течение последующего года может достигать 7,2% [7], что в значительной степени отягощает социальное бремя заболевания.

ВП представляет собой не только актуальную медико-социальную, но и экономическую проблему [6, 8]. Ежегодные прямые затраты на лечение ВП в США оцениваются в 8,4–10 млрд долларов [9], в Великобритании — в 441 млн фунтов стерлингов [10]. Следует отметить, что наибольшая доля затрат (до 90%) на медицинскую помощь при указанной инфекции связана с госпитализацией пациентов [11, 12]. Так, стационарное лечение одного эпизода ВП в странах Европы обходится в 1210–7650 евро [12, 13], в США — достигает 16000 долларов [14]. В условиях российского многопрофильного стационара медиана прямых затрат на взрослого пациента составила 10610 руб. (диапазон — от 1708 до 54751 руб.) [15, 16]. Поскольку доля затрат на *антибактериальную терапию* (АБТ) в общей структуре достигает 25% [15, 16], поиск оптимальных с точки зрения экономической эффективности режимов терапии представляет собой перспективный путь сокращения расходов многопрофильного стационара на лечение пациентов с данной инфекцией.

Самым частым бактериальным возбудителем ВП является *Streptococcus pneumoniae*, на долю которого приходится от 20 до 50% случаев ВП установленной этиологии [17, 18]. Пневмококковые пневмонии чаще регистрируются среди пациентов, страдающих алкоголизмом и/или сопутствующими хроническими заболеваниями — хронической обструктивной болезнью легких, сахарным диабетом, иммунодефицитом и др., и нередко протекают с бактериемией [10, 17, 19]. Несмотря на доступность современных АБП, пневмококковая пневмония занимает ведущее место среди фатальных ВП у взрослых лиц [17].

В последние два десятилетия во многих странах мира отмечается отрицательная динамика показателей чувствительности *S. pneumoniae* к АБП, традиционно применяемым в лечении ВП, таким

как бета-лактамы и макролиды [20], что во многом обусловлено их широким использованием в амбулаторных условиях [21]. Устойчивость микроорганизма к пенициллину впервые была выявлена в 1970-е годы, и в настоящее время распространилась по всему миру, достигая 21,2% в США [22], 22,9% в Испании [23] и 44,5% в Японии [24].

Хотя резистентность выделенных на территории Российской Федерации штаммов *S. pneumoniae* к бета-лактамам остается относительно невысокой, динамика явления носит негативный характер [25]. Так, согласно данным исследования ЦЕРБЕРУС, проводившегося Межрегиональной ассоциацией по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии совместно с НИИ детских инфекций ФМБА РФ (г. Санкт-Петербург) и включавшего 954 последовательных изолята *S. pneumoniae* (84% — респираторных), собранных в 18 городах РФ за период с 2008 по 2012 гг., доля нечувствительных к пенициллину, цефалоспорином III поколения и эритромицину штаммов составила 3,8, 2,8 и 15,4% соответственно [26].

Необходимо особо отметить рост устойчивости возбудителя к пенициллину и парентеральным цефалоспорином III поколения. Так, в 2008 г. доля нечувствительных к указанным АБП изолятов не превышала 0,6 и 1,2%, тогда как к 2012 г. она возросла до 8,8 и 8,3% соответственно. При этом МПК₉₀ пенициллина в 2012 г. составила 2 мг/л в сравнении с 0,125 мг/л в 2008 г., МПК₉₀ цефтриаксона — 1 мг/л в сравнении с 0,125 мг/л соответственно [26].

В условиях роста антибиотикорезистентности *S. pneumoniae* перспективы лечения вызванных данным микроорганизмом инфекционных заболеваний значительно ухудшаются [27], что подчеркивает необходимость и актуальность разработки АБП, которые могут использоваться у больных пневмококковой ВП, вызванной штаммами возбудителя, устойчивыми к традиционным режимам АБТ.

В 2012 г. в РФ для лечения ВП у взрослых пациентов зарегистрирован новый цефалоспорин из группы анти-MRSA-цефемов — *цефтаролина фосамил* (ЦФ). ЦФ представляет собой пролекарство, активным компонентом которого является цефтаролин, оказывающий, как и другие цефалоспорины, бактерицидное действие путем ингибирования пенициллинсвязывающих белков, вовлеченных в процесс синтеза и восстановления клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Повышенная аффинность к пенициллинсвязывающим белкам *S. pneumoniae* обеспечивает высокую активность ЦФ в отношении возбудителя, включая штаммы, устойчивые к аминопеницилли-

нам, цефалоспорином III поколения, макролидам и фторхинолонам [28–30].

По данным международной программы AWARE (Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation), ЦФ сохранял высокую активность в отношении штаммов *S. pneumoniae*, выделенных у пациентов с респираторными инфекциями (МПК_{0,25} ≤ 0,25 мкг/мл для 98,7% изолятов) [31, 32]. В рамках проекта ЦЕРБЕРУС ЦФ продемонстрировал высокую активность *in vitro* в отношении штаммов *S. pneumoniae*, выделенных у пациентов с инфекциями нижних дыхательных путей. Так, доля нечувствительных к препарату изолятов не превышала 0,1%, а МПК₅₀ и МПК₉₀ составили 0,008 и 0,03 мг/л соответственно, что на порядок ниже аналогичных показателей для других АБП, в том числе принадлежащих к классу цефалоспоринов [26].

Клиническая эффективность и безопасность ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч в сравнении с *цефтриаксоном* (ЦС) в дозе 1 г каждые 24 ч при терапии госпитализированных пациентов с ВП была изучена у 908 пациентов в ходе двух международных многоцентровых рандомизированных сравнительных двойных слепых клинических исследований FOCUS 1 и FOCUS 2 (ceftaroline Community-acquired pneumonia trial vS ceftriaxone in hospitalized patients, NCT00621504 [33] и NCT00509106 [34]). Согласно консолидированным данным проектов, ЦФ не уступал ЦС как по ранней (69,5% vs. 59,4% на 4-е сутки терапии), так и по конечной клинической эффективности (84,3% vs. 77,7%) при сопоставимых показателях безопасности [35–37]. В ходе многоцентрового рандомизированного сравнительного двойного слепого исследования III фазы NCT01371838, выполненного в Азиатском регионе среди 771 госпитализированного пациента с ВП, ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч в качестве стартовой терапии продемонстрировал превосходящую клиническую эффективность по сравнению с ЦС, назначавшимся в дозе 2 г каждые 24 ч (84,1% vs. 74,2% соответственно) [38].

Необходимо отметить, что в подгруппе пациентов с ВП пневмококковой этиологии (41,7% пациентов с верифицированным возбудителем в рамках проектов FOCUS 1 и FOCUS 2) ЦФ обладал статистически достоверным преимуществом по клинической эффективности как в ранние сроки (73% vs. 56%, $p=0,03$), так и по окончании курса терапии (85,5% vs. 68,6%, $p=0,009$) [36, 39]), что позволяет считать его перспективным выбором у данной категории пациентов.

В то же время стоимость ЦФ значительно превосходит таковую для ЦС и ряда других АБП, применяе-

мых в терапии пневмококковой ВП. В связи с этим представляется актуальным определить клинико-экономическую целесообразность использования ЦФ в сравнении с традиционными режимами АБТ пневмококковой ВП. При этом, в силу высокого социального бремени заболевания, особый интерес вызывает изучение экономической нагрузки не только на стационар и/или систему здравоохранения, но и на общество в целом, тем более что такого рода оценка до настоящего времени не выполнялась.

Цель нашего исследования — провести сравнительный анализ клинико-экономической эффективности цефтаролина фосамила и других режимов АБТ у взрослых госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией пневмококковой этиологии с позиции общества.

Материал и методы

Для получения данных о клинической эффективности и переносимости ЦФ в сравнении с другими АБП при пневмококковой ВП выполнен поиск проспективных рандомизированных клинических исследований в следующих источниках: база данных Medline, Cochrane Controlled Trials Register, база данных клинических исследований Национального института здоровья США, база данных клинических исследований EudraCT Европейского медицинского агентства, тезисы Европейского конгресса по клинической микробиологии и инфекционным болезням (European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases) и Междисциплинарной конференции по антимикробным препаратам и химиотерапии (Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy).

Поиск проводился по ключевым словам: community-acquired pneumonia, pneumococcal pneumonia, ceftaroline, randomized controlled trial, meta-analysis, adult/adults, antibacterial therapy, hospitalized patients и охватывал период с 01.01.2000 г. по 01.06.2014 г. Качество исследований оценивалось в соответствии со шкалой Jadad [40], при этом в анализ включались только те, в которых выполнялось прямое сравнение режимов АБТ, а оценка по шкале Jadad составляла не менее 2 баллов.

При отборе и анализе работ в качестве критерия эффективности сравниваемых режимов АБТ была выбрана частота достижения раннего положительного клинического ответа в группе лечения (улучшение на 3–5-е сутки терапии), поскольку данный подход соответствует реальной практике ведения пациентов в российских стационарах, предусма-

тривающей смену неэффективного режима АБТ в среднем на 3-е сутки лечения. Переносимость оценивалась по следующим критериям: частота нежелательных явлений, предположительно связанных с исследуемыми режимами АБТ (далее — *нежелательные лекарственные реакции* — НЛР), и частота преждевременного прекращения АБТ в связи с непереносимостью.

Оценка эффективности затрат на лечение взрослых пациентов с ВП пневмококковой этиологии в условиях стационара выполнялась путем построения аналитической модели «дерева решений», отражающей альтернативные режимы терапии. Перспективой анализа являлось общество. Клинико-экономический анализ выполнялся с помощью программы TreeAge Pro Healthcare, 2011 г.

В ходе анализа учитывались:

I. Прямые медицинские затраты на лечение данного эпизода пневмококковой ВП, в том числе:

- затраты на стартовый режим АБТ ВП, включая стоимость АБП и средств введения (растворы для инфузий, инфузионные системы и т. п.);
- затраты на альтернативную АБТ ВП в случае неэффективности стартового режима, включая стоимость препаратов и средств их введения;
- затраты на альтернативную АБТ ВП в случае преждевременного прекращения стартового режима вследствие непереносимости (при наличии достоверных различий в частоте данного события между режимами терапии);
- затраты на терапию НЛР, связанных со стартовой терапией (при наличии достоверных различий в частоте данных событий между режимами терапии);
- затраты на лечение рецидива пневмококковой ВП в условиях российского многопрофильного стационара;

II. Прямые и косвенные немедицинские затраты, в том числе:

- расходы на выплату пособий по временной нетрудоспособности в период первичного эпизода и рецидива ВП;
- потери производительности труда, обусловленные преждевременной смертью пациента, ассоциированной с первичным эпизодом ВП.

Выбор режимов стартовой АБТ был основан на включенных в анализ клинических исследованиях. Выбор режимов альтернативной АБТ и длительность их использования для долечивания пациентов в случае неэффективности стартовой терапии основывался на опросе российских экспертов. Затраты на АБТ (стоимость препаратов и средств их введения) рассчитывали на основании оптовых

цен, представленных в on-line версии базы данных «ФАРМиндекс» (www.pharmindex.ru) по состоянию на июнь 2014 г. При расчете затрат использовалась стоимость оригинальных препаратов. При наличии нескольких предложений дистрибьюторов рассчитывалась средняя стоимость единицы дозирования АБП.

Для определения стоимости лечения одного завершеного случая ВП в условиях стационара были проанализированы тарифные соглашения, представленные на сайтах ряда *территориальных Фондов обязательного медицинского страхования* (ТФОМС) различных Федеральных округов РФ (информация на июнь 2014 г.). В связи с различиями в подходах к финансированию деятельности лечебно-профилактических учреждений в различных регионах РФ (оплата по клинико-профильным/клинико-статистическим группам, с учетом/без учета койко-дней и др.), для оценки затрат на лечение одного эпизода ВП в рамках данного исследования использовалась полная сумма, выплачиваемая ТФОМС на лечение пациента с указанной нозологией, при условии соблюдения заложенного в тариф койко-дня. В качестве базовой была принята стоимость лечения в отделении пульмонологии ОГБУЗ «Смоленская областная клиническая больница» (тарифное соглашение ТФОМС по Смоленской области от июня 2014 г.), вариации стоимости были учтены в анализе чувствительности.

Информация о расходах на выплату пособий по временной нетрудоспособности, а также ассоциированных с ВП потерях производительности труда основана на данных официальной статистики за 2012 г., представленных на сайте Федеральной службы государственной статистики РФ (www.gks.ru) и в Единой межведомственной информационно-статистической системе РФ (www.fedstat.ru/indicators/start.do). Расчет потерь производительности труда, обусловленных преждевременной смертью пациентов, выполнялся с использованием метода человеческого капитала на основе недопроизведенного *валового внутреннего продукта* (ВВП). В качестве базового было взято значение показателя на душу населения за 2012 г. с допущением, что ВВП в последующие годы будет аналогичным. При расчете потерь производительности труда для всех лет, следующих за текущим годом, выполнено дисконтирование затрат на 5% в год.

С целью проверки стабильности полученных результатов проводилась серия односторонних и двусторонних анализов чувствительности с вариацией таких показателей, как стоимость суточной дозы альтернативной АБТ пневмококковой ВП,

эффективность стартовых режимов терапии, продолжительность стартовой и альтернативной АБТ, сроки временной нетрудоспособности, стоимость случая завершеного лечения ВП в условиях российского многопрофильного стационара и потери производительности труда, ассоциированные со смертью от пневмококковой ВП.

Для оценки влияния неточности параметров на результаты исследования использован вероятностный анализ чувствительности Монте-Карло с объемом симулированной выборки в 100 000 пациентов. Неточность в ключевых параметрах модели была охарактеризована распределениями определенного типа. Величины вероятности были получены в результате бета-распределения, затраты на лечение ВП (стоимость альтернативной АБТ и потенциальные потери производительности труда) — гамма-распределения, параметры которого (α и λ) были рассчитаны путем аппроксимации средних величин для основного сценария и их среднеквадратичных отклонений средствами программы TreeAge Pro Healthcare. Показатели длительности терапии и получения пособия по временной нетрудоспособности были представлены нормальным распределением вокруг средних величин каждого из параметров, исходя из степени их отклонений по данным клинических и наблюдательных исследований, а также экспертной оценки.

В рамках анализа проводилось одновременное изменение всех ключевых параметров модели. Полученные данные по эффективности и затратам использовали для построения графиков рассеяния, отражающих устойчивость модели к неопределенности значений ее параметров, а также сравнительных кривых приемлемости эффективности затрат (cost-effectiveness acceptability curve), отражающих изменение фармакоэкономической привлекательности сравниваемых режимов АБТ при различных значениях порога готовности общества платить (willingness-to-pay)*.

Результаты исследования

Сравнительный анализ клинической эффективности и переносимости исследуемых режимов АБТ

По результатам проведенного поиска выявлено три многоцентровых проспективных клинических исследования, отвечавших всем заданным крите-

риям, в ходе которых в качестве альтернативы ЦФ выступал ЦС (FOCUS 1 / NCT00621504 [33]; FOCUS 2/NCT00509106 [34] и NCT01371838 [38]). Из указанных исследований для клинико-экономического анализа было отобрано два: FOCUS 1 и FOCUS 2, высокое качество которых (оценка по шкале Jadad — 5 баллов) позволило использовать их данные для проведения клинико-экономического анализа. Проект NCT01371838 не вошел в анализ в связи с выраженным этническим отличием исследуемой популяции от российской (азиатские пациенты) и отсутствием данных об эффективности режимов сравнения в субпопуляции больных пневмококковой ВП. Других клинических исследований, соответствовавших заданным критериям поиска, выявлено не было.

По результатам подгруппового анализа у госпитализированных пациентов с ВП пневмококковой этиологии ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч обладал достоверно более высокой ранней клинической эффективностью по сравнению с ЦС в дозе 1 г каждые 24 ч (73% vs. 56% на 4-е сутки терапии, $p=0,03$) [36, 39]). В связи с сопоставимыми показателями безопасности обоих режимов, в частности: летальность в популяции пациентов с пневмококковой ВП (0% vs. 1,4%, $p>0,05$) и частота развития серьезных НЛР в общей популяции (11,3% vs. 11,7%, $p>0,05$), частота преждевременной отмены стартовой АБТ в общей популяции (4,4% vs. 4,1%, $p>0,05$), данный аспект не учитывался в рамках текущего клинико-экономического анализа [37, 39].

Стратегия клинико-экономического анализа

Исходя из достоверно более высокой ранней эффективности ЦФ в терапии пневмококковой ВП у взрослых госпитализированных пациентов по сравнению с ЦС при сопоставимой безопасности, для оценки совокупных затрат и выбора оптимальной терапевтической стратегии была построена модель на основе «дерева решений» (рис. 1). Модель начиналась с выбора одной из стартовых стратегий лечения ВП в условиях стационара. В случае эффективности стартовой терапии на 4-е сутки лечение продолжалось полным курсом, в случае ранней неэффективности АБТ у 100% пациентов проводилась ее замена на альтернативную длительностью 7 суток (по результатам опроса экспертов). В зависимости от эффективности стартовой терапии у пациентов с различной вероятностью мог произойти летальный исход в период первичной госпитализации, а также рецидив и/или летальный исход в течение первого года после перенесенного эпизода ВП.

* Показатель готовности общества платить отражает сумму, которую общество готово потратить на достижение определенного терапевтического эффекта, в данном случае на 1% прироста ранней клинической эффективности терапии пневмококковой ВП.

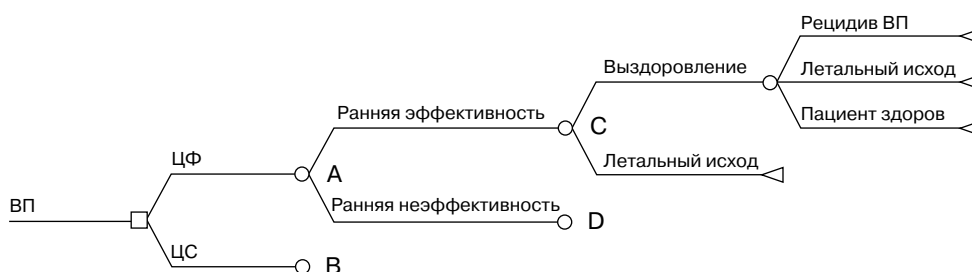


Рис. 1. Модель оценки клинико-экономической эффективности ЦФ в сравнении с ЦС в терапии пациентов с ВП пневмококковой этиологии в условиях стационара (структура ветви «дерева решений» «В» аналогична «А», структура ветви «дерева решений» «D» аналогична «С»).

Таблица 1. Стоимость различных режимов стартовой АБТ ВП, руб.

АБП	Форма выпуска	Режим дозирования	Средняя оптовая стоимость упаковки	Стоимость суточной дозы с учетом средств введения
Цефтаролина фосамил	Порошок 600 мг, фл. 20 мл № 10	600 мг каждые 12 ч	28 641,60	5789,06
Цефтриаксон	Порошок для приготовления раствора для инфузий фл. 1 г № 1	1 г каждые 24 ч	484,38	514,75
		2 г каждые 24 ч		999,13

Таблица 2. Стоимость различных режимов альтернативной АБТ ВП, руб.

АБП	Форма выпуска	Режим дозирования	Средняя оптовая стоимость упаковки	Стоимость суточной дозы с учетом средств введения
Моксифлоксацин	Раствор для инфузий 1,6 мг/мл 250 мл № 1	400 мг каждые 24 ч	2125,74	2125,74
Линезолид	Раствор для инфузий 2 мг/мл 300 мл № 10	600 мг каждые 12 ч	14820,70	2964,14
Цефтаролина фосамил	Порошок 600 мг фл. 20 мл № 10	600 мг каждые 12 ч	28641,60	5789,06
Кларитромицин	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 500 мг № 1	500 мг каждые 12 ч	555,48	1171,7
Меропенем	Порошок для приготовления раствора для инфузий фл. 500 мг № 10	500 мг каждые 6 ч	6849,69	2861,36
Азитромицин	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий фл. 500 мг № 5	500 мг каждые 24 ч	1688,67	368,1
Левифлоксацин	Раствор для инфузий фл. 5 мг/мл 100 мл № 1	500 мг каждые 12 ч	1490,98	2981,96
Имипенем/циластатин	Порошок для приготовления раствора для инфузий 500 мг + 500 мг 20 мл № 10	500 мг имипенема каждые 6 ч	5160,80	2185,8

В связи с однотипными расходами на оказание медицинской помощи пациентам с ВП, при оценке прямых затрат на лечение в условиях стационара, вне зависимости от выбранного стартового режима терапии, в рамках модели учитывались

только расходы на АБТ. Дополнительно в расчетах учитывались экономические потери общества, ассоциированные с данным эпизодом ВП: выплаты в связи с временной нетрудоспособностью, стоимость повторной госпитализации при рецидиве ВП

Таблица 3. Стоимость альтернативной АБТ ВП у пациентов, получавших стартовую терапию ЦФ и ЦС

Режим АБТ	Средневзвешенная частота назначения, %	Стоимость суточной дозы с учетом средств введения, руб.
Стартовая терапия ЦФ		
Моксифлоксацин	57,3	2125,74
Левифлоксацин	21,7	2981,96
Имипенем/циластатин	7,5	2185,8
Меропенем	7,5	2861,36
Имипенем/циластатин + азитромицин	1,25	2553,9
Имипенем/циластатин + кларитромицин	1,25	3357,5
Меропенем + азитромицин	1,25	3229,46
Меропенем + кларитромицин	1,25	4033,06
Линезолид	1	2964,14
Средневзвешенная стоимость		2437,99
Стартовая терапия ЦС		
Моксифлоксацин	56,6	2125,74
Левифлоксацин	21,4	2981,96
Имипенем/циластатин	7,5	2185,8
Меропенем	7,5	2861,36
Цефтаролин	2	5789,06
Имипенем/циластатин + азитромицин	1,25	2553,9
Имипенем/циластатин + кларитромицин	1,25	3357,5
Меропенем + азитромицин	1,25	3229,46
Меропенем + кларитромицин	1,25	4033,06
Средневзвешенная стоимость		2500,3

и потери производительности труда от преждевременной смерти лиц трудоспособного возраста.

В рамках клинико-экономического анализа стартовая терапия была представлена режимами дозирования, соответствовавшими таковым в исследованиях FOCUS 1 и FOCUS 2: ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч и ЦС в дозе 1 г каждые 24 ч. Дополнительно был выполнен анализ для ЦС в дозе 2 г каждые 24 ч, поскольку данный режим широко используется в стационарах РФ при указанной нозологии. Две дозы кларитромицина по 500 мг, полученные отдельными пациентами, участвовавшими в исследовании FOCUS 1 [35], не учитывались в связи с тем, что большинство пациентов с пневмококковой ВП (82 vs. 57) [33, 39] не получали данный препарат, а также в связи с потенциально небольшим вкладом кларитромицина в клинические и экономические показатели терапии.

Стоимость оригинальных АБП, использованных для расчета затрат на стартовую и альтернативную АБТ пневмококковой ВП в условиях стационара, представлена в табл. 1 и 2. При учете прямых затрат на одно введение лекарственного средства к стои-

мости препарата, исходя из режима дозирования, была добавлена стоимость средств введения из расчета 12,37 руб. за 1 инфузионную систему и 18 руб. за флакон (250 мл) 0,9% раствора хлорида натрия («ФАРМИндекс», расценки на июнь 2014 г.).

Перечень препаратов альтернативной терапии и частота их назначения были получены путем опроса экспертов отдельно для каждого из режимов стартовой АБТ. Препараты для альтернативной АБТ, предложенные экспертами, данные о стоимости суточной дозы каждого режима, частота упоминания опций экспертами и средневзвешенная суточная стоимость альтернативной терапии для обоих режимов сравнения приведены в табл. 3.

Поскольку клинические исследования, взятые за основу анализа, являлись краткосрочными проектами, охватывавшими непосредственно эпизод лечения ВП, и включали относительно небольшое количество пациентов, данные об эпидемиологии и ряде исходов ВП, в том числе отсроченных, были получены из наблюдательных исследований. Для оценки вероятности рецидива ВП в течение первого года после выписки из стационара, а также

Таблица 4. Показатели и источники данных для клинико-экономического анализа лечения взрослых госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП с позиции общества

Оцениваемый показатель	Значение	Вариации в анализе чувствительности	Параметры вероятностного анализа чувствительности Монте-Карло	Источник данных
Стоимость 1 суток терапии ЦС, руб.	514,75/999,13	-	-	База «ФАРМиндекс», средние оптовые цены на июнь 2014 г.
Стоимость 1 суток терапии ЦФ, руб.	5789,06	-	-	База «ФАРМиндекс», средние оптовые цены на июнь 2014 г.
Длительность стартовой терапии ЦС при ее эффективности, сут	6,6	5-14	Тип распределения – нормальное средняя – 6,6; SD – 1	Исследование FOCUS 1 [33], Исследование FOCUS 2 [34]
Длительность стартовой терапии ЦФ при ее эффективности, сут	6,7	5-14	Тип распределения – нормальное средняя – 6,7; SD – 1	Исследование FOCUS 1 [33], Исследование FOCUS 2 [34]
Вероятность ранней эффективности стартовой терапии ЦФ	0,73	0,62-0,82	Тип распределения – бета $\alpha - 54; \beta - 20$	Исследование FOCUS 1 [33], Исследование FOCUS 2 [34]
Вероятность ранней эффективности стартовой терапии ЦС	0,56	0,45-0,67	Тип распределения – бета $\alpha - 42; \beta - 33$	Исследование FOCUS 1 [33], Исследование FOCUS 2 [34]
Стоимость 1 суток альтернативной терапии при неэффективности стартовой терапии ЦС, руб.	2500,30	2125,74-5789,06	Тип распределения – гамма $\alpha - 15,49; \lambda - 0,0062$ Аппроксимация от средней – 2500,30; SD – 635,20	Экспертная оценка; база «ФАРМиндекс», средние оптовые цены на июнь 2014 г.
Стоимость 1 суток альтернативной терапии при неэффективности стартовой терапии ЦФ, руб.	2437,99	2125,74-4033,06	Тип распределения – гамма $\alpha - 32,13; \lambda - 0,0132$ Аппроксимация от средней – 2437,99; SD – 430,10	Экспертная оценка; база «ФАРМиндекс», средние оптовые цены на июнь 2014 г.
Длительность альтернативной АБТ при неэффективности стартовой, сут	7	5-14	Тип распределения – нормальное Средняя – 7; SD – 1	Экспертная оценка
Размер пособия на одни сутки временной нетрудоспособности, руб.	439,75	-	-	Расчетное значение на основании данных официальной статистики за 2012 г. [45, 46]
Длительность пребывания на больничном листе пациентов с ВП при ранней эффективности стартовой АБТ, сут	11,1	7-14	Тип распределения – нормальное Средняя – 11,1; SD – 8,9	Экспертная оценка; исследование REACH [41]
Длительность пребывания на больничном листе пациентов с ВП в случае смены стартовой АБТ по причине неэффективности, сут	16,1	12-19	Тип распределения – нормальное Средняя – 16,1; SD – 13,1	Экспертная оценка; исследование REACH [41]
Длительность пребывания на больничном листе при повторной госпитализации пациентов с рецидивом ВП, сут	15	-	-	Тарифное соглашение ТФОМС Смоленской области от июня 2014 г.
Тариф стоимости лечения 1 заверенного случая ВП в условиях стационара, руб.	20204,10	15000-78000	-	Тарифное соглашение ТФОМС Смоленской области от июня 2014 г.
Вероятность рецидива ВП в течение 1 года после госпитализации при ранней эффективности стартовой АБТ	0,033	-	Тип распределения – бета $\alpha - 11; \beta - 332$	Исследование REACH [41, 42]
Вероятность рецидива ВП в течение 1 года после госпитализации при ранней неэффективности стартовой АБТ	0,059	-	Тип распределения – бета $\alpha - 15; \beta - 253$	Исследование REACH [41, 42]

Продолжение табл. 4

Потери производительности труда, связанные с 1 летальным исходом от ВП в период госпитализации, руб.	4826095,63	3619571,72–6032619,54	Тип распределения – гамма $\alpha - 16; \lambda - 3,32 \cdot 10^{-6}$ Аппроксимация от средней – 4826095,63; SD – 1206523,91 ($\pm 25\%$)	Расчетное значение на основании данных официальной статистики за 2012 г. [45, 46]
Вероятность летального исхода у пациентов при ранней эффективности стартовой АБТ	0,033	–	–	Oster G. и соавт. [43]
Вероятность летального исхода у пациентов при ранней неэффективности стартовой АБТ	0,085	–	–	Oster G. и соавт. [43]
Потери производительности труда, связанные с 1 летальным исходом от ВП в течение последующего года, руб.	4389000,14	3291750,1–5486250,18	Тип распределения – гамма $\alpha - 16; \lambda - 3,65 \cdot 10^{-6}$ Аппроксимация от средней – 4389000,14; SD – 1097250,04 ($\pm 25\%$)	Расчетное значение на основании данных официальной статистики за 2012 г. [45, 46]
Вероятность летального исхода, связанного с пневмококковой ВП, в течение 1 года после госпитализации	0,069	–	Тип распределения – бета $\alpha - 37; \beta - 537$	Adamuz J. и соавт. [7]
Готовность общества платить за пророст ранней эффективности стартовой АБТ ВП на 1%, руб.	435	150–1000	–	Экспертная оценка

длительности пребывания на больничном листе пациентов с ВП при различной эффективности стартовой АБТ (по результатам опроса экспертов приравнена к длительности госпитализации) были использованы данные наблюдательного когортного исследования REACH [41, 42]; для оценки уровня летальности при ВП в условиях стационара при различной эффективности стартовой АБТ – результаты ретроспективного когортного исследования G. Oster и соавт. [43]; для оценки летальности в течение первого года после выписки из стационара после эпизода пневмококковой ВП – исследования J. Adamuz и соавт. [7].

При оценке затрат, ассоциированных с рецидивом инфекции, использовался тариф системы *обязательного медицинского страхования* (ОМС) на лечение одного завершеного случая ВП в условиях многопрофильного стационара. Размер выплаты за одни сутки временной нетрудоспособности был получен путем деления общей суммы расходов на выплату пособий по временной нетрудоспособности за счет средств консолидированного бюджета РФ и государственных внебюджетных фондов в 2012 г. (148 599 млн рублей) [44] на зарегистрированное в этом же году число дней временной нетрудоспособности (337 919 946 дней) [45].

Расчет потерь производительности труда, обусловленных преждевременной смертью пациентов, выполнялся с использованием метода человеческого капитала на основе недопроизведенного ВВП. В качестве базового было взято значение показателя ВВП на душу населения за 2012 г. (437 104 руб.) [46] с допущением, что ВВП в последующие годы будет аналогичным. Экономические потери от преждевременной смерти пациентов были оценены отдельно для пациентов, погибших от первичного эпизода инфекции (в течение госпитализации), и для пациентов, летальный исход у которых наступил в течение одного года после перенесенного эпизода пневмококковой ВП, однако был расценен как связанный с данным заболеванием. При расчете потерь производительности труда для всех лет, следующих за текущим годом, выполнено дисконтирование затрат на 5% в год.

Количество потерянных лет трудовой активности рассчитывалось для лиц трудоспособного возраста (для мужчин 16–59 лет, для женщин – 16–54 лет [47]), исходя из возрастного и полового состава российской популяции по состоянию на 2012 г. за вычетом доли безработных, зарегистрированных в том же году [48, 49]. На полученную условную популяцию работающих лиц, в связи с отсутствием отечественных данных, были экстраполированы показатели заболеваемости пневмококковой

ВП по результатам наблюдательного исследования, выполненного в Испании (мужчины в возрасте 15–44 лет — 1,07/10 000 человеко-лет, мужчины в возрасте 45–64 лет — 2,02/10 000 человеко-лет, женщины в возрасте 15–44 лет — 0,86/10 000 человеко-лет, женщины в возрасте 45–64 лет — 1,37/10 000 человеко-лет) [50].

Было рассчитано потенциальное количество работающих лиц обоего пола в РФ, заболевших пневмококковой ВП в течение 2012 г., для возрастных групп диапазона трудоспособного возраста с шагом в 1 год, а также вклад каждой возрастной группы в структуру заболеваемости указанной нозологической формой. В возрастных группах с учетом половой принадлежности определено потенциальное количество лет потерянной трудовой активности в случае наступления летального исхода от пневмококковой ВП, как в момент лечения первичного эпизода, так и в течение последующего года, определены ассоциированные затраты и рассчитаны средневзвешенные показатели недопроизведенного ВВП для обоих упомянутых исходов.

Все показатели, использованные в процессе моделирования, их допустимые вариации в анализе чувствительности, а также параметры вероятностного анализа чувствительности Монте-Карло представлены в табл. 4. В ходе выполненного нами опроса экспертов порог готовности общества платить за прирост единицы ранней эффективности терапии пневмококковой ВП (1%) составил в среднем 435 руб. (с колебаниями в пределах 150–1000 рублей).

Сравнительный клинико-экономический анализ исследуемых режимов АБТ

При расчете затрат на лечение взрослого госпитализированного пациента с пневмококковой ВП ЦФ в сравнении ЦС с позиции общества суммарные затраты при стартовой терапии ЦС в дозе 1 г / 2 г в сутки превышали таковые для ЦФ (572 719,08 руб. / 575 361,86 руб. vs. 560 998,95 руб. соответственно), что, с учетом превосходящей эффективности ЦФ, позволяет считать данную стратегию абсолютно доминирующей. Потери ранней эффективности при использовании ЦС в качестве стартовой терапии пневмококковой ВП составили 17%, экономические потери общества — 11 720,13 руб. / 14 362,91 руб., что эквивалентно 689,41 руб. / 844,88 руб. соответственно на каждый 1% ранней эффективности.

Исходя из рассчитанной суточной стоимости ЦС в дозе 1 г / 2 г каждые 24 ч (514,75 руб. / 999,13 руб.), затраты на стратегию стартовой тера-

пии ЦФ превысят таковые для ЦС при стоимости суточной дозы препарата более 7751,90 руб. / 8194,50 руб. соответственно, что, с учетом порога готовности общества платить 435 руб., превращает ЦФ в менее привлекательную стратегию по сравнению с альтернативной при стоимости суточной дозы препарата более 8990,39 руб. / 9432,99 руб. соответственно. В то же время при рассчитанной стоимости суточной дозы ЦФ (5789,06 руб.) стратегия стартовой терапии ЦС остается менее привлекательной при любых вариациях стоимости суточной дозы препарата.

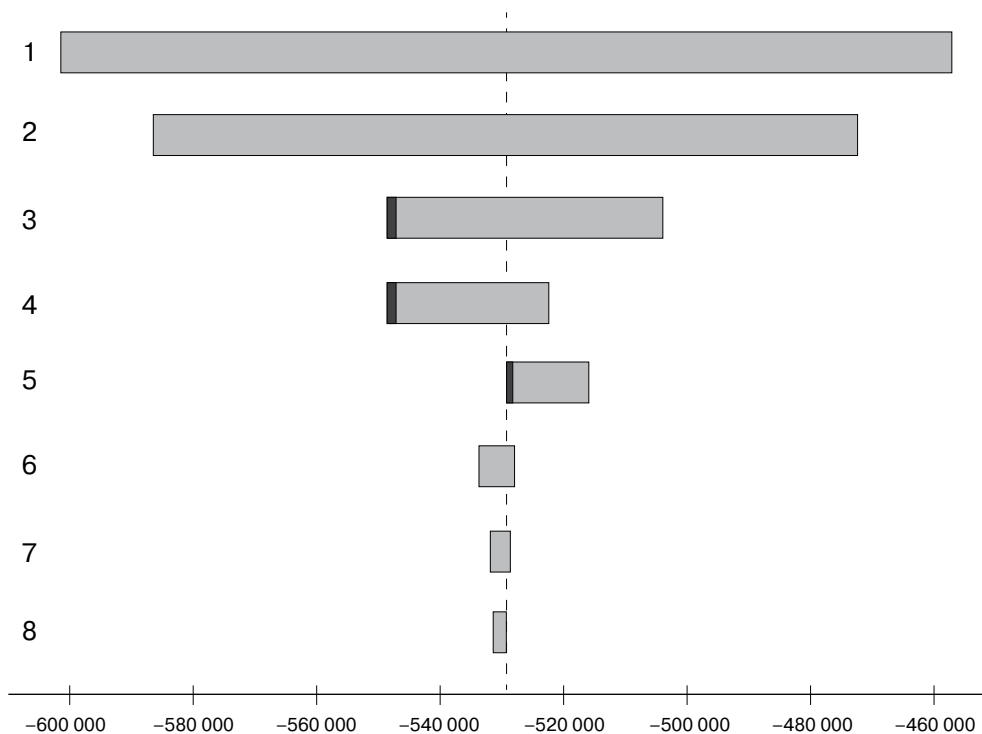
Анализ чувствительности

Выполненная серия односторонних, а также ряд двусторонних анализов чувствительности продемонстрировали влияние на результаты расчетов и конечные выводы (выбор доминирующей стратегии) таких показателей, как ранняя эффективность препаратов сравнения (ЦФ и ЦС) и длительность стартовой терапии ЦФ (рис. 2). В частности, затраты, ассоциированные с лечением пневмококковой ВП ЦФ в сравнении с ЦС в дозе 1 г / 2 г в сутки, становились сопоставимыми при одностороннем снижении ранней эффективности стартовой терапии ЦФ до 68% / 67% или при повышении ранней эффективности терапии ЦС до 61% / 62% соответственно. С учетом порога готовности общества платить 435 руб., потеря стратегией стартовой терапии ЦФ рентабельности наступала при снижении ранней эффективности препарата до 66% / 65% или при повышении эффективности альтернативного режима до 62% / 63% соответственно.

Затраты, ассоциированные в рамках модели с лечением пневмококковой ВП, также становились сопоставимыми при одностороннем увеличении длительности стартовой терапии ЦФ до 9,5 / 10,1 сут, что, с учетом установленного порога готовности общества платить, означало потерю стратегией рентабельности при длительности терапии более 11,2 / 11,8 сут. Поскольку длительность терапии ЦС при этом не должна превышать 6,6 сут, реализация подобного сценария в клинической практике представляется маловероятной.

Хотя модель была в некоторой степени чувствительна к изменению таких показателей, как длительность стартовой терапии ЦС, длительность альтернативной АБТ и размер потерь производительности труда, ассоциированных с летальностью в период госпитализации, их вариации в допустимых пределах не сопровождались изменением результатов и выводов основного сценария.

Для оценки влияния неточности параметров, использованных при моделировании, был



№	Оцениваемые показатели	Пределы вариаций	Оценка влияния на результат
1	Потери производительности труда, связанные с 1 летальным исходом от ВП в течение последующего года, руб.	3291750,1–5486250,18	ЦФ остается предпочтительной стратегией
2	Потери производительности труда, связанные с 1 летальным исходом от ВП в период госпитализации, руб.	3619571,72–6032619,54	ЦФ остается предпочтительной стратегией
3	Вероятность ранней эффективности стартовой терапии ЦФ, %	62–82	ЦС становится предпочтительной стратегией при значении показателя $\leq 68\%$ / $67\%^*$
4	Длительность стартовой терапии ЦФ при ее эффективности, сут	5–14	ЦС становится предпочтительной стратегией при значении показателя $\geq 9,5$ / $10,1$ сут [*]
5	Вероятность ранней эффективности стартовой терапии ЦС, %	45–67	ЦС становится предпочтительной стратегией при значении показателя $\geq 61\%$ / $62\%^*$
6	Длительность альтернативной АБТ при неэффективности стартовой, сут	5–14	ЦФ остается предпочтительной стратегией
7	Стоимость 1 суток альтернативной терапии при неэффективности стартовой терапии ЦФ, руб.	2125,74–4033,06	ЦФ остается предпочтительной стратегией
8	Тариф стоимости лечения 1 законченного случая ВП в условиях стационара, руб.	15000–78000	ЦФ остается предпочтительной стратегией

Примечание. * для ЦС в дозе 1 г / 2 г каждые 24 ч.

Рис. 2. Диапазон прогнозируемой чистой денежной выгоды при последовательной вариации значений переменных модели в допустимых пределах в рамках одностороннего анализа чувствительности (диаграмма торнадо, данные приведены для наиболее значимых показателей).

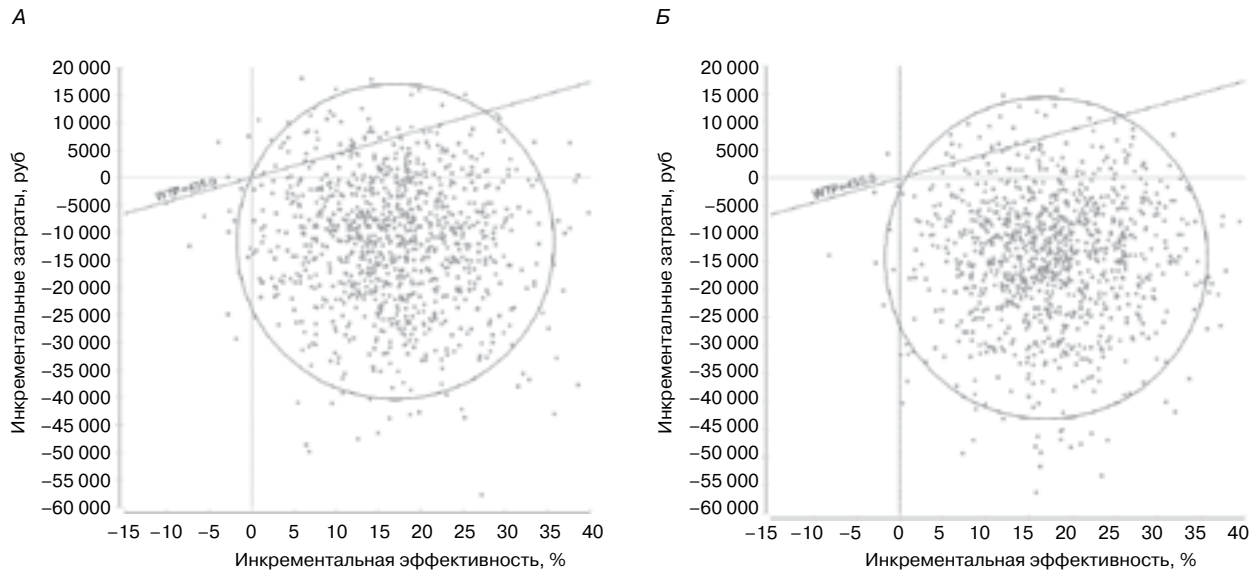


Рис. 3. Распределение точек «затраты-эффективность» (1000 случайным образом отобранных симуляций) относительно порога готовности общества платить по результатам вероятностного анализа чувствительности Монте-Карло при терапии ВП пневмококковой этиологии в условиях стационара ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч в сравнении с ЦС в дозе 1 г каждые 24 ч (А) или 2 г каждые 24 ч (Б).

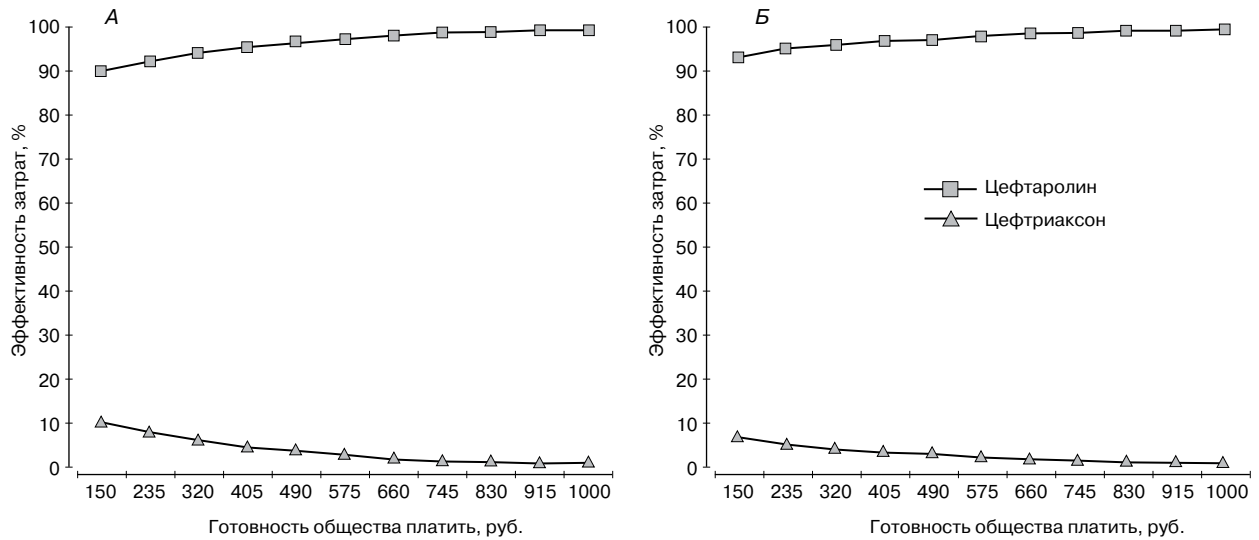


Рис. 4. Кривые приемлемости эффективности затрат при терапии ВП пневмококковой этиологии в условиях стационара ЦФ в дозе 600 мг каждые 12 ч в сравнении с ЦС в дозе 1 г каждые 24 ч (А) или 2 г каждые 24 ч (Б).

выполнен вероятностный анализ чувствительности Монте-Карло, результаты которого в целом подтвердили выводы основного анализа. С учетом порога готовности общества платить 435 руб., ЦФ являлся предпочтительной стратегией стартовой терапии ВП взрослых госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП в сравнении с ЦС в дозе 1 г / 2 г в сутки в 95,1% / 97,3% (рис. 3). Необходимо отметить, что стратегия стартовой терапии ЦФ оставалась экономически более целе-

сообразной в пределах всего диапазона порога готовности общества платить, определенного опросом экспертов (150–1000 руб.), причем с возрастанием указанного порога привлекательность данной стратегии увеличивалась, а стратегии стартовой терапии ЦС уменьшалась (рис. 4).

Обсуждение результатов

ВП является актуальной медицинской и социально-экономической проблемой во всем мире

в связи с высокой заболеваемостью и существенными затратами на оказание медицинской помощи, особенно у пациентов, нуждающихся в госпитализации [4, 6, 15]. При этом адекватная стартовая АБТ ВП способствует минимизации потерь, как на уровне системы здравоохранения, так и общества в целом [6, 27].

При выборе АБП для эмпирической терапии ВП ключевая роль отводится спектру потенциальных возбудителей и их чувствительности к АБП, которые зарегистрированы по данному показанию [17, 51]. Неблагоприятное влияние антибиотикорезистентности на прогноз убедительно продемонстрировано в ходе метаанализа данных 3430 пациентов с пневмококковой ВП, выявившего возрастание риска летального исхода при нечувствительности *S. pneumoniae* к пенициллину (относительный риск – 1,29, 95% доверительный интервал 1,04–1,59) [52].

Тенденции текущего роста резистентности *S. pneumoniae* к группам АБП, традиционно используемым при ВП, диктуют необходимость поиска и оценки перспектив применения новых терапевтических альтернатив. К их числу относится ЦФ, высокая активность которого в отношении штаммов *S. pneumoniae*, в том числе устойчивых к аминопенициллинам, цефалоспорином III поколения, макролидам и фторхинолонам [28, 29], является ключевым преимуществом препарата в лечении пациентов с пневмококковой ВП, нуждающихся в парентеральной АБТ.

На основании продемонстрированных в клинических исследованиях высокой эффективности и благоприятного профиля переносимости ЦФ в 2012 г. зарегистрирован для применения на территории РФ в лечении ВП у взрослых пациентов в режиме 600 мг каждые 12 ч внутривенно, а также включен в национальные рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой ВП [51]. Необходимо отметить, что в настоящее время накоплено достаточно информации об использовании препарата в реальной клинической практике, в том числе при указанной нозологии. В ходе проекта CAPTURE (Clinical Assessment Program and Teflaro Utilization Registry) была показана высокая клиническая эффективность ЦФ в лечении ВП как в отделениях общего профиля (87%), так и в ОРИТ (72%). При этом в 84% случаев препарат назначался в качестве второй линии терапии при неэффективности других цефалоспоринов (43%), фторхинолонов (38%) и гликопептидов (37%) [53, 54].

Представленные данные убедительно демонстрируют возможность использования ЦФ у пациентов с ВП в реальной клинической практике,

в том числе в случае неэффективности АБП других групп. При этом, выявленная в сравнительных клинических исследованиях высокая ранняя эффективность ЦФ у пациентов с культурально подтвержденной пневмококковой ВП [39] позволяет рассчитывать на более быстрое достижение клинической стабильности и, следовательно, сокращение периода пребывания пациентов в стационаре, улучшение отдаленного прогноза, а также уменьшение сопутствующих затрат. Последнее является немаловажным, поскольку стоимость фармакотерапии ЦФ превышает таковую для альтернативных АБП, в том числе ЦС (по нашим расчетам, 5789,06 руб. за сутки фармакотерапии ЦФ vs. 514,75–999,13 руб. за сутки терапии ЦС с учетом допустимых вариаций дозирования).

В то же время очевидно, что положительное влияние на исход терапии способствует повышению ее экономической эффективности, поэтому при тяжелых и жизнеугрожающих инфекциях, а также в условиях роста микробной резистентности, использование заведомо более эффективных, хотя и более затратных стратегий может оказаться, в конечном итоге, рентабельным.

Так, несмотря на более высокую стоимость фармакотерапии, использование моксифлоксацина в качестве стартового режима у госпитализированных пациентов с ВП во Франции оказалось экономически оправданным в сравнении с комбинацией амоксицилина/клавуланата с кларитромицином в силу меньших суммарных затрат на оказание медицинской помощи, преимущественно за счет сокращения длительности госпитализации [55]. В ряде публикаций была продемонстрирована более высокая затратная эффективность линезолида в сравнении с ванкомицином и тейкопланином в лечении пациентов с инфекциями различной локализации, вызванными метициллинорезистентными штаммами *Staphylococcus aureus* (MRSA), несмотря на более высокую стоимость препарата [56–58].

Еще одним потенциальным фактором сокращения затрат могут являться отсроченные результаты терапии. В частности, в ходе проекта, выполненного американскими исследователями на основе анализа 11018 эпизодов MRSA-инфекции, использование линезолида сопровождалось значимым снижением затрат за счет более редких повторных госпитализаций по сравнению с ванкомицином (26,1% vs. 33,4%) [59].

Российских исследований по оценке затратной эффективности ЦФ в терапии ВП не выполнялось, однако американскими коллегами было продемонстрировано отсутствие негативного влияния на

бюджет включения ЦФ в формуляр лечебно-профилактического учреждения в США для использования при указанной нозологии, поскольку расчетная стоимость лечения пациента с ВП при применении ЦФ оказалась на 1102 доллара ниже по сравнению с таковой при использовании ЦС [60].

Однако результаты зарубежных клинико-экономических исследований не представляется возможным экстраполировать на российское здравоохранение в связи с различными подходами к оказанию медицинской помощи и возмещению расходов на нее, что определяет потребность в проведении российских исследований с учетом национальных социально-экономических особенностей.

Нам представлялось актуальным оценить рентабельность применения ЦФ в сравнении с ЦС в терапии пациентов с ВП пневмококковой этиологии у госпитализированных пациентов и обоснованность более высоких затрат на фармакотерапию у данной категории пациентов с учетом более высокой эффективности препарата. При этом в связи с высоким социальным бременем ВП мы сочли целесообразным проводить оценку с позиции общества, чтобы максимально полно оценить все экономические аспекты, связанные с применением ЦФ в терапии указанного заболевания.

Таким образом, в данной публикации представлены результаты первого российского проекта по оценке клинико-экономической эффективности ЦФ в терапии взрослых госпитализированных пациентов с ВП пневмококковой этиологии с учетом позиции общества. В основу исследования была положена модель, отражающая стандартную тактику ведения пациентов с указанной нозологией в условиях российского многопрофильного стационара, а также их дальнейшую судьбу в течение года с момента возникновения эпизода инфекции с учетом известных вероятностей рецидива заболевания, а также непосредственной и отсроченной атрибутивной летальности. С целью максимального приближения модели к объективной ситуации предпочтение в ходе анализа отдавалось российским эпидемиологическим, демографическим и макроэкономическим данным, которые дополнялись сведениями из международных источников при отсутствии отечественных и только для показателей, отличия которых от российских не носят фундаментального характера. В последнем случае, для получения информации, проводился опрос экспертов.

Еще одним шагом, приближающим результаты модели к реальной клинической практике, стал выбор раннего клинического ответа на терапию в качестве показателя эффективности режимов

сравнения. В рамках клинических исследований III фазы, результаты которых были положены в основу модели, оценка финальной эффективности проводилась на 8–15-е сутки с момента начала терапии, причем отсутствие положительного клинического ответа на 4-е сутки не являлось основанием для смены режима [33–35]. В то же время в медицинской практике отсутствие клинической эффективности через 48–72 ч с момента начала лечения у госпитализированных пациентов с ВП в абсолютном большинстве случаев ведет к замене АБП. Таким образом, ранний ответ на терапию является фактором, оказывающим существенное влияние на тактику ведения пациента. Кроме того, достоверно показано, что смена режима стартовой АБТ по причине неэффективности ассоциирована с ухудшением прогноза и ростом потребляемых ресурсов, в том числе за счет увеличения сроков госпитализации (в среднем на 5 суток), включая удлинение пребывания в ОРИТ (в среднем на 2,7 суток) [41]. Более того, независимо от дальнейшей тактики ведения пациента с ВП, отсутствие положительного клинического ответа через 72 ч с момента начала стартовой АБТ сопровождается значимым возрастанием риска наступления летального исхода (8,5% vs. 3,3%) [22], рецидива инфекции (5,9% vs. 3,3%) и удлинением периода госпитализации (в среднем на 6,2 сут), в том числе за счет пребывания в ОРИТ (в среднем на 4,2 сут) [42].

В ходе выполненного нами исследования при оценке потенциальных преимуществ и затрат, с учетом позиции общества, стратегия стартовой терапии ЦФ продемонстрировала более высокую клинико-экономическую целесообразность по сравнению с альтернативной, несмотря на значимо более высокую стоимость стартового режима АБТ. Причиной тому, в наибольшей степени, является негативное экономическое влияние на общество преждевременной летальности его трудоспособных членов. Поскольку, в силу более высокой эффективности, стратегия ЦФ позволяла улучшить прогноз у пациентов и таким образом снизить летальность, суммарные экономические затраты, сопряженные с использованием данной стратегии, оказались менее выраженными. Необходимо подчеркнуть, что упомянутые затраты (неполученный ВВП) не носят характера объективных выплат и, по сути, являются упущенными возможностями по получению потенциальной выгоды.

С целью учета объективных вариаций, а также неопределенности значений ряда показателей, использованных при моделировании, нами был

предпринят детерминистический одно- и двусторонний анализ чувствительности с последовательной и попарной вариацией значений переменных, а также вероятностный анализ чувствительности Монте-Карло, в ходе которого проводилось одновременное изменение всех показателей модели в пределах потенциальной неопределенности.

В ходе детерминистического анализа чувствительности было выявлено изменение предпочтительной стратегии лечения при вариации ранней эффективности препаратов сравнения (снижение до 65–66% для ЦФ или повышение до 62–63% для ЦС), а также длительности стартовой терапии ЦФ (возрастание до 11,2–11,8 сут). Необходимо отметить, что при сохранении текущей тенденции развития ситуации с устойчивостью *S. pneumoniae* к ЦС, ожидать столь выраженного прироста клинической эффективности данного препарата не приходится. Снижение эффективности ЦФ потенциально возможно при значимом росте устойчивости к препарату, однако предпосылок к такому развитию ситуации пока нет. Кроме того, повышение устойчивости *S. pneumoniae* к ЦФ будет происходить на фоне роста устойчивости микроорганизма к другим цефалоспорином, в том числе ЦС, что изменит соотношение показателей эффективности, при котором для указанных терапевтических опций достигается паритет рентабельности.

В ходе вероятностного анализа чувствительности на симулированной когорте из 100 000 пациентов была показана высокая устойчивость модели к потенциальной неопределенности значений ее переменных. Доминирующий характер стратегии использования ЦФ в качестве стартовой терапии пациентов с пневмококковой ВП нашел подтверждение в 95–97% симуляций. При этом, в 83–88,6% доминирование являлось абсолютным, то есть при более высокой эффективности совокупные затраты в случае применения ЦФ в качестве стартовой терапии оказывались меньше, чем таковые для альтернативной стратегии.

Немаловажным представляется тот факт, что помимо экономических последствий для общества, которые мы старались максимально полно учесть при проведении анализа, заболеваемость и летальность при ВП сопровождается выраженными нематериальными потерями (страдания пациентов и членов их семей), оценить которые в экономическом эквиваленте не представляется возможным. В связи с этим, более высокая эффективность ЦФ, обуславливающая более благоприятный прогноз при его использовании, является неучтенным, но потенциально существенным преимуществом препарата, так как позволяет минимизировать немате-

риальный ущерб для общества в лице его отдельных членов.

Необходимо отметить, что расчет прямых и косвенных затрат на лечение ВП в рамках подобных клинико-экономических исследований имеет определенные ограничения, к числу которых следует отнести особенности методологии оценки затрат, в том числе невозможность в полной мере оценить все последствия для общества, ассоциированные с заболеваемостью и летальностью. В частности, учет затрат на медицинскую помощь в рамках нашей работы, в связи с отсутствием альтернативной информации, проводился на основе размера возмещения системой ОМС без учета реального объема потраченных ресурсов. Подобный подход может приводить к погрешностям в оценке реальных затрат, но в то же время более точно отражает расходы общества на лечение пациентов с указанной нозологией. Кроме того, наличие региональных различий в подходах к компенсации системой ОМС оказанных медицинских услуг (разделение заболеваний по клинико-статистическим / клинико-профильным группам, вариации в подходах к оплате при отклонении от рекомендованного койко-дня) не позволяет найти единую сумму, отражающую затраты на лечение пациентов с ВП в стационарах нашей страны. Метод человеческого капитала, использованный для оценки потенциальных экономических потерь общества, также является обобщенным подходом и базируется на допущении о стабильном состоянии экономики страны и уровня занятости населения, а также о востребованности каждого лица трудоспособного возраста на рынке труда.

Другой значимой проблемой является ограниченный характер отечественных данных об эпидемиологии, этиологии, непосредственных и отсроченных исходах ВП, что потребовало использования при моделировании информации зарубежных источников, а в ряде случаев экспертной оценки. Все вышеуказанное вносит в расчеты некоторую степень неопределенности, выраженность и значимость которой была оценена нами в рамках анализа чувствительности. Тот факт, что в абсолютном большинстве случаев вариация ключевых переменных не сопровождалась изменением результатов, подтверждает стабильность и достоверность использованной модели. Однако необходимо отметить, что данный анализ был выполнен в определенный промежуток времени для фиксированных демографических, статистических и экономических показателей и его результаты являются достоверными в той степени, в которой заложенные в модель показатели отвечают реальной ситуации.

Заключение

Выполненный нами сравнительный клинико-экономический анализ у взрослых госпитализированных пациентов с пневмококковой ВП показал, что использование стратегии стартовой терапии ЦФ в дозе 600 мг каждые 24 ч является более

целесообразным с позиции общества в сравнении с использованием стратегии стартовой терапии ЦС в дозе 1 г / 2 г каждые 24 ч в связи с меньшими суммарными затратами (на 11720,13 руб. / 14362,91 руб. соответственно) при превосходящей клинической эффективности.

Литература

1. Fauci A.S., Morens D.M. The perpetual challenge of infectious diseases. *N Engl J Med* 2012; 366:454-61.
2. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380:2095-128.
3. Гучев И.А., Синопальников А.И. Современные руководства по ведению внебольничной пневмонии у взрослых: путь к единому стандарту. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2008; 10(4):305-21.
4. Статистические материалы «Заболееваемость взрослого населения России в 2012 году». М.: 2013. Available from: www.rosminzdrav.ru/documents/8029-statisticheskaya-informatsiya-2012.
5. Marston B.J., Plouffe J.F., File T.M. Jr., Hackman B.A., Salstrom S.J., Lipman H.B., et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance study in Ohio. *The Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. Arch Intern Med* 1997; 157(15):1709-18.
6. Синопальников А.И. Бактериальная пневмония. В кн.: Респираторная медицина. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007. Том 1. с. 474-509.
7. Adamuz J., Viasus D., Jiménez-Martínez E., Isla P., García-Vidal C., Dorca J., et al. Incidence, timing and risk factors associated with 1-year mortality after hospitalization for community-acquired pneumonia. *J Infect* 2014; 68(6):534-41.
8. Jackson M.L., Neuzil K.M., Thompson W.W., Shay D.K., Yu O., Hanson C.A., et al. The burden of community-acquired pneumonia in seniors: results of a population-based study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1642-50.
9. Agency for Healthcare Research and Quality. Pneumonia is the most common reason for hospitalization. *Research archives*. 2008; 337:25.
10. Lim W.S., Baudouin S.V., George R.C., Hill A.T., Jamieson C., Le Jeune I., et al. BTS guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax* 2009; 64: iii1-iii55.
11. Guest J.F., Morris A. Community-acquired pneumonia: the annual cost to the National Health Service in the UK. *Eur Respir J* 1997; 10:1530-4.
12. Baltolome M., Almirall J., Morera J., Pera G., Ortún V., Bassa J., et al. A population-based study of the costs of care for community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2004; 23:610-6.
13. Reyes S., Martínez R., Valles J.M., Cases E., Menéndez R. Determinants of hospital costs in community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2008; 31:1061-7.
14. Colice G., Morley M., Asche C., Birnbaum H.G. Treatment costs of community-acquired pneumonia in an employed population. *Chest* 2004; 125:2140-5.
15. Рачина С.А., Козлов Р.С., Шаль Е.П., Устюжанин И.В., Асафьева О.Ю., Гуляева С.А. Расчет прямых затрат у госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией: результаты проспективного исследования. *Клиническая фармакология и терапия* 2010; 2:20-8.
16. Рачина С.А. Фармакоэпидемиологические, фармако-экономические и фармакотерапевтические подходы к ведению пациентов с внебольничной пневмонией в стационаре. Дисс. докт. мед. наук. Смоленск; 2010.
17. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике у взрослых. М.: ООО «Издательский дом «М-Вести»; 2010.
18. Sanz H.F., Blanquer O.J. Microbiology and risk factors for community-acquired pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med* 2012; 33:220-31.
19. Козлов Р.С. Пневмококки: уроки прошлого — взгляд в будущее. Смоленск: МАКМАХ; 2010.
20. Jones R.N., Jacobs M.R., Sader H.S. Evolving trends in *Streptococcus pneumoniae* resistance: implications for therapy of community-acquired bacterial pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36:197-204.
21. Ferech M., Coenen S., Malhotra-Kumar S., Dvorakova K., Hendrickx E., Suetens C., et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(2):401-7.
22. Jenkins S.G., Brown S.D., Farrell D.J. Trends in antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in the USA: update from PROTEKT US Years 1-4. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2008; 11:7-11.
23. Perez-Trallero E., Martín-Yerro J.E., Mazon A., García-Delafuente C., Robles P., Iriarte V., et al. Antimicrobial resistance among respiratory pathogens in Spain: latest data and changes over 11 years (1996-1997 to 2006-2007). *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 54:2953-9.
24. Inoue M., Farrell D.J., Kaneko K., Akizawa K., Fujita S., Kaku M., et al. Antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens in Japan during PROTEKT years 1-5 (1999-2004). *Microb Drug Resist* 2008; 14:109-17.

25. Козлов Р. С., Сивая О. В., Кречикова О. И., Иванчик Н. В., группа исследователей проекта «ПеГАС». Динамика резистентности *S. pneumoniae* к антибиотикам в России за период 1999-2009 г. Клин микробиол антимикроб химиотер 2010; 12:329-41.
26. Отчет по проекту ЦЕРБЕРУС. Смоленск: НИИАХ; 2014.
27. Lode H. M. Managing community-acquired pneumonia: a European perspective. *Respir Med* 2007; 101(9):1864-73.
28. Fenoil A., Aguilar L., Robiedo O., Gimenez M. J., Granizo J. J., Biek D., et al. *In vitro* activity of ceftaroline against *Streptococcus pneumoniae* isolates exhibiting resistance to penicillin, amoxicillin, and cefotaxime. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:4209-10.
29. McGee L., Biek D., Ge Y., Klugman M., du Plessis M., Smith A. M., et al. *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of ceftaroline against cephalosporin resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:552-6.
30. Biek D., Critchley I. A., Riccobene T. A., Thye D. A. Ceftaroline fosamil: a novel broad-spectrum cephalosporin with expanded anti-Gram-positive activity. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(Suppl 4): iv9-16.
31. Pfaller M. A., Farrell D. J., Sader H. S., Jones R. N. AWARE Ceftaroline Surveillance Program (2008-2010): trends in resistance patterns among *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the United States. *Clin Infect Dis* 2012; 55: S187-93.
32. Farrell D. J., Castanheira M., Mendes R. E., Sader H. S., Jones R. N. *In vitro* activity of ceftaroline against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*: a review of published studies and the AWARE Surveillance Program (2008-2010). *Clin Infect Dis*. 2012; 55: S206-14.
33. File T. M. Jr., Low D. E., Eckburg P. B., Talbot G. H., Friedland H. D., Lee J., et al. FOCUS 1: a randomized, double-blinded, multicentre, Phase III trial of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in community-acquired pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(Suppl 3): iii19-32.
34. Low D. E., File T. M. Jr., Eckburg P. B., Talbot G. H., David Friedland H., Lee J., et al. FOCUS 2: a randomized, double-blinded, multicentre, Phase III trial of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in community-acquired pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(Suppl 3): iii33-44.
35. File T. M., Low D. E., Eckburg P. B., Talbot G. H., Friedland H. D., Lee J., et al. Integrated analysis of FOCUS 1 and FOCUS 2: randomized, double blinded, multicenter phase 3 trials of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2010; 51:1395-405.
36. Eckburg P. B., Friedland H. D., Llorens L., Smith A., Witherell G. W., Laudano J. B., et al. Day 4 clinical response of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone for community-acquired bacterial pneumonia. *Infect Dis Clin Pract* 2012; 20(4):254-60.
37. Rank D. R., Friedland H. D., Laudano J. B. Integrated safety summary of focus 1 and focus 2 trials: phase iii randomized, double-blind studies evaluating ceftaroline fosamil for the treatment of patients with community-acquired pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(Suppl 3): iii53-9.
38. Zhong N., Sun T., D'Souza G., Lee S. H., Nguyen H. L., Chiang C. — H., et al. Ceftaroline fosamil 600 mg every 12 hours is superior to ceftriaxone 2g every 24 hours for Asian patients hospitalized with community-acquired pneumonia (CAP): a randomised trial. *Proceedings of 24th ECCMID*; 2014 May 10-13; Barcelona, Spain; O155.
39. Shorr A. F., Kollef M., Eckburg P. B., Llorens L., Friedland H. D. Assessment of ceftaroline fosamil in the treatment of community-acquired bacterial pneumonia due to *Streptococcus pneumoniae*: insights from two randomized trials. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 2013:75; 298-303.
40. Jadad A. R., Moore R. A., Carroll D., Jenkinson C., Reynolds D. J., Gavaghan D. J., et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17:1-12.
41. Ostermann H., Garau J., Medina J., Pascual E., McBride K., Blasi F., REACH study group. Resource use by patients hospitalized with community-acquired pneumonia in Europe: analysis of the REACH study. *BMC Pulm Med* 2014; 14:36.
42. Blasi F., Ostermann H., Racketa J., Medina J., McBride K., Garau J., et al. Early versus later response to treatment in patients with community-acquired pneumonia: analysis of the REACH study. *Respir Res* 2014; 15:6.
43. Oster G., Berger A., Edelsberg J., Weber D. J. Initial treatment failure in non-ICU community-acquired pneumonia: risk factors and association with length of stay, total hospital charges, and mortality. *J Med Econ* 2013; 16(6):809-19.
44. Расходы на выплату пособий и социальную помощь. Федеральная служба государственной статистики РФ. Available from: www.gks.ru/bgd/regl/b13_13/IssWWW.exe/Stg/d1/06-16.htm
45. Число дней временной нетрудоспособности. Единая межведомственная информационно-статистическая система. Available from: www.fedstat.ru/indicator/data.do?id=41691&referrerType=0&referrerId=946901
46. Федеральная служба государственной статистики РФ. Available from: www.gks.ru
47. Пенсионный фонд РФ. Available from: www.pfrf.ru/labor_old_age_pension
48. Бюллетень «Численность населения РФ по полу и возрасту на 1 января 2012 г», Федеральная служба государственной статистики РФ. Available from: www.gks.ru/bgd/regl/B12_111/Main.htm
49. Сборник «Труд и занятость в России, 2013 г». Федеральная служба государственной статистики РФ. Available from: www.gks.ru/bgd/regl/b13_36/Main.htm
50. Gutiérrez F., Masiá M., Mirete C., Soldán B., Rodríguez J. C., Padilla S., et al. The influence of age and gender on the population-based incidence of community-

- acquired pneumonia caused by different microbial pathogens. *J Infect* 2006; 53(3):166-74.
51. Чучалин А. Г., Синопальников А. И., Козлов Р. С., Авдеев С. Н., Тюрин И. Е., Руднов В. А. и соавт. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых. М.: ООО «Издательский дом «М-Вести»; 2014.
 52. Tleyjeh I. M., Tlaygeh H. M., Hejal R., Montori V. M., Baddour L. M. The impact of penicillin resistance on short-term mortality in hospitalized adults with pneumococcal pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006; 42(6):788-97.
 53. Guervil D., Kaye K., Hassoun A., Cole P., Huang X., Friedland H. D. Ceftaroline fosamil for treatment of community-acquired pneumonia as first versus second-line therapy: capture study experience. Proceedings of 24th ECCMID; 2014 May 10-13; Barcelona, Spain; eP426.
 54. Maggiore C., Vazquez J., Guervil D., Kaye K., Cannon C., Jandourek A., et al. Ceftaroline fosamil for treatment of community-acquired pneumonia in the intensive care unit: capture study experience. Proceedings of 24th ECCMID; 2014 May 10-13; Barcelona, Spain; eP427.
 55. Drummond M. F., Becker D. L., Hux M., Chancellor J. V., Duprat-Lomon I., Kubin R., et al. An economic evaluation of sequential i.v./p.o. moxifloxacin therapy compared to i.v./p.o. co-amoxiclav with or without clarithromycin in the treatment of community-acquired pneumonia. *Chest* 2003;124(2):526-35.
 56. Grau S., Rubio-Terrés C. Pharmacoeconomics of linezolid. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9(6):987-1000.
 57. Shorr A. F., Susla G. M., Kollef M. H. Linezolid for treatment of ventilator-associated pneumonia: a cost-effective alternative to vancomycin. *Crit Care Med* 2004; 32(1):137-43.
 58. Schürmann D., Sorensen S. V., De Cock E., Duttagupta S., Resch A. Cost-effectiveness of linezolid versus vancomycin for hospitalised patients with complicated skin and soft-tissue infections in Germany. *Eur J Health Econ* 2009; 10(1):65-79.
 59. Mullins C. D., Hsu V. D., Shorr A., Cooke C. E., Shalbaya A., Perencevich E. N. Linezolid versus vancomycin health and economic outcomes: a retrospective database study of 11,018 infection-related hospitalisation treatment episodes. Proceedings of 19th ECCMID; 2009 May 16-19; Helsinki, Finland; P-778.
 60. Huang X. Y., Lodise T., Friedland D., Beresford E. J. The economic impact of adding ceftaroline fosamil to hospital formulary for community acquired bacterial pneumonia: a hospital budget impact analysis in the United States. *Value in Health* 2012; 15:a238.

Применение ПЦР для диагностики легионеллезной инфекции у гематологических больных

С. Б. Яцышина¹, Т. И. Карпова², О. В. Мариненко²,
Ю. Е. Дронина², Г. М. Галстян³, И. С. Тартаковский²

¹ЦНИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

²ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

³ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия

Цель. Оценить эффективность применения ПЦР для диагностики легионеллезной пневмонии в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) у гематологических больных с острой дыхательной недостаточностью.

Материал и методы. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовали 79 образцов ЖБАЛ, полученных у гематологических больных с пневмониями и острой дыхательной недостаточностью, которые находились на лечении в 2011–2014 гг. Все образцы ЖБАЛ были исследованы на легионеллез бактериологическим методом сразу же после получения и хранились при -70°C . ДНК *Legionella pneumophila* обнаруживали методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с использованием набора реагентов производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Результаты. Из 79 исследованных образцов ЖБАЛ в 7 случаях ранее диагноз был подтвержден выделением культуры легионелл. В 3 случаях была выделена культура *L. pneumophila* серогруппы 1 (ST 42,36,1489) и в 4 — *L. pneumophila* серогруппы 3 (все изоляты принадлежали к ST 87). Результаты ПЦР-исследования данных образцов совпали с результатами бактериологического метода.

Выводы. ПЦР может быть использована для диагностики легионеллеза в ЖБАЛ. Метод отличается высокой чувствительностью. По сравнению с бактериологическим методом ПЦР дает возможность на 3–4 суток ускорить диагностику легионеллезной пневмонии.

Ключевые слова: *Legionella*, ПЦР, гематологические больные, пневмония.

Use of PCR for Diagnosis of *Legionella* Infection in Hematological Patients

S. B. Yatzyshina¹, T. I. Karpova², O. V. Marinenko², Yu. E. Dronina², G. M. Galstyan³, I. S. Tartakovskiy²

¹ Central Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

² Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

³ Hematological Scientific Center, Moscow, Russia

Objective. To assess efficacy of PCR for detection of *Legionella* in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid obtained from hematological patients with pneumonia and acute respiratory failure.

Material and Methods. A total of 79 BAL samples collected from the hospitalized hematological patients with pneumonia and acute respiratory failure (during the 2011–2014) were analyzed using PCR. All BAL samples have been tested for legionellosis by culture immediately after collection, and then stored at -70°C . *Legionella pneumophila* DNA was detected using real-time PCR.

Results. Of 79 BAL samples tested, legionellosis have previously been confirmed by culture in 7 cases:

Контактный адрес:

Игорь Семенович Тартаковский

Эл. почта: itartak@list.ru

3 patients had *L. pneumophila* serogroup 1 (ST42, 36, 1489) and 4 patients had serogroup 3 (ST87). Results of PCR assay on these samples coincided with the results of culture method.

Conclusions. PCR may be used for detection of *Legionella* in BAL fluid and has a high sensitivity.

Введение

Наиболее распространенным методом диагностики легионеллезной инфекции является тест на обнаружение в моче растворимого антигена *Legionella pneumophila* серогруппы 1, поскольку 90% случаев легионеллезов приходится на возбудитель, относящийся к этой серогруппе [1, 2]. Этот тест прост в постановке, выполняется быстро, обладает высокой чувствительностью. Исследование проводится *иммуноферментным методом* (ИФА) или методом *иммунохроматографии* (ИХА), последний рекомендован для скрининга и требует подтверждения. В странах Европы 79% диагностических исследований на легионеллез проводятся именно этими методами [3]. Однако у иммунокомпromетированных больных серьёзную опасность могут представлять также *L. pneumophila* других серогрупп [4]. Помимо этого, исследование недоступно у больных с олигоанурией.

В подобных случаях наиболее приемлемым решением может служить использование *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). Для диагностики легионеллезной инфекции в Европе ПЦР не является ведущим тестом, однако его доля за последние 5 лет увеличилась с 2 до 6%, при этом в некоторых странах, таких как Дания и Швеция, метод ПЦР используется более чем в 25% диагностических исследований на легионеллез [3].

С середины 1990-х годов для диагностики легионеллеза активно разрабатываются и используются различные модификации ПЦР. Среди геномишей чаще всего используют гены рибосомальной РНК; ген, кодирующий белок теплового шока (*dnaJ*); ген РНК-полимеразы (*rpoB*); ген, определяющий способность к инфекции макрофагов (*tip*) [5–7]. В последние годы для диагностики легионеллеза используются видоспецифическая для *L. pneumophila* тест-система на основе гена *tip* и родоспецифическая — на основе 16S рибосомальной РНК. Несмотря на большой практический опыт использования ПЦР, разработку количественных модификаций ПЦР в реальном времени, до настоящего времени ПЦР диагностика не включена в качестве основного метода в стандарты диагностики легионеллеза. Вместе с тем в ряде известных референс-лабораторий, специализирующихся

Compared to culture, PCR allows to get results earlier by 3–4 days and thus, to make diagnosis of *Legionella pneumoniae* faster.

Key words: *Legionella*, PCR, hematological patients, pneumonia.

на диагностике легионеллеза (Дрезден, Германия; Копенгаген, Дания), метод ПЦР применяют с высокой степенью эффективности на протяжении многих лет в комплексе с другими хорошо стандартизованными методами диагностики легионеллеза [6, 8].

В Российской Федерации за последние годы накоплен положительный опыт лабораторной диагностики легионеллезной инфекции с использованием бактериологического и иммунохроматографического методов [9–12]. Наиболее показательны результаты анализа частоты выявления и особенностей течения легионеллезной инфекции у гематологических больных. Диагноз легионеллезной пневмонии был подтвержден у более чем 10% пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии Гематологического научного центра, поступивших в связи с развитием острой дыхательной недостаточности [4, 13]. Вместе с тем наряду с надежностью и эффективностью применявшегося алгоритма лабораторной диагностики легионеллеза стали очевидны и его недостатки для иммунокомпromетированных больных. Экспресс-диагностика легионеллеза, основанная на определении легионеллезного антигена в моче иммуноферментным или иммунохроматографическим методом, была невозможна у пациентов с острой или хронической почечной недостаточностью, которым проводился гемодиализ. Выделение культуры *L. pneumophila* из *жидкости бронхоальвеолярного лаважа* (ЖБАЛ) бактериологическим методом занимало не менее 4–5 суток, вследствие этого нередко диагноз легионеллеза устанавливался слишком поздно и этиотропную терапию не успевали назначить.

В связи с изложенными обстоятельствами вопрос применения ПЦР для быстрой диагностики легионеллезной инфекции у данной категории больных представляется весьма актуальным.

Цель настоящей работы — оценить эффективность применения ПЦР для диагностики легионеллезной пневмонии в ЖБАЛ у гематологических больных с острой дыхательной недостаточностью.

Материал и методы

В работе использовали 79 образцов ЖБАЛ, полученных у гематологических больных с пнев-

Результаты выявления ДНК *L. pneumophila* в жидкости БАЛ у гематологических больных с острой дыхательной недостаточностью

Возраст пациента, лет	Пол	Гематологический диагноз	Характеристика выделенной культуры <i>L. pneumophila</i>	Результаты ПЦР	
				<i>L. pneumophila</i> , значение порогового цикла	ДНК человека, значение порогового цикла
83	м	Неходжкинская лимфома	Серогруппа 3, ST87	27,62	26,93
64	м	Множественная миелома	Серогруппа 3, ST87	27,08	27,43
58	м	Лекарственный агранулоцитоз	Серогруппа 1, St42	12,80	15,15
83	м	Неходжкинская лимфома	Серогруппа 1, ST36	17,41	18,1
32	м	Острый лимфобластный лейкоз	Серогруппа 3, ST87	13,50	20,08
55	м	Множественная миелома	Серогруппа 1, ST1489	10,68	20,05
34	м	Иммунная тромбоцитопения	Серогруппа 3, ST87	12,2	13,36

мониями и острой дыхательной недостаточностью, которые находились на лечении в 2011–2014 гг. Бронхоскопию для получения ЖБАЛ проводили в соответствии с методикой, описанной ранее [14]. Объем полученной ЖБАЛ варьировал от 100 до 80 мл. Все образцы ЖБАЛ были исследованы на легионеллез бактериологическим методом в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи с целью выделения культуры легионелл согласно стандартному протоколу [4]. Оставшиеся аликвоты образцов ЖБАЛ хранились при -70°C до выполнения ПЦР.

ПЦР проводили в референс-центре по мониторингу за возбудителями инфекций верхних и нижних дыхательных путей ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора с использованием набора реагентов [15] производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора на приборе RotorGene 6000 («Corbett Research», Австралия). Мишенью для обнаружения ДНК *L. pneumophila* в данном тесте является ген *tip*, кодирующий протеин, являющийся фактором вирулентности, необходимым для внутриклеточной инвазии в макрофаги, присутствующий в геноме *L. pneumophila* всех серогрупп. Метод выявления ДНК *L. pneumophila* в клиническом материале основан на одновременной амплификации участка ДНК гена *tip* *L. pneumophila* и участка генома человека (эндогенный внутренний контроль). Результат амплификации ДНК *L. pneumophila* регистрируется при измерении флуоресценции красителя JOE, результат амплификации ДНК внутреннего контроля регистрируется при измерении флуоресценции красителя FAM.

Эндогенный внутренний контроль позволяет не только контролировать этапы ПЦР-анализа (экстракцию ДНК и проведение ПЦР), но и оценивать адекватность забора материала, что необходимо, так как искомым возбудитель является внутриклеточным патогеном.

Образцы ЖБАЛ в количестве 1 мл центрифугировали на настольной центрифуге в пробирках вместимостью 1,5 мл при 10 тыс. об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость отбирали, и осадок ресуспендировали в 100 мкл оставшейся жидкости. Полученную суспензию (50 мкл) использовали для экстракции ДНК без добавления экзогенного внутреннего контрольного образца.

Результаты исследования

Результаты исследований положительных в ПЦР образцов представлены в таблице. ДНК *L. pneumophila* была обнаружена в 7 (8,9%) из 79 исследованных образцов ЖБАЛ. Из этих же образцов ранее была выделена культура легионелл: в 3 случаях — культура *L. pneumophila* серогруппы 1 (ST 42,36,1489) и в 4 случаях — *L. pneumophila* серогруппы 3 (все изоляты принадлежали к ST 87). При отрицательных результатах бактериологического исследования ЖБАЛ ДНК *L. pneumophila* была обнаружена в одном образце. Длительное хранение образцов БАЛ при -70°C (от 8 мес. до 3 лет) не оказало влияния на выявление в них ДНК *L. pneumophila* в бактериологически подтвержденных случаях заболевания.

Следует отметить, что при получении ЖБАЛ по стандартной методике клинический материал

сильно разводится вследствие введения большого объема 0,9% раствора натрия хлорида (160 мл) в бронхиальное дерево. При этом в ряде образцов ЖБАЛ количество клеток человека (геномной ДНК человека, определяемой в тесте) может быть ниже рекомендованного инструкцией к набору реагентов, что будет выражаться в отсутствии либо в позднем появлении (значение порогового цикла более 28) сигнала амплификации эндогенного внутреннего контроля и потребует повторной экстракции ДНК с целью предотвращения ложноотрицательных результатов исследования. В таких случаях на этапе предварительной подготовки материала к ПЦР-исследованию необходимо повторно центрифугировать ЖБАЛ для концентрирования клеток человека таким образом, чтобы экстракция ДНК проводилась из осадка 5–10 мл образца ЖБАЛ.

Обсуждение результатов

В последние годы количественные модификации ПЦР широко и эффективно применяются в Российской Федерации для профилактического мониторинга легионелл в потенциально опасных водных системах [16, 17]. Для диагностики легионеллеза у пациентов применение ПЦР в нашей стране ограничено несколькими скрининговыми исследованиями по анализу этиологической структуры пневмоний [18, 19]. Анализ достоверности полученных результатов ПЦР в данных исследованиях затруднен отсутствием стандартных тестов для окончательного подтверждения диагноза легионеллезной инфекции (выделение культуры, определение антигена легионелл в моче, нарастание титров антител в реакции иммунофлуоресценции), за исключением расследования эпидемической вспышки легионеллеза в Верхней Пышме, когда одновременно диагноз был подтвержден иммунохроматографическим методом и ПЦР, причем для ПЦР в данном исследовании был доступен лишь секционный материал [20].

Очень важным аспектом эффективного применения ПЦР для диагностики легионеллеза является и фактор адекватности биологического материала, используемого для исследования. Наиболее надежно исследование ЖБАЛ или материала биопсии. Анализ самостоятельно откашливаемой пациентом мокроты или крови пациентов, используемый для ПЦР-диагностики пневмоний другой этиологии, не является адекватным методическим подходом для диагностики легионеллеза, поскольку возбудитель, являясь внутриклеточным патогеном, локализован в резидентных макрофагах легких; кроме того, продуктивный кашель наблюдается только у половины больных легионеллезной инфек-

цией [21]. В ряде случаев альтернативой может быть получение мокроты после ингаляции гипертонического раствора хлорида натрия, поскольку такая процедура индуцирует образование и отхождение мокроты у пациента [22]. Использование индуцированной мокроты позволяет повысить на 36% выявляемость легионелл методом ПЦР по сравнению с исследованием обычной мокроты [23].

В данном исследовании впервые в России удалось оценить эффективность ПЦР-диагностики для группы гематологических больных с бактериологически доказанным диагнозом легионеллезной инфекции.

Полученные результаты подтверждают важное значение ПЦР-диагностики легионеллеза у иммунокомпрометированных пациентов с острой дыхательной недостаточностью. Выигрыш во времени 3–4 суток, по сравнению с бактериологическим анализом ЖБАЛ, может быть определяющим для успешной антибиотикотерапии и исхода болезни. В то же время в 1 из 79 образцов получен результат, который можно трактовать как ложноположительный, что указывает на необходимость бактериологического подтверждения ПЦР-диагностики легионеллеза.

Необходимо отметить, что в этиологии внебольничных легионеллезных пневмоний основная роль принадлежит *L. pneumophila* серогруппы 1. В этом случае методом выбора является иммунохроматографический метод определения антигена легионелл в моче и по срокам исследования (30 мин), и по доступности биологического материала. Но при легочных осложнениях у иммунокомпрометированных больных высока вероятность этиологической роли штаммов других серогрупп *L. pneumophila*, антиген которых не выявляется столь надежно иммунохроматографическим методом в моче больных. В наших исследованиях у 4 больных инфекция была обусловлена штаммом *L. pneumophila* серогруппы 3 [4]. Поэтому альтернативы ускоренной диагностике легионеллеза с использованием ПЦР жидкости БАЛ для данной категории больных нет. Для иммунокомпрометированных больных этиологическое значение оппортунистических видов легионелл (*L. longbeachae*, *L. dumofii*, *L. bozemanii*, *L. micdadei*) и серотипов легионелл, отличных от серогруппы 1, достаточно велико. Поэтому в дальнейшем представляется перспективной разработка и применение триплексной модификации ПЦР для диагностики легионеллеза, позволяющей не только быстро подтвердить диагноз легионеллезной инфекции, но одновременно установить серотипическую и видовую принадлежность *Legionella* spp. [3, 24].

Литература

1. European guidelines for control and prevention of travel-associated legionellosis. London, 2002.
2. П 3.1.2.2626-10. Профилактика легионеллеза. Москва, 2010.
3. С. Legionnaires' disease in Europe, 2012. Stockholm: ECDC; 2014.; www.ecdc.europa.eu.
4. Тартаковский И. С., Адгамов Р. Р., Ермолаева С. А. и соавт. Методические особенности диагностики легионеллезной пневмонии в лечебно-профилактических учреждениях. Часть 2. Клинико-микробиол антимикроб химиотер 2013; 15(3):166-17.
5. Lisby G., Dessau R. Construction of a DNA amplification assay for detection of *Legionella* species in clinical samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13:225-31.
6. Uldum S., Molbak K. PCR as a routine method for diagnosis of Legionnaires' Disease. In: "Legionella" ASM Press Washington, ed. Marre R. et al. 2002:213-5.
7. Haiden R., Uhl J., Qian X., et al. Direct detection of *Legionella* species from bronchoalveolar Lavage and open lung biopsy specimens: comparison of light cycler PCR, in situ hybridization, direct fluorescence antigen detection and culture. J Clin Microbiol 2001; 39 (7):2618-26.
8. Lueck P. C., Eiker C., Reischl U., et al. Culture independent identification of the source of an infection by direct amplification and sequencing of *L. pneumophila* DNA from a clinical specimen. J Clin Microbiol 2007; 45(9):3143-4.
9. Тартаковский И. С., Гинцбург А. Л., Михайлова Д. О. и соавт. Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области. Клинико-микробиол антимикроб химиотер 2007; 9(4):361-8.
10. Кадышев В. А., Чернобровкина Т. Я., Томилин Ю. Н. и соавт. Случай легионеллеза из практики. Материалы российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии» Томск 2009:84-6.
11. Соколова Л. В., Литвинова О. С., Кадышев В. А., Козлова В. С.. Случай легионеллеза из практики. Тезисы докладов IX научно-практической конференции «Инфекционные болезни и антимикробные средства» Москва, октябрь 2011:79-80.
12. Бобылева З. Д., Лещенко И. В. Клинико-лабораторная характеристика легионеллезной пневмонии (по материалам эпидемической вспышки легионеллеза в Свердловской области). Клинико-микробиол антимикроб химиотер 2010; 12(2):117-26.
13. Галстян Г. М., Костина И. Э., Катрыш С. А. и соавт. Клинические проявления легионеллезной пневмонии у гематологических больных. Тер архив 2014; 86(3):45-52.
14. Соколов А. Н., Галстян Г. М., Савченко В. Г. Респираторные проявления внегочечных заболеваний. Гематологические заболевания. В кн: Респираторная медицина. Под ред А. Г. Чучалина. М. 2007 г., ГЭОТАР-Медиа, Т. 2:605-19.
15. Яцышина С. Б., Портенко С. А., Астахова Т. С. и соавт. Разработка и применение ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией для обнаружения *Legionella pneumophila* ЖМЭИ 2008; (2):29-37.
16. Садретдинова О. В., Груздева О. А., Карпова Т. И. и соавт. Контаминация *Legionella pneumophila* систем горячего водоснабжения зданий общественного назначения, в том числе лечебно-профилактических учреждений. Клинико-микробиол антимикроб химиотер 2011; 2:163-7.
17. Тартаковский И. С., Груздева О. А., Галстян Г. М., Карпова Т. И. Профилактика, диагностика и лечение легионеллеза. Москва, Студия МДВ, 2013.
18. Рачина С. А., Козлов Р. С., Шаль Е. П. и соавт. Структура бактериальных возбудителей внебольничной пневмонии в многопрофильных стационарах Смоленска. Пульмонология 2011; (1):5-18.
19. Шкарин В. В., Чубукова О. А., Ковалишена О. В., Благодирова А. С. Оценка эпидемиологической ситуации по легионеллезу в Нижегородской области. Мед альманах 2012; (3):55-60.
20. Яцышина С. Б., Астахова Т. С., Романенко В. В. и соавт. Применение молекулярно-генетических методов при исследовании вспышки болезни легионеров в г. Верхняя Пышма. Журн микробиол 2008; (2):23-8.
21. Murdoch D. R. Diagnosis of *Legionella* infection. Clin Infect Dis 2003; 36:64-9.
22. К 4.2.3115-13. Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний. Москва, 2014.
23. Maze M. J., Slow S., Cumins A. M., et al. Enhanced detection of Legionnaires' disease by PCR testing of induced sputum and throat swabs. Eur Respir J 2014; 43(2):644-66.
24. Kerdsin A., Uchida R., Verathamjamrus C., et al. Development of Triplex SYBR Green Real-Time PCR for detecting *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamidophila pneumoniae* and *Legionella* spp. without extraction of DNA. Jpn J Infect Dis 2010; 63:173-80.

Чувствительность нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *P. mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина

Е. В. Детушева¹, В. Б. Родин¹, П. В. Слукин¹, О. Н. Ершова², И. А. Александрова²,
Н. В. Курдюмова², С. Ю. Сазыкина², И. А. Дятлов¹, Н. К. Фурсова¹

¹ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

²ФГБУ «НИИ нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко» РАМН, Москва, Россия

Изучено действие антисептика «Дезин», препарата на основе хлоргексидина (ХГ), на изоляты возбудителей госпитальных инфекций дыхательной системы (ДС): мочевого выделительной системы (МС) *Klebsiella pneumoniae* ($n=8$), *Pseudomonas aeruginosa* ($n=3$), *Acinetobacter baumannii* ($n=4$) и *Proteus mirabilis* ($n=3$), выделенных в отделении нейрореанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) г. Москвы в 2013 г., а также на референс-штаммы *K. pneumoniae* ($n=1$), *P. aeruginosa* ($n=1$), *Escherichia coli* ($n=1$) и *Staphylococcus aureus* ($n=1$). Антибактериальную активность антисептика оценивали по степени ингибирования размножения культур бактерий, находящихся в планктонной форме (микрокапля) и в форме, приближенной к протобиопленке (на целлюлозном аппликаторе). По степени чувствительности планктонных клеток к ХГ, выраженной в среднем значении минимальной бактерицидной концентрации (МБК_{ХГ}), исследуемые культуры распределились в следующем порядке в сторону

увеличения: *P. mirabilis* (0,025%), *P. aeruginosa* (0,009%), *K. pneumoniae* (0,006%), *A. baumannii* (0,006%), *E. coli* (0,005%) и *S. aureus* (0,005%). Чувствительность к ХГ ассоциаций клеток данных штаммов на аппликаторах оказалась значительно меньше: в 23 раза для *P. aeruginosa* (МБК_{ХГ} — 0,2%), в 28 раз для *A. baumannii* (МБК_{ХГ} — 0,16%), в 48 раз для *K. pneumoniae* (МБК_{ХГ} — 0,3%), в 50 раз для *P. mirabilis* (МБК_{ХГ} — 1,3%), в 128 раз для *E. coli* (МБК_{ХГ} — 0,6%) и в 255 раз для *S. aureus* (МБК_{ХГ} — 1,3%). На основе полученных данных для защиты кожи и слизистых пациентов нейрохирургического ОРИТ, в целях профилактики госпитальных инфекций ДС и МС, может быть рекомендовано использование 1,5% раствора хлоргексидина.

Ключевые слова: хлоргексидин, антисептик, нозокомиальные штаммы, устойчивость; инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), планктонные бактерии, биопленки.

Susceptibility of Nosocomial *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *P. mirabilis* Strains to a Chlorhexidine-Based Antiseptic Preparation

E. V. Detusheva¹, V. B. Rodin¹, P. V. Slukin¹, O. N. Ershova², I. A. Aleksandrova²,
N. V. Kurdyumova², S. Yu. Sazykina², I. A. Dyatlov¹, N. K. Fursova¹

¹ State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

² Research Institute of Neurosurgery named after N.N. Burdenko, Moscow, Russia

This study was performed to investigate activity of chlorhexidine-based antiseptic preparation «Dezin» against the following pathogens causing nosocomial respiratory tract infections (RTI) and urinary tract infections (UTI): *Klebsiella pneumoniae* ($n=8$), *Pseudomonas aeruginosa* ($n=3$), *Acinetobacter baumannii* ($n=4$) and *Proteus mirabilis* ($n=3$) isolated from patients in neurosurgery ICU in 2013, as well as reference strains of *K. pneumoniae* ($n=1$), *P. aeruginosa* ($n=1$), *Escherichia coli* ($n=1$), and *Staphylococcus aureus* ($n=1$). Antimicrobial activity of the antiseptic preparation was evaluated by microbial growth inhibition in planktonic state (microdrop) and protobiofilm-like state (cellulose patch). Distribution of tested strains by susceptibility of planktonic cells to chlorhexidine (expressed in minimal bactericidal concentration [MBC]) was the following (in order of increasing suscep-

tibility): *P. mirabilis* (0.025%), *P. aeruginosa* (0.009%), *K. pneumoniae* (0.006%), *A. baumannii* (0.006%), *E. coli* (0.005%) и *S. aureus* (0.005%). Susceptibility of biofilm-like associations (on the surface of cellulose patches) to chlorhexidine was significantly decreased: 23 times in *P. aeruginosa* (MBC – 0.2%), 28 times in *A. baumannii* (MBC – 0.16%), 48 times in *K. pneumoniae* (MBC – 0.3%), 50 times in *P. mirabilis* (MBC – 1.3%), 128 times in *E. coli* (MBC – 0.6%), and 255 times in *S. aureus* (MBC – 1.3%). Based on the results, 1.5% chlorhexidine solution may be recommended as a measure to prevent nosocomial RTIs and UTIs in neurosurgery ICU patients.

Key words: chlorhexidine, nosocomial, resistance, healthcare-associated infections, planktonic bacteria, biofilm.

Введение

Качество оказания медицинской помощи на современном этапе развития здравоохранения постоянно возрастает, увеличивается спектр диагностических и лечебно-профилактических манипуляций, внедряются новые технологии сохранения здоровья людей, но, несмотря на это, риски, связанные с возникновением нозокомиальных инфекций в организациях здравоохранения, увеличиваются. По данным ВОЗ, во всем мире в любой отдельно взятый момент свыше 1,4 млн человек страдают от инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). При этом от 5 до 10% пациентов, поступающих в стационары, получают одну или большее число инфекций [1]. ИСМП представляют серьезную проблему общественного здравоохранения в силу своей распространенности, отрицательного влияния на показатели заболеваемости, смертности и степени тяжести состояния пациентов, а также опасности для медицинских работников и значительного экономического ущерба. Такие инфекции являются мировой проблемой, затрагивая все страны вне зависимости от степени их развития [2].

Краеугольным камнем сдерживания распространения ИСМП является использование дезинфицирующих и антисептических средств для деkontaminации объектов окружающей среды (помещений,

инструментария) в близком окружении пациента, а также для защиты кожных покровов и слизистых оболочек больных, уход за которыми осуществляют медицинские работники. Успех профилактики в значительной степени зависит от оптимального выбора антисептика [3]. В настоящее время в клинической практике, как правило, не проводится предварительных испытаний, связанных с определением чувствительности возбудителей ИСМП к применяемым антисептикам, а выбор препарата проводится на основании данных о природной (естественной) чувствительности выделенного или предполагаемого возбудителя, без учёта его возможной приобретённой устойчивости [4]. Ранее подобная тактика практического здравоохранения была оправданной, поскольку частота встречаемости устойчивых к антисептикам вариантов микроорганизмов была низкой. В 1980–1990 гг. положение изменилось: в научной литературе появились многочисленные публикации о выделении устойчивых к антисептикам вариантов бактерий от больных с различными нозологическими формами гнойно-септических заболеваний, а также из объектов больницы среды, в том числе — из рабочих растворов антисептиков [5–7], о снижении в ряде случаев эффективности антисептиков, вплоть до полного ее отсутствия [8, 9]. Кроме того, показано, что неу-

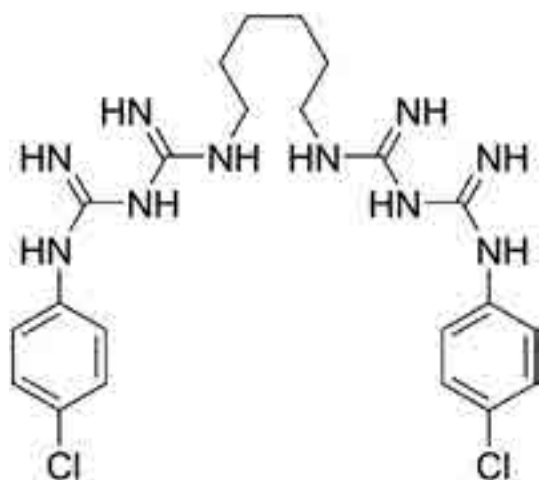


Рис. 1. Структурная формула хлоргексидина (<http://dxdy.ru/topic25394-15.html>).

дачи при использовании антисептиков для гигиены кожи и слизистых оболочек пациентов ОРИТ могут быть связаны с неадекватным тестированием активности препаратов: оценку антимикробного действия антисептиков традиционно проводят на бульонных культурах возбудителей, в то время как на практике патогены чаще всего находятся в составе биопленок — на поверхностях различных инвазивных устройств, обеспечивающих протезирование различных функций организма у критически больных пациентов — катетеров, дренажей и т. д. [10–13].

Одним из широко используемых в ОРИТ антисептиков является *хлоргексидин* (ХГ). С точки зрения химической структуры ХГ представляет собой амфипатическую молекулу с гидрофильными и гидрофобными группами, находящуюся в состоянии катиона при физиологических значениях pH. Молекула ХГ состоит из двух симметричных хлорфеноловых колец (4-хлорофенил) и двух бигуанидовых групп, объединённых в центре гидрофобной гексаметиленовой цепочкой, являясь симметричной молекулой — 1,6-ди-4-хлорофенил-дигуанидогексаном (рис. 1) [14, 15]. Как правило, ХГ используется в виде солей, главным образом — диацетата, биглюконата или дигидрохлорида [16]. Механизм антимикробного действия ХГ заключается в повышении проницаемости клеточной мембраны [17]. Он быстро адсорбируется на микробной стенке [18] благодаря наличию двух основных и симметричных групп хлорфенилгуанида, прикреплённых к липофильной цепочке гексаметилена, которые образуют бикатионную молекулу [19]. При этом происходит утечка из клетки ионов калия, фосфат-ионов и протонов; тормозятся дыхательные процессы,

изменяется осмотическая активность клеточных ферментов [20]. ХГ в низких концентрациях является бактериостатическим агентом, при удалении его из окружающей среды функции клетки восстанавливаются [17, 21]. При более высоких концентрациях ХГ является бактерицидным веществом: вызывает кристаллизацию клеточной мембраны, потерю её структурной целостности, катастрофическую потерю внутриклеточного вещества и гибель клетки [22].

Хлоргексидин является препаратом достаточно широкого спектра действия: при разных концентрациях активен против грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, а также имеет некоторую активность в отношении липидных оболочек вирусов, таких как *вирус иммунодефицита человека* (ВИЧ), вирусы герпеса серотипов 1 и 2, вирус гриппа серотипа А [23, 24], но не действует на кислотоустойчивые бактерии [18, 25]. Одним из преимуществ ХГ является возможность его пролонгированного действия благодаря способности связываться с различными биологическими субстратами, а затем медленно высвобождаться в окружающую среду при сохранении антибактериальной активности. Достаточно эффективно ХГ используется в стоматологии: 0,1–0,2% раствор для обработки полости рта, 2% раствор или гель — для обработки зубных каналов перед пломбированием, несмотря на то, что 2% раствор этого препарата может вызывать раздражение кожи [26]. В то же время, использование 0,1% раствора хлоргексидина для обработки полости рта в целях профилактики нозокомиальной пневмонии у пациентов неврологических (сосудистых) отделений стационаров г. Смоленска, не выявило статистически достоверных отличий от групп сравнения в длительности госпитализации, частоте развития нозокомиальной пневмонии и уровне летальности [27]. Аналогично этому использование 0,5% раствора хлоргексидина для профилактики бактериальной колонизации трахеи у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, не позволило выявить существенных различий с группой сравнения, в которой антисептик не применялся [28].

Использование биоцидов в медицинской практике, товарах личной гигиены и потребительских товарах может оказывать влияние на формирование устойчивости микроорганизмов как к биоцидам, так и к антибиотикам, поскольку определяется общими механизмами: изменением проницаемости клеточной стенки [29], активацией эффлюксных насосов [30] и др. В ряде исследований такие факты описаны для хлоргексидина [31, 32]. Установлено, что биоцидные препараты, при их использовании

в заниженных концентрациях, индуцируют бактериальные механизмы резистентности, связанные с модификацией проницаемости клеточной стенки (порины) и с активацией эффлюксных насосов [8, 33]. Запуск названных механизмов является реакцией микроорганизмов на стрессовое воздействие биоцидных препаратов [34, 35]. Для ряда микроорганизмов (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*) показано, что использование ХГ в сублетальных для них концентрациях (0,182, 0,177, 0,2 и 0,2 мг/л соответственно) ингибирует рост планктонных клеток, но индуцирует рост биопленок данных видов бактерий [34, 36]. При этом показатель МПК биоцида для планктонных клеток был в четыре раза ниже, чем для биопленок. С другой стороны, в ряде исследований показано, что существенных различий в МПК дезинфектантов для клеток и биопленок, культивируемых при сублетальных концентрациях ХГ, нет, поэтому использование завышенных концентраций данного антисептика нецелесообразно [34].

Целью нашего исследования явилось сравнение эффективности действия монокомпонентного антисептика «Дезин» — коммерческого препарата, содержащего ХГ в концентрации 20%, на лабораторные и клинические штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Клинические изоляты бактерий были выделены от пациентов отделения нейрореанимации в 2013 г. и охарактеризованы как патогены с высоким уровнем устойчивости к большинству используемых в терапии антибактериальных препаратов разных функциональных групп: бета-лактамам (цефалоспорином, карбапенемам), аминогликозидам, хинолонам, сульфаниламидам. В данной работе проведено сравнение чувствительности бактерий к ХГ в условиях, моделирующих планктонное состояние клеток (бульонная культура) и состояние протобиопленки (агаровая культура).

Материал и методы

Штаммы микроорганизмов. В работе использованы штаммы *K. pneumoniae* ($n=8$), *P. aeruginosa* ($n=4$), *A. baumannii* ($n=4$) и *P. mirabilis* ($n=3$), выделенные от пациентов отделения нейрореанимации в 2013 г. [37, 38], а также референс-штаммы, рекомендованные ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора для оценки активности дезинфектантов и антисептиков [39, 40], полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск»: *K. pneumoniae* ATCC 700603, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 и *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Питательные среды. Для культивирования микроорганизмов использовали агар и бульон Мюллера–Хинтон (Himedia, Индия) и среду ГРМ (Оболенск, Россия).

Препарат антисептика. В качестве тестируемого антисептического препарата использовали антисептик «Дезин» (ООО «Дезиндустрия», Россия), представляющий собой 20% водный раствор хлоргексидина.

Антибактериальную активность антисептика определяли тремя методами.

Метод серийных разведений в бульоне (МУК 4.2.1890–04) [39]: пробирки, содержащие 4 мл питательного бульона и двукратные разведения в диапазоне 0,00005–0,250% ХГ, засеивали 0,02 мл бактериальной культуры в концентрации 10^7 КОЕ/мл, инкубировали при температуре 37 °С. Наличие бактериального роста учитывали визуально по наличию мутности в пробирке. За *минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) принимали минимальную концентрацию препарата, при которой рост отсутствовал через 24 ч инкубации, за *минимальную бактерицидную концентрацию* (МБК) — через 72 ч.

Метод серийных разведений на агаре (микрокаплями): на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения в диапазоне 0,0002–1,25% ХГ, наносили 10 мкл бактериальной суспензии в концентрации 10^7 – 10^8 КОЕ/мл. Результаты учитывали по наличию роста культуры в месте нанесения микрокапли через 24 ч (МПК) и через 72 ч (МБК) инкубирования при температуре 37 °С.

Метод аппликаторов: поверхность питательного агара, не содержащего ХГ, засеивали 0,1 мл суспензии исследуемой тест-культуры в концентрации 10^9 КОЕ/мл. Посевы культивировали при температуре 37 °С в течение 24 ч, после чего на поверхность бактериального газона накладывали при помощи стерильного пинцета стерильный целлюлозный аппликатор (7×7 мм) на 2–3 мин. Затем аппликатор с отпечатком культуры переносили стерильным пинцетом в другую чашку Петри и помещали на поверхность агара, содержащего серийные разведения (0,0002–1,25%) ХГ, в ориентации «вниз бактериальным отпечатком». Результаты учитывали по наличию роста тест-культуры на аппликаторе и вокруг него через 72 ч инкубирования при температуре 37 °С. За МБК принимали минимальную концентрацию антисептика, на которой отсутствовал рост культуры. МПК не определяли, поскольку через 24 ч культивирования на поверхности аппликатора наблюдался «инерциальный» рост тест-культуры.

Чувствительность штаммов бактерий к хлоргексидину, определенная методами серийных разведений в питательном бульоне (I), серийных разведений на агаре (II), и на аппликаторах (III)

Штамм	Год выделения	Источник выделения	Устойчивость к антибактериальным препаратам	Концентрация антисептика ХГ, %					
				I		II		III	
				МПК	МБК	МПК	МБК	МПК	МБК
<i>K. pneumoniae</i> B-1814	2013	Моча	AMC AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT THR TOB	0,0008	0,0031	0,0063	0,0063	0,05	0,1563
<i>K. pneumoniae</i> B-1802	2013	Моча	AMC	0,0008	0,0016	0,0008	0,0008	0,05	0,1563
<i>K. pneumoniae</i> B-1739	2013	Моча	AMC AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT THR TOB	0,0031	0,0031	0,0063	0,0063	0,05	0,1563
<i>K. pneumoniae</i> B-1759	2013	Моча	AMC AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT TET THR TOB	0,0016	0,0063	0,0063	0,0063	0,0063	0,625
<i>K. pneumoniae</i> B-1104	2013	Эндотрахеальный аспират	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT TET THR TOB	0,0002	0,0004	0,0063	0,0063	0,0125	0,1563
<i>K. pneumoniae</i> B-335	2013	Моча	AMC AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP NIT TET TGC THR	0,0004	0,0016	0,0063	0,0063	0,0125	0,3125
<i>K. pneumoniae</i> B-1224	2013	Мокрота	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT TET THR TOB	0,0002	0,0004	0,0098	0,0098	0,1563	0,625
<i>K. pneumoniae</i> B-38	2013	Моча	AMC AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP NIT TET THR	0,0004	0,0016	0,0063	0,0063	0,0125	0,1563
<i>A. baumannii</i> B-1745	2013	Эндотрахеальный аспират	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT TET TGC THR TOB	0,0002	0,0016	0,0063	0,0063	0,0063	0,1563
<i>A. baumannii</i> B-1691	2013	Бронхиальный лаваж	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT THR	0,0008	0,0016	0,0031	0,0031	0,0063	0,1563
<i>A. baumannii</i> B-120	2013	Эндотрахеальный аспират	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN NIT THR TOB	0,0004	0,0008	0,0031	0,0063	0,0063	0,1563
<i>A. baumannii</i> B-5	2013	Эндотрахеальный аспират	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CTA CTZ ERM FEP GEN NIT THR TOB	0,0002	0,0016	0,0031	0,0063	0,0063	0,1563
<i>P. mirabilis</i> B-1901	2013	Эндотрахеальный аспират	AMC CEF CIP CM CPS CTA ERM IMI NIT TET TGC	0,0063	0,0063	0,0125	0,0125	0,025	>1,25
<i>P. mirabilis</i> B-123	2013	Моча	AMC AMI CAZ CEF CEX CIP CM CTA CTZ ERM FEP GEN IMI NIT TET THR TOB	0,0063	0,0125	0,0125	0,0125	0,025	>1,25

<i>P. mirabilis</i> B-318	2013	Операционная рана	AMC AMI AMS CAZ CEF CEX CIP CM CPS CTA CTZ ERM FEP GEN IMI NIT TET TGC THR TOB	0,0125	0,025	0,05	0,05	0,0125	1,25
<i>P. aeruginosa</i> B-1560	2013	Эндотрахеальный аспират	CAZ CIP CTZ ERM FEP GEN IMI IZE MER NIT PEF PIP PIT TCA TCC TET TGC THR TOB	0,0016	0,0063	0,0063	0,0063	0,0063	0,1563
<i>P. aeruginosa</i> B-431	2013	Эндотрахеальный аспират	AMI CAZ CIP CTZ ERM FEP GEN IMI IZE MER NIT PEF PIP PIT TCA TCC TET TGC THR TOB	0,0008	0,0016	0,0008	0,0031	0,0063	0,3125
<i>P. aeruginosa</i> B-2249	2013	Ликвор	AMI CAZ CIP CTZ ERM FEP GEN IMI IZE MER NIT PEF PIP TCA TCC TET TGC THR TOB	0,0008	0,0016	0,0008	0,0063	0,0031	0,025
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1971	Кровь	ND	0,0004	0,0008	0,0195	0,0195	0,1563	0,3125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	1994	Моча	ND	0,0016	0,0031	0,0063	0,0063	0,0125	0,3125
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1946	Клинический изолят	ND	0,0002	0,0002	0,0049	0,0049	0,6250	0,625
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1945	Клинический изолят	ND	0,0002	0,0002	0,0049	0,0049	0,6250	1,25

Примечание: AMC – амоксициллин/клавулановая кислота; AMI – амикацин; AMS – амоксициллин/сульбактам; CAZ – цефтазидим; CEF – цефуроксим; CEX – цефокситин; CIP – ципрофлоксацин; CM – хлорамфеникол; CTX – цефотаксим; CPS – цефоперазон/сульбактам; CPZ – цефоперазон; CTA – цефтриаксон; CTZ – ко-тримоксазол; ERM – эртапенем; FEP – цефепим; GEN – гентамицин; IMI – имипенем; IZE – изепамицин; NIT – нитрофурантоин; PEF – пefлоксацин; PIT – пиперациллин/тазобактам; PIP – пиперациллин; TET – тетрациклин; TGC – тигециклин; THR – триметоприм; TOB – тобрамицин; ND – нет данных

Результаты и обсуждение

ИСМП связаны с особенностями лечебно-диагностического процесса. В каждой группе пациентов складываются свои уникальные характеристики эпидемического процесса ИСМП. Это относится к этиологии заболеваний, их преобладающим нозологическим формам, факторам повышенного риска инфицирования. Подавляющее большинство этих инфекций (до 80%) [41, 42] имеют эндогенное происхождение, т.е. микроорганизм-возбудитель, входящий в микробное сообщество кожи, слизистых и кишечника, в результате формирования искусственных входных ворот при медицинских вмешательствах может быть перемещен в другой локус и/или во внутренние стерильные среды организма, что приводит к развитию инфекционного процесса. Наиболее часто среди возбудителей ИСМП обнаруживают микроорганизмы, способные формировать резистентность к основным классам антимикробных препаратов. Соотношение их меняется в зависимости от многих факторов, в том

числе – сезонности, возможного проникновения в экосистему новых генетических линий патогенов, горизонтального переноса факторов резистентности и т.д. В связи с этим рутинная защита кожи и слизистых критически больных пациентов является важным гигиеническим стандартом в уходе за такими пациентами и существенно снижает число случаев ИСМП.

Применение антисептических препаратов для подавления избыточного бактериального роста на коже и слизистых пациентов в ОРИТ может оказаться недостаточно эффективным по ряду причин. Важно отметить, что при разработке рекомендаций для применения антисептиков лабораторную оценку их антимикробной активности традиционно проводят, используя бульонные культуры патогенов, в то время как в реальной клинической практике эти патогены чаще всего находятся в состоянии биопленок, которые, как известно, значительно более устойчивы ко многим воздействиям.

Анализ нозокомиальных изолятов, выделенных

в отделении нейрореанимации г. Москвы в 2013 г., показывает, что доля *K. pneumoniae* в этиологической структуре заболеваемости ДС и МС составляет около 17 и 45% соответственно; они проявляют устойчивость ко многим из применяемых для лечения пациентов *антимикробным препаратам* (АМП), в том числе к цефалоспоринам (100% изолятов), цефоперазону/сульбактаму (75%), карбапенемам (56%), тигециклину (14%), аминогликозидам (64%), сульфаниламидам (81%), фторхинолонам (89%), нитрофуранам (96%).

A. baumannii также является актуальным этиологическим агентом инфекций ДС и МС у пациентов отделения нейрореанимации (до 20 и до 5% от общего количества изолятов соответственно) и демонстрирует высокий уровень устойчивости к применяемым АМП: цефалоспоринам (100% изолятов), цефоперазону/сульбактаму (75%), карбапенемам (100%), тигециклину (3%), аминогликозидам (98%), сульфаниламидам (93%), фторхинолонам (100%) и нитрофуранам (100%).

P. aeruginosa как этиологический агент инфекций ДС и МС (до 10 и 11% от общего количества изолятов соответственно) характеризуется устойчивостью к цефалоспоринам (75% изолятов), защищенным цефалоспоринам (50%), карбапенемам (100%), аминогликозидам (75%), сульфаниламидам (100%) и фторхинолонам (75%).

Клинические изоляты *P. mirabilis*, выделенные от больных с инфекциями ДС и МС (до 4 и 17% от общего количества изолятов соответственно), также являются высокорезистентными к цефалоспоринам (90% изолятов), карбапенемам (100%), тигециклину (84%), аминогликозидам (62%), сульфаниламидам (71%), фторхинолонам (75%) и нитрофуранам (100%).

На первом этапе работы была проведена предварительная оценка диапазонов $MПК_{ХГ}$ и $МБК_{ХГ}$ для исследуемых культур методом серийных разведений в питательном бульоне. По степени чувствительности (в сторону увеличения) к препарату антисептика исследуемые культуры распределились в следующем порядке: *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli* и *S. aureus* (таблица).

На следующем этапе антибактериальную активность ХГ оценивали по степени подавления размножения тест-культур бактерий в планктонной форме (в микрокапле) и в форме, приближенной к протобиопленке (на аппликаторе). Проведенные эксперименты показали, что $МБК_{ХГ}$ для клинических изолятов *K. pneumoniae* в планктонной форме составила в среднем 0,006%, а на поверхности аппликатора — 0,3%. Соответствующие показатели

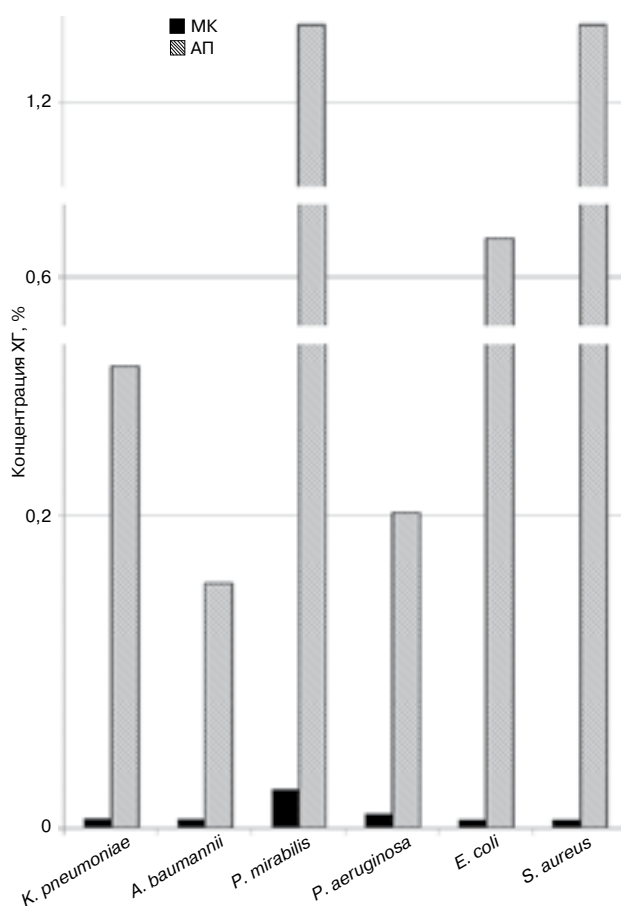


Рис. 2. МБК хлоргексидина для планктонных клеток в микрокапле (МК) и клеток в составе протобиопленки на аппликаторе (АП)

для изолятов *A. baumannii* составили 0,006 и 0,16%; для *P. aeruginosa* — 0,009 и 0,2%; для *P. mirabilis* — 0,03 и более 1,25%. Значения $МБК_{ХГ}$ для референс-штаммов составили: для *P. aeruginosa* ATCC 27853 — 0,02 и 0,3%, для *K. pneumoniae* ATCC 700603 — 0,006 и 0,3%, для *E. coli* ATCC 25922 — 0,005 и 0,6%, для *S. aureus* ATCC 25923 — 0,005 и 1,3% (см. таблицу). Средние значения $МБК_{ХГ}$ для ассоциаций клеток, иммобилизованных на аппликаторах, значительно выше, чем таковые для планктонных клеток *P. aeruginosa* (в 23 раза), *A. baumannii* (в 28 раз), *K. pneumoniae* (в 48 раз), *P. mirabilis* (в 50 раз), *E. coli* (в 128 раз) и *S. aureus* (в 255 раз) (рис. 2).

Стоит отметить, что при использовании метода аппликаторов при низких концентрациях ХГ в питательном агаре (0,0002–0,0004%) наблюдали рост бактериальной тест-культуры не только на поверхности аппликатора, но и вокруг него (рис. 3), а при высоких концентрациях — только на поверхности аппликатора. Последнее, на наш взгляд, может быть объяснено наличием «инерционного» роста

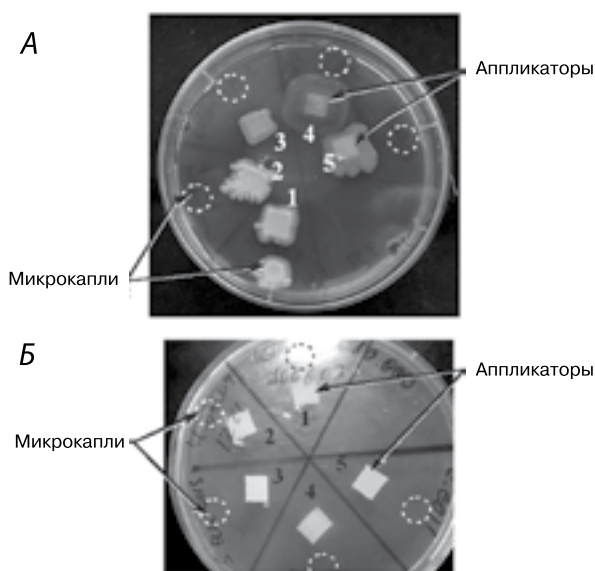


Рис. 3. А — характер роста культур *K. pneumoniae* ATCC 700603 (1), *K. pneumoniae* 1224 (2), *S. aureus* 906 (3), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (4), *E. coli* ATCC 25922 (5) на питательной среде Мюллера–Хинтон, содержащей 0,02% ХГ, на аппликаторах и в микрокаплях; Б — отсутствие роста тех же культур на питательной среде Мюллера–Хинтон, содержащей 1,0% ХГ.

тест-культуры вследствие замедленной диффузии препарата через аппликатор с отпечатком культуры. К моменту учета МБК (72 ч культивирования) «инерционный» рост прекращался и культура погибала, что подтверждалось отсутствием роста культуры при пересеве клеток с поверхности аппликатора на питательную среду, не содержащую ХГ.

Таким образом, планктонные клетки нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *P. mirabilis* оказались существенно чувствительнее к ХГ, чем бактериальные клетки в форме, приближенной к протобиопленке (иммобилизованные на аппликаторе). Увеличение резистентности к ХГ у бактерий, иммобилизованных на аппликаторе, по нашему мнению, может быть объяснено влиянием факторов, описанных в литературе для бактериальных биопленок: наличием защитного полисахаридного матрикса вокруг скопления клеток, значительными изменениями в экспрессии генов и метаболической активности [43–45] с последующим существенным повышением «выживаемости» бактерий и их устойчивости к антибактериальным препаратам [2, 43], переходом части клеток

в персистентное состояние [13], свойственное для хронических форм инфекции [44] и т. п.

Полученные нами данные по разной степени чувствительности к ХГ у планктонных клеток бактерий и клеток в составе биопленки позволяют объяснить причину неэффективности клинического использования 0,1% и 0,5% растворов хлоргексидина в ряде исследований [27, 28]. Таким образом, представляется целесообразным использование более высоких концентраций данного антисептика, а именно 1,5% раствора.

Заключение

Изучена чувствительность к антисептику хлоргексидину у нозокомиальных изолятов актуальных в настоящее время бактериальных патогенов ($n=18$) и референс-штаммов ($n=4$). В работе использованы бактериальные изоляты, выделенные в отделении нейрореанимации г. Москвы в 2013 г. и охарактеризованные с точки зрения устойчивости к широкому кругу антибактериальных препаратов. По степени чувствительности планктонных клеток исследуемых культур к препарату ХГ, выраженной в среднем значении МБК_{ХГ}, распределились в следующем порядке в сторону увеличения: *P. mirabilis* (0,025%), *P. aeruginosa* (0,009%), *K. pneumoniae* (0,006%), *A. baumannii* (0,006%), *E. coli* (0,005%) и *S. aureus* (0,005%). Устойчивость к ХГ клеток данных штаммов, иммобилизованных на аппликаторах, оказалась значительно выше: в 23 раза для *P. aeruginosa* (0,2%), в 28 раз для *A. baumannii* (0,16%), в 48 раз для *K. pneumoniae* (0,3%), в 50 раз для *P. mirabilis* (1,3%), в 128 раз для *E. coli* (0,6%) и в 255 раз для *S. aureus* (1,3%).

На основе полученных данных, для защиты кожи и слизистых пациентов отделения нейрореанимации от избыточной бактериальной колонизации, в целях профилактики инфекций ДС и МС, может быть рекомендовано использование 1,5% раствора хлоргексидина.

Финансирование работ. Данное исследование выполнено в рамках отраслевой научно-исследовательской программы «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (на 2011–2015 гг.), утвержденной руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 21 декабря 2010 г.

Литература

1. Программа ВОЗ по обеспечению безопасности пациентов. Всемирный альянс за безопасность пациентов. Глобальная задача по обеспечению безопасности пациентов. Чистая помощь — безопасная помощь. ВОЗ, Женева, 2006.
2. Основные компоненты для программ профилактики инфекций и инфекционного контроля. Второе совещание неформальной сети по профилактике инфекций и инфекционному контролю в здравоохранении. Женева, Швейцария, 26-27 июня 2008 г.
3. Гудкова Е. И., Адарченко А. А., Ласточкина Т. М., Симоненко Л. И., Слабко И. Н. Чувствительность к новым дезинфектантам клинических штаммов микробов, методы определения. Материалы юбилейной научной конференции, посвященной 80-летию Башкирского Государственного Медицинского Университета «Актуальные проблемы современной медицины» Под ред. С. Л. Кабака. Минск БГМУ 2001; 1:89-91.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0; 2014; <http://www.eucast.org>
5. Gajadhar T., Lara A., Sealy P., Adesiyun A. A. Microbial contamination of disinfectants and antiseptics in four major hospitals in Trinidad. *Rev Panam Salud Publica* 2003; 14(3):193-200.
6. O'Rourke E., Runyan D., O'Leary J. Contaminated iodophor in the operating room. *Am J Infect Control* 2003; 31:255-6.
7. Weber D. J., Rutala W. A., Sickbert-Bennett E. E. Outbreaks associated with contaminated antiseptics and disinfectants. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(12):4217-24.
8. Красильников А. П. Справочник по антисептике. Минск: Высш. шк. 1995.
9. Weuffen W. *Handbuch der Antiseptik*. In 3 Bd; Berlin: Veb. Verlag Volk und Gesundheit 1984-1987.
10. Aparna M. S., Yadav S. Biofilms: microbes and disease. *Braz J Infect Dis* 2008; 12(6):526-30.
11. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284(5418):1318-22.
12. Krzyściak W., Jurczak A., Kościelniak D., Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(4):499-515.
13. Patel R. Biofilms and antimicrobial resistance. *Clin Orthop Relat Res* 2005; (437):41-7.
14. Al-Tannir M. A., Goodman H. S. A review of chlorhexidine and its use in special populations. *Special Care in Dentistry* 1994; 14:116-22.
15. Gilbert P., Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J App Microbiol* 2005; 99:703-15.
16. Ruppert M., Schlagenhauf U. La clorhexidina en Odontología. Aspectos generales. *Quintessence (Ed. Española)* 2005; 18:12-23.
17. Hugo W. B. Disinfection mechanisms. In: Russell A. D., Hugo W. B., Ayliffe G. A. J., eds. *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*. Oxford: Blackwell 1992:187-210.
18. Albertos J. M., Junquera L. M., Albertos M. T., Olay S., López-Arranz E. La clorhexidina. Perspectiva actual. *En Odontoestomatología* 1996; 5:217-23.
19. Musteata F. M., Pawliszyn J. Assay of stability, free and total concentration of chlorhexidine in saliva by solid phase microextraction. *J Pharm Biomedical Analysis* 2005; 37:1015-24.
20. Hugo W. B., Longworth A. R. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Pharma Pharmacol* 1966; 18:569-78.
21. Fardal O., Turnbull R. S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J American Dental Association* 1986; 112:863-9.
22. Longworth A. R. Chlorhexidine. In: Hugo W. B., ed. *Inhibition and destruction of the bacterial cell*. New York, N.Y.: Academic Press 1971:95-106.
23. Arévalo J. M., Arribas J. L., Calbo L., Hernández M. J., Lizán M., Herruzco R. Guía del grupo de trabajo sobre desinfectantes y antisépticos. Revisión 1998. *Medicina Preventiva* 1998; 4:38-43.
24. Bernimoulin J. P. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontology* 2003; 30:7-9.
25. Junco-Lafuente M. P., Baca-García P., Mesa-Aguado F. L. Utilización de la clorhexidina en la prevención oral de pacientes de la tercera edad. *Revista del Ilustre Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España* 2001; 6:81-9.
26. Rahimi S., Janani M., Lotfi M., et al. A review of antibacterial agents in endodontic treatment. *Iran Endod J.* 2014; 9(3):161-8.
27. Зверьков А. В., Зузова А. П. Актуальность обработки полости рта 0,1% раствором хлоргексидина и очищенной водой для профилактики нозокомиальной пневмонии у больных с острым нарушением мозгового кровообращения. Тезисы XVI Международного конгресса МАКМАХ по антимикробной терапии; 21-23 мая 2014 г.; Москва, Россия. *КМАХ* 2014; 16(2):20.
28. Bosca I. D., Berar C., Anton F. et al. The impact of 0.5% chlorhexidine oral decontamination on the prevalence of colonization and respiratory tract infection in mechanically ventilated patients. Preliminary study. *Pneumologia* 2013; 62(4):217-22.
29. Tattawasart U., Maillard J. Y., Furr J. R., Russell A. D. Development of resistance to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride in *Pseudomonas stutzeri* and changes in antibiotic susceptibility. *J Hosp. Infect.* 1999 Jul; 42(3):219-29.
30. Randall L. P., Cooles S. W., Coldham N. G., et al. Commonly used farm disinfectants can select for mutant *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* with decreased susceptibility to biocides and antibiotics without compromising virulence. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:1273-80.

31. Russell A. D., Tattawasart U., Maillard J.-Y., Furr J. R. Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42:2151.
32. Kõljalg S., Naaber P., Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility. *J Hosp Infect* 2002; 51:106-13.
33. Mah T. F., O'Toole G. A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001; 9 (1):34-9.
34. Ebrahimi A., Hemati M., Habibian D. S. et al. Chlorhexidine digluconate effects on planktonic growth and biofilm formation in some field isolates of animal bacterial pathogens. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2014; 9(2):e14298.
35. Wright N. E., Gilbert P. Influence of specific growth rate and nutrient limitation upon the sensitivity of *Escherichia coli* towards chlorhexidine diacetate. *J Appl Bacteriol* 1987; 62(4):309-14.
36. Houari A., Di Martino P. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45(6):652-6.
37. Асташкин Е. И., Карцев Н. Н., Пачкунов Д. М. и соавт. Характеристика клинических штаммов *Acinetobacter baumannii*. Тезисы XV Международного конгресса МАКМАХ по антимикробной терапии 22-24 мая 2013 г., Москва, Россия. КМАХ 2013; 15(2):46.
38. Карцев Н. Н., Асташкин Е. И., Пачкунов Д. М. и соавт. Экстремально лекарственно-устойчивые клинические изоляты *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus mirabilis*. Тезисы XV Международного конгресса МАКМАХ по антимикробной терапии 22-24 мая 2013 г.; Москва, Россия. КМАХ 2013; 15(2):46.
39. Методические указания МУК 4.2.1890-04 от 4.03.2014 г. «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 4 марта 2004 г.)
40. Руководство 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности; утв. Роспотребнадзором 01.06.2010 г.
41. Kerver A. J. H., Rommes J. H., Mevissen-Verhage E. A. E., et al. Colonization and infection in surgical intensive care patients: a prospective study. *Intensive Care Med* 1987; 13:347-51.
42. Gastmeier P., Sohr D., Geffers C., Behnke M., Rüden H. Risk factors for death due to nosocomial infection in intensive care unit patients: findings from the Krankenhaus Infektions Surveillance System. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28(4):466-72.
43. Dukan S., Touati D. Hypochlorous acid stress in *Escherichia coli*: resistance, DNA damage, and comparison with hydrogen peroxide stress. *J Bacteriol* 1996; 178:6145-50.
44. Greenway D. L. A., England R. R. The intrinsic resistance of *Escherichia coli* to various antimicrobial agents requires ppGpp and σ^S . *Lett Appl Microbiol* 1999; 29:323-6.
45. Nøiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35(4):322-32.

Чувствительность к антибиотикам стрептококков группы А различных *emm* генотипов, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными инфекциями мягких тканей

Н. И. Брико, Н. Ф. Дмитриева, Д. А. Клейменов, К. В. Липатов,
Е. В. Глушкова, В. В. Котин

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Цель. Исследовать чувствительность к антибиотикам штаммов стрептококка группы А (СГА) различных *emm*-генотипов, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными инфекциями мягких тканей.

Материал и методы. Исследовали 91 культуру СГА, выделенную от пациентов со стрептококковой инфекцией мягких тканей гнойно-хирургического отделения 23 ГKB им. «Медсантруд» г. Москвы в 2008–2011 гг. Идентификацию стрептококков группы А проводили методом латекс-агглютинации, генотипирование — согласно протоколам CDC. Чувствительность к антибиотикам определяли методом серийных микроразведений в соответствии с рекомендациями EUCAST (v.4.1).

Результаты. Резистентность к тетрациклину выявлена у 46 (50,5%) культур, к азитромицину, кларитромицину и эритромицину — у 17,6, 15,4 и 15,4% штаммов соответственно. К хлорамфениколу, клиндамицину и левофлоксацину оказа-

лись не чувствительны 13,2, 5,5 и 1,1% культур соответственно. Из 91 культуры СГА 23,1% были устойчивы более чем к одному антибиотику. При этом среди 35 различных *emm* генотипов СГА, к которым были отнесены исследованные штаммы, полирезистентность обнаруживалась у штаммов шести *emm* генотипов: 44.0, 49.8, 65.0, 74.0, 88.2, st 1731.2.

Заключение. Наибольшей проблемой антибиотикорезистентности СГА является высокая частота резистентности к тетрациклину. Все культуры, независимо от источника выделения (ИСИ или неинвазивная форма), были чувствительны к низким концентрациям пенициллина. Культуры СГА, проявляющие полирезистентность, принадлежали к ограниченному набору *emm*-генотипов, как правило, широко распространенных в различных регионах мира.

Ключевые слова: *Streptococcus pyogenes*, антибиотикорезистентность, генотип.

Antimicrobial Susceptibility of Group A Streptococci of Different *emm* Genotypes, Isolated from Patients with Invasive and Non-Invasive Skin and Soft Tissue Infections

N. I. Briko, N. F. Dmitrieva, D. A. Kleymenov, K. V. Lipatov, E. V. Glushkova, V. V. Kotin

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Aim. To evaluate the antimicrobial susceptibility of group A streptococci (GAS) of different *emm*-genotypes, isolated from patients with invasive and non-invasive skin and soft tissue infections.

Material and Methods. Overall 91 strains of GAS isolated during 2008–2011 from patients with invasive and non-invasive skin and soft tissue infections hospitalized in one Moscow's hospital were included in the study. Identification was done by latex agglutination, genotyping — by CDC protocol. Susceptibility to antimicrobials was evaluated by broth microdilution method in accordance with EUCAST v.4.1 recommendations.

Results. Resistance to tetracycline was noted in 50,5% of strains; to azithromycin, clarithromycin and erythromycin — in 17.6%, 15.4% and 15.4% of strains,

respectively; 13,2%, 5,5% and 1,1% of strains were non-susceptible to chloramphenicol, clindamycin and levofloxacin. Among tested strains 23.1% were resistant to more than one antimicrobial. Out of 35 different *emm* genotypes multiresistance was detected in the following *emm* genotypes: 44.0, 49.8, 65.0, 74.0, 88.2, st 1731.2.

Conclusion. The most prominent antimicrobial resistance problem in the tested strains was very high rate on non-susceptibility to tetracycline. All isolates tested, independently of type of infection (invasive and non-invasive) were highly susceptible to penicillin G. Multiresistant Gas isolates were belonging to few international *emm*-genotypes.

Key words: *Streptococcus pyogenes*, antimicrobial resistance, genotype.

Введение

В этиологической структуре воспалительных заболеваний мягких тканей значительное место принадлежит стрептококкам группы А (*Streptococcus pyogenes*). Часть из этих инфекций протекает в виде тяжелых генерализованных форм — *инвазивных стрептококковых инфекций* (ИСИ). Типовой состав культур *стрептококков группы А* (СГА), выделяемых при данной локализации возбудителя, характеризуется значительным разнообразием [1]. Для различных регионов земного шара отмечается свой набор наиболее часто встречающихся генотипов. Исследование антибиотикочувствительности штаммов также демонстрирует неодинаковый уровень устойчивости выделяемых культур в разных странах [2–4]. В некоторых работах сделана попытка провести параллель между чувствительностью к антибиотикам штаммов СГА, вызвавших ИСИ, с их *emm*-типом [5–7]. Цель данной работы — определить особенности антибиотикочувствительности различных *emm* генотипов СГА, выделенных при инвазивных и неинвазивных инфекциях мягких тканей в одном из хирургических стационаров г. Москвы.

Материал и методы

Обследование пациентов и выделение биологического материала проводили с мая 2008 г. по март 2011 г. в гнойно-хирургическом отделении 23 ГКБ им. «Медсантруд» г. Москвы. СГА выделяли из крови или материала, полученного во время

операции при первичном нарушении целостности кожного покрова. Посев пробы осуществляли на кровяной агар с добавлением 5% бараньей крови. После учета результатов первичного посева на агар выделяли чистую культуру и культивировали ее в бульоне Todd-Hewitt в течение 18 часов при 37 °С. Идентификацию стрептококков группы А проводили методом латекс-агглютинации с использованием набора реагентов для групповой идентификации Slidex Strepto-Kit (bioMerieux, Франция).

Большинство молекулярно-генетических процедур (выделение геномной ДНК, электрофорез ДНК и др.) осуществляли в соответствии с руководством [8]. Наличие генов бактериофаговых токсинов *speA*, *speB* и *speC* определяли методом ПЦР при условиях, описанных ранее [9].

Emm-типирование культур СГА проводили в соответствии с протоколом, рекомендованным *Центрами по контролю и профилактике заболеваний США* (CDC) [10]. Фрагменты ДНК выделяли из агарозного геля посредством набора «Bacterial Genomic DNA Miniprep kit» («Ахуген», США).

Секвенирование ДНК проводили с использованием набора BigDye v.3.1 (Applied Biosystems) на генетическом анализаторе ABI 3130x1 согласно инструкции производителя. С целью установления *emm*-типа и *emm*-подтипа штаммов полученные последовательности сравнивали с данными, опубликованными в *Streptococcus pyogenes emm* sequence database [11] с помощью программы BLAST2.

Таблица 1. Распределение культур *S. pyogenes* ($n=91$) по степени чувствительности к антимикробным препаратам (в %)

Антибиотики	Ч	УР	Р
Азитромицин	82,4	4,4	13,2
Хлорамфеникол	86,8	0	13,2
Кларитромицин	84,6	2,2	13,2
Клиндамицин	94,5	0	5,5
Эритромицин	84,6	5,5	9,9
Левифлоксацин	98,9	1,1	0
Линезолид	100	0	0
Моксифлоксацин	—	—	—
Пенициллин	100,0	0	0
Тетрациклин	49,5	0	50,5
Триметоприм/сульфаметоксазол	—	—	—
Ванкомицин	100	0	0

Примечание. Ч — чувствительные, УР — умеренно резистентные, Р — резистентные.

Исследование чувствительности *S. pyogenes* с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотиков проводили методом микроразведений в катион-сбалансированном бульоне Мюллера–Хинтон (BBL, США) с добавлением лизированной лошадиной крови (итоговая концентрация — 5%). Для приготовления бактериальной суспензии чистую суточную культуру микроорганизмов разводили в стерильном 0,9% растворе хлорида натрия до мутности, эквивалентной 0,5 по стандарту МакФарланда. Инкубация микротитровальных планшетов проводилась при температуре 35 °С в течение 18±2 ч в обычной атмосфере. Контроль качества с использованием контрольного штамма *S. pneumoniae* ATCC 49619 проводился при каждой постановке чувствительности. Интерпретация результатов определения чувствительности производилась согласно критериям Европейского комитета по определению чувствительности (EUCAST, v. 4.1.).

Результаты исследования

К следующим антибиотикам не было выявлено резистентности у исследованных штаммов: пенициллину, ванкомицину, линезолиду, моксифлоксацину и левифлоксацину (к последнему один штамм был умеренно резистентен). Чуть менее половины штаммов ($n=43$, 47,3%) были чувствительны ко всем протестированным в данном исследовании антибиотикам. 27 штаммов (29,7%) были резистентны только к тетрациклину. Еще два штамма (2,2%) помимо резистентности к тетрациклину были умеренно устойчивы: один к левифлоксацину и еще один ко всем трем представителям макролидов — азитромицину, кларитромицину и эритромицину.

Из оставшихся 19 штаммов два (2,2%), сохраняя чувствительность к тетрациклину, были резистентны/умеренно резистентны к макролидам, 4 штамма (4,4%) были резистентны к тетрациклину и хлорамфениколу, и 13 (14,3%) штаммов обнаружили устойчивость к 3 и более представителям классов (групп) антимикробных препаратов, т. е. являлись полирезистентными (табл. 1).

В целом, резистентность к тетрациклину выявлена у 46 (50,5%) культур, к азитромицину, кларитромицину и эритромицину — у 16 (17,6%), 14 (15,4%) и 14 (15,4%) штаммов соответственно. К хлорамфениколу, клиндамицину и левифлоксацину оказались нечувствительными 12 (13,2%), 5 (5,5%) и 1 (1,1%) штаммов соответственно.

Среди 91 культуры СГА было определено 35 различных *emm* генотипов. При этом наиболее распространенными были *emm88* (14 штаммов — 13,5%), *st1731* — 12 штаммов и *emm66* — 10. Определено четыре штамма как *emm49*, по три штамма — с *emm*-типами 1, 28, 41, 73 и 84; по два штамма с *emm*-типами — 32, 53, 60, 64, 76, 80, 81, 117, 27G6, *st2940*. Остальные генотипы представлены по одному штамму: 12, 22, 25, 44, 59, 65, 74, 77, 83, 89, 94, 110, 115, 122, *st221*, *stG485* (табл. 2).

Среди чувствительных ко всем протестированным антибиотикам культур ($n=43$), тринадцать (30,2%) были выделены от больных ИСИ и относились к 1, 28, 60, 66, 84, 88 *emm*-типам. Культуры, относящиеся к последним четырём *emm*-типам, были также выделены от больных неинвазивными формами инфекции (см. табл. 2).

11 штаммов десяти *emm*-типов (28, 41, 53, 66, 76, 77, 80, 117, *st221* и *st2940*), вызвавшие ИСИ, были устойчивы только к тетрациклину, что составило

Таблица. 2. Распределение культур по *emm*-генотипам и чувствительности к антибиотикам

<i>Emm</i> -типы (число штаммов), вызвавшие ИСИ	<i>Emm</i> -типы (число штаммов), вызвавшие неинвазивные формы СИ		Число штаммов			Антибиотики и оценка чувствительности к ним					
	всего	инвазивные формы СИ	неинвазивные формы СИ.	азитромицин	кларитромицин	эритромицин	хлорамфеникол	клиндамицин	тетрациклин		
1.0 (1)	1.0 (1)	80.0 (1)	43	13	30	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч
1.47 (1)	12.4 (1)	81.1 (2)									
28.0 (2)	25.3 (1)	84.0 (1)									
60.1 (1)	27G.6 (1)	88.2 (4)									
66.1 (2)	32.2 (1)	88.4 (1)									
84.0 (2)	53.0 (1)	89.0 (1)									
88.2 (4)	59.0 (1)	94.0 (1)									
	60.1 (1)	117.0 (1)	27	11	16	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Р
28.0 (1)	77.0 (1)	22.0 (1)									
41.2 (1)	80.0 (1)	27G.6 (1)									
53.0 (1)	117.0 (1)	41.2 (2)									
66.0 (2)	st221 (1)	66.0 (1)									
76.0 (1)	st2940 (1)	73.0 (1)									
		st1731 (3)									
		stG485.0 (1)									
	32.2 (1)		1	—	1	Р	Ч	Р	Ч	Ч	Ч
	110.1 (1)		1	—	1	Р	Р	Ч	Ч	Ч	Ч
	st1731 (1)		1	—	1	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Р
64.0 (2)	122.2 (1)		4	2	2	Ч	Ч	Ч	Р	Ч	Р
	st1731 (1)										
73.0 (1)			1	1	—	Р	Р	Р	Ч	Ч	Р
44.0 (1)			1	1	—	Р	Ч	Ч	Р	Ч	Р
	88.2 (5)		5	—	5	Р	Р	Р	Ч	Р	Р
49.8 (1)	65.0 (1)	st1731 (1)	7	2	5	Р	Р	Р	Р	Ч	Р
74.0 (1)	49.8 (3)										

40,7% от общего числа штаммов ($n=27$) с такими свойствами.

21 культура, проявившая устойчивость более чем к одному антибиотику, принадлежала к одиннадцати *emm* генотипам (32, 44, 49, 64, 65, 73, 74, 88, 110, 122, st1731). Из них 6 (28,6%) штаммов были связаны с ИСИ и представляли 44, 49, 64, 73 и 74 *emm*-типы.

Все эти штаммы демонстрировали чувствительность к клиндамицину и левофлоксацину и резистентность к тетрациклину, большинство были резистентны к хлорамфениколу (кроме *emm*73.0) и умеренно резистентны/резистентны к макролидам (кроме *emm*64.0).

Остальные 15 штаммов были выделены от больных неинвазивными формами стрептококковых инфекций мягких тканей и относились к следующим *emm*-типам: 32, 49, 65, 88, 110, 122 и st1731.

Культуры всех *emm*-типов, за исключением *emm*122.2, были резистентны/умеренно резистентны

к двум-трем макролидам. Пять культур, проявивших устойчивость к клиндамицину, принадлежали одному *emm*-типу — 88.2 (см. табл. 2). При этом МПК для всех пяти *emm*-типов составила 16 мг/л. Все штаммы были чувствительны к левофлоксацину, большинство резистентны к тетрациклину (кроме *emm*32.2 и *emm*110.1). В то же время *emm*-типы 49.8, 65.0, 122.2 и st1731.2 были устойчивы к хлорамфениколу.

В целом, 13 штаммов, обладавших полирезистентными свойствами, относились к шести *emm*-типам: 44.0, 49.0, 65.0, 74.0, 88.2, st1731.2 (табл. 3). Для них было определено наличие генов эритрогенных токсинов.

Штамм *emm*44.0, в котором выявлен *speB*, был умеренно резистентен к азитромицину, а также к хлорамфениколу и тетрациклину (4МПК_R). У всех четырех культур *emm*49.8 выявлены гены эритрогенных токсинов А и В (*speA*, *speB*). Практически такими же свойствами обладал штамм *emm*65.0, но ген *speA* у него не определялся. Наиболее интерес-

Таблица. 3. Характеристика антибиотикочувствительности и наличие генов эритрогенных токсинов у полирезистентных штаммов

<i>Emm</i> -тип (число штаммов)	Гены стрептококковых токсинов			МПК, мг/л						
	<i>spe A</i>	<i>spe B</i>	<i>spe C</i>	азитро- мицин	клари- тромицин	эритро- мицин	клинда- мицин	хлорам- феникол	лево- флокса- цин	тетра- циклин
44.0 (1)	—	+	—	1	0,25	0,125	0,125	64	1	32
49.8 (4)	+	+	—	4	4	1	0,0625	32	1	32
65.0 (1)	—	+	—	2	2	1	0,0625	32	2	32
74.0 (1)	+	+	+	16	16	2	0,25	64	2	16
88.2 (5)	—	+	—	16	16	16	16	2	1	32
st1731.2 (1)	+	+	—	2	2	0,5	0,0625	32	1	16
Пограничные кон- центрации МПК (Ч / Р)	—			≤0,5/≥2	≤0,25/≥1	≤0,25/≥1	≤0,25/≥1	≤4/≥16	≤2/≥8	≤2/≥8

ный по содержанию токсинов штамм *emm*-типа 74.0 (мы обнаружили в его геноме гены *speA*, *speB*, *speC*) был одним из наиболее чувствительных к антибиотикам. У всех пяти штаммов *emm88.2* определялся ген *speB*. И наконец, штамм st1731.2, имея в своем патогенетическом арсенале гены *speA* и *speB*, был устойчив к азитромицину, кларитромицину, хлорамфениколу и тетрациклину (см. табл. 3).

Обсуждение результатов исследования

Наибольшее количество культур (50,5%) проявили резистентность к тетрациклину, что отражает общую тенденцию увеличения доли нечувствительных к тетрациклину штаммов СГА и превышает такие показатели при исследованиях, проводившихся как в России, так и в ряде зарубежных стран. В то же время доля штаммов, резистентных к эритромицину, оказалась выше, чем при анализе респираторных штаммов СГА в России [2], но ниже выявляемой в ряде стран Европы [6, 12].

Резистентность к 14- и 15-членным макролидам была сопоставима с таковой к хлорамфениколу. Среди исследованных нами штаммов устойчивость к хлорамфениколу ни в одном случае не сопровождалась одновременной устойчивостью к клиндамицину.

Все культуры, независимо от источника выделения (ИСИ или неивазивная форма), были чувствительны к низким концентрациям пенициллина (≤0,03 мг/л).

К полирезистентным были отнесены штаммы шести *emm* генотипов: 44.0, 49.8, 65.0, 74.0, 88.2, st1731.2. В настоящее время складывается представление, что динамика распространения резистентности к препаратам связана не только с количеством потребляемых антибиотиков, но

и с динамикой распространения отдельных клонов возбудителей, обусловленной совершенно другими причинами.

Широкое распространение штаммов генотипа *emm49* (M49) в различных географических регионах с 1950 года по настоящее время и большой круг заболеваний, им вызываемых, дало основание включать его при разработке вакцинных препаратов. К потенциально вакцинным относится также штамм *emm* генотипа 44.0 [13]. Штаммы *emm* генотипов 65, 74 и st 1731 не являются вакцинными, но при этом являются достаточно распространенными, в связи с чем данные по их чувствительности к антибиотикам также представляют интерес. Следует отметить, что штаммы с *emm* 88.2, по данным литературы, не входят как в число вакцинных, так и часто регистрируемых [14].

Важным также является то, что ряд культур с повышенной вирулентностью также являлись полирезистентными. Так, например, культура СГА, выделенная от больной ИСИ (*emm74*), проявляла устойчивость к пяти антибиотикам: тетрациклину, хлорамфениколу, азитромицину, эритромицину и кларитромицину. В исследовании, проведенном в Турции [6], штамм, типированный как *emm74*, изолированный из крови больного при ИСИ, также проявлял полирезистентность. У выделенного нами штамма данного типа были выявлены гены важных факторов вирулентности возбудителя — эритрогенных токсинов *speA*, *speB* и *speC*. У штаммов генотипа *emm49* и st1731 определены гены *speA* и *speB*, у штаммов с *emm* 88.2, 65 и 44 — ген *speB* (см. табл. 3).

Наиболее выраженная полирезистентность была выявлена у пяти штаммов с генотипом *emm* 88.2. Вполне вероятно, что такие штаммы широ-

ко распространены в России. По данным нашего исследования, количество штаммов данного генотипа было максимальным при мониторинге СГА

инфекций мягких тканей у больных отделения гнойной хирургии стационара за период с 2008 по 2011 гг. [1].

Литература

1. Брико Н.И., Глушкова Е.В., Дмитриева Н.Ф., Клейменов Д.А., Липатов К.В., Ещина А.С., Тимофеев Ю.М., Мирская М.А., Введенская О.В. Инвазивная стрептококковая инфекция (группы А) мягких тканей в хирургическом стационаре г. Москвы. Вестник РАМН 2013; 6:15-20.
2. Азовскова О.В., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Кречикова О.И., Козлов Р.С., исследовательская группа «ПеГАС». Динамика антибиотикорезистентности респираторных штаммов *Streptococcus pyogenes* в России за период 1999–2009. Клин микробиол антимикроб химиотер 2012; 14(4):309-21.
3. Rubio-Lopez V., Valdezate S., Alvarez D., Villalon P., Medina M.J., Salcedo C. and Saez-Nieto J. Molecular epidemiology, antimicrobial susceptibilities and resistance mechanisms of *Streptococcus pyogenes* isolates resistant to erythromycin and tetracycline in Spain (1994-2006). BMC Microbiol 2012; 12:215.
4. Ardanuy C., Domenech A., Rolo D., Calatayud L., Tubau F., Ayats J., Martin R., Linares J. Molecular characterization of macrolide- and multidrug-resistant *Streptococcus pyogenes* isolated from adult patients in Barcelona, Spain (1993-2008). J Antimicrob Chemother 2010; 65:634-43.
5. Sakata H. Susceptibility and emm type of *Streptococcus pyogenes* isolated from children with severe infection. J Infect Chemother 2013; 19(6):1042-6.
6. Arslan U., Oryasin E., Eskin Z., Turk Dagi H., Findik D., Tuncer I., Bozdogan B. Distribution of emm genotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains analogy with the vaccine in development. Mikrobiol Bul 2013; 47(2):318-23.
7. Wajima T., Murayama S.Y., Sunaoshi K., Nakayama E., Sunakawa K., Ubukata K. Distribution of emm type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasivedisease. J Med Microbiol 2008; 57(11):1383-8.
8. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М., Мир, 1984.
9. Дмитриева Н.Ф., Трофимов Д.Ю., Ещина А.С., Ряпис Л.А., Скоркина Ю.А., Герасимов А.Н., Журавлев М.В. Брико Н.И. Частота встречаемости генов spe ABC в штаммах *Streptococcus pyogenes* и идентификация возбудителя с помощью ПЦР. Журн микробиол 2002; 5:3-6.
10. Доступно по URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepblast.htm>
11. Доступно по URL: http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm
12. Van Heirstraeten L., Coenen S., Lammens C., Hens N., Goossens H., Malhotra-Kumar S. Antimicrobial drug use and macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes*, Belgium. Emerg Infect Dis 2012; 18(9):1515-8.
13. Dale J.B., Penfound T.A., Tamboura B., Sow S.O., Nataro J.P., Tapia M., Kotloff K.L. Potential coverage of a multivalent M protein-based group A streptococcal vaccine. Vaccine 2013; 31:1576-81.
14. Cole J.N., Barnett T.C., Nizet V., Walker M.J. Molecular insight into invasive group A streptococcal disease. Nature Rev Microbiol 2011; 9:724-36.

Серологический и молекулярно-биологический анализ результатов вакцинации против гепатита В медицинского персонала многопрофильного стационара

Т. А. Семенов¹, Г. Ю. Никитина², Л. В. Ярош¹, А. И. Баженов³, Д. А. Эльгорт¹,
Д. А. Клейменов³, В. Б. Таничева², М. А. Годков³, А. П. Суслов¹

¹ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

²Городская клиническая больница им. С. П. Боткина, Москва, Россия

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

Представлены результаты изучения напряженности и длительности иммунного ответа у 890 сотрудников многопрофильного стационара после вакцинации против гепатита В. Установлено существенное повышение удельного веса лиц с наличием HBsAg (1,7%), анти-HBc (21,1%), анти-HBe (16,9%) среди невакцинированных лиц по сравнению с привитыми сотрудниками (0,2, 10,7 и 6,4% соответственно). «Изолированные» анти-HBc выявлены у 5 (0,8%) вакцинированных и 15 (6,3%) невакцинированных человек, ДНК ВГВ — у 3 (0,5%) и 5 (2,1%) соответственно. Среди 653 вакцинированных лиц у 140 (21,4%) отсутствовали анти-HBs или их

концентрация была ниже протективного уровня. Изоляты, положительные по ДНК ВГВ в ПЦР, при секвенировании имели генотип D, субтипы ayw3 и ayw2. При анализе аминокислотных последовательностей в участке S-гена установлены замены T118A, T118V, M125T и A128V. Обсуждается вопрос о необходимости создания вакцин нового поколения, способных защищать как от «диких» штаммов, так и от мутантных форм ВГВ.

Ключевые слова: вирус гепатита В, медицинский персонал, вакцинация против гепатита В, поствакцинальный иммунитет, мутантные формы ВГВ.

Serological and Molecular Analysis of the Results of Medical Staff Vaccination Against Hepatitis B

T. A. Semenenko¹, G. Ju. Nikitina², L. V. Yarosh¹, A. I. Bazhenov³, D. A. Elgort¹, D. A. Kleimenov³,
V. B. Tanicheva², M. A. Godkov³, A. P. Suslov¹

¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital named after S. P. Botkin, Moscow, Russia

³ Research Institute of Emergency Care named after N. V. Sklifosovskiy, Moscow, Russia

The results of the immune response intensity and duration in 890 hospital staff after vaccination against hepatitis B are presented. High frequency of HBsAg (1,7%), anti-HBs (21,1%), anti-HBe (16,9%) among not vaccinated against hepatitis B medical staff in comparison with vaccinated persons (0,2, 10,7 and 6,4% respectively) was established. «Isolated» anti-HBc was estimated to occur at 5 (0,8%) vaccinated and 15 (6,3%) not vaccinated persons, HBV DNA — at 3 (0,5%) and 5 (2,1%),

respectively. Among 653 vaccinated medical staff anti-HBs were absent or their concentration was below protective level at 140 (21,4%) persons. HBV DNA positive in PCR isolates had genotype D, subtypes ayw3 and ayw2. Sequence analysis of PCR products amplified from the S region revealed site replacements T118A, T118V, M125T, A128V. The necessity of the new generation vaccines formation capable to protect from HBV «wild» strains and mutant forms is discussed.

Key words: hepatitis B virus, medical staff, vaccination against hepatitis B, vaccine-induced immunity, HB-mutants.

Контактный адрес:

Татьяна Анатольевна Семенов

Эл. почта: semenenko@gamaleya.org

Введение

Hepatitis B (ГВ) представляет собой важнейшую медико-социальную проблему. Это обусловлено высоким уровнем заболеваемости среди различных групп населения, многообразием клинических форм и исходов, включая цирроз и первичный рак печени, и значительным социально-экономическим ущербом. В мире насчитывается более 2 млрд человек, имеющих маркеры инфицирования *вирусом гепатита В* (ВГВ), из них 350 млн являются хроническими носителями вируса. В России насчитывается от 3 до 5 млн бессимптомных носителей ВГВ, многие из которых страдают хроническим ГВ.

Показатель заболеваемости острым ГВ в 2013 году составил 1,33 на 100 тыс. населения, что является рекордно низким значением за все годы наблюдения. Вакцинация, признанная основным средством профилактики ГВ, бесспорно внесла значительный вклад в этот процесс. В России применение вакцин против ГВ в группах риска началось в 1990 году, и в стране появились реальные предпосылки эффективного воздействия на активность эпидемического процесса ГВ [1]. В декабре 1997 года Приказом Минздрава России № 375 вакцинация против ГВ была включена в Национальный календарь профилактических прививок, что в дальнейшем было закреплено в Федеральном законе «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней». Наиболее ощутимые результаты были достигнуты при реализации приоритетного национального проекта «Здоровье», когда за период 2006–2011 гг. было провакцинировано более 67% подростков и взрослых в возрасте 18–55 лет [2].

Мониторинг эффективности вакцинации осуществляется преимущественно путем определения гуморального иммунного ответа, характеризующегося частотой выявления специфических антител (анти-НВs) в протективных титрах [3]. Особую актуальность данный критерий приобретает в группах риска, к которым относится персонал лечебно-профилактических учреждений. Увеличение числа парентеральных вмешательств и процедур с использованием сложной аппаратуры; широкое использование антибиотиков и цитостатиков, оказывающих иммуносупрессивное действие; рост объема и видов медицинских услуг, оказываемых населению амбулаторно-поликлиническим звеном и кабинетами частной врачебной практики, — все эти факторы повышают риск заражения вирусами гепатитов в процессе выполнения должностных обязанностей [4]. В настоящее время гепатит В можно с полным основанием считать профессиональным заболеванием медицинских работников.

Активная иммунизация медицинского персонала в России начата в 1996–1997 гг., и к настоящему времени накоплен значительный опыт ее реализации. Однако, несмотря на эффективность вакцинопрофилактики, недостаточно изучена длительность и напряженность специфического гуморального иммунитета, а также распространенность маркеров инфицирования ВГВ среди привитых и неиммунизированных медицинских работников. В связи с этим целью работы явилось проведение серологического и молекулярно-биологического анализа результатов вакцинации против гепатита В у медицинского персонала многопрофильного стационара.

Материал и методы

Проведено исследование сывороток крови у 890 сотрудников многопрофильного стационара, в том числе у 228 врачей, 536 медицинских сестер и у 126 младшего медицинского персонала.

Среди обследованных лиц 699 (78,5%) составили женщины, 191 (21,5%) — мужчины, средний возраст — $40,4 \pm 8,6$ года.

Для иммунизации использовали вакцину против ГВ, содержащую 20 мкг НВsAg (1,0 мл), по стандартной схеме (0–1–6 мес.). У всех обследованных лиц исследовали образцы сыворотки крови на наличие НВsAg, анти-НВс (суммарные) и анти-НВе. Тестирование анти-НВs проводили с определением их концентрации и среднегеометрических титров. Результаты интерпретировали в мМЕ/мл. Серопротективной концентрацией специфических антител в сыворотке крови считали титры анти-НВs, равные 10 мМЕ/мл и выше. Образцы сыворотки крови, позитивные по НВsAg и с «изолированными» антителами к НВсAg, исследовали на наличие ДНК ВГВ методом ПЦР в реальном времени.

Для исследования применяли отечественные и зарубежные коммерческие тест-системы. НВsAg определяли в ИФА тест-системе «Гепастрип В» (НПО «Ниармедик») с последующим подтверждением позитивных образцов в тест-системе «Гепаблок» (НПО «Ниармедик»). Тестирование сывороток крови на наличие серологических маркеров ВГВ (анти-НВs, анти-НВс, анти-НВе) проводили с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», «Architect» («Abbott Diagnostics», США) согласно прилагаемым инструкциям. Вирусную нагрузку определяли методом количественной ПЦР с детекцией продуктов в реальном времени с помощью тест-системы «РеалБест ДНК-ВГВ» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) на приборе CFX-96 (Bio-Rad, США). Определение нуклеотидных последовательностей участка S-гена проводили с использованием секвенатора «FDI-3100 PRISM

Таблица 1. Распределение вакцинированных и невакцинированных против гепатита В медицинских работников по возрасту

Возраст, лет	Вакцинированные против ГВ		Невакцинированные против ГВ	
	абс. число	%	абс. число	%
20–29	181	27,7	19	8,0
30–39	203	31,1	57	24,1
40–49	156	23,9	65	27,4
50–59	64	9,8	57	24,1
60 и более	49	7,5	39	16,4
Всего	653	100,0	237	100,0

Genetic Analyzer» («Applied Biosystems», США). Для анализа и обработки полученных результатов использовали общепринятые методы вариационной статистики.

Результаты исследования и обсуждение

Из включенных в обследование 890 медицинских работников специфическую профилактику против ГВ получили 653 человека (1-я группа), из них полный курс вакцинации проведен у 609 (93,2%), одну или две дозы препарата получили 44 человека (6,8%). Среди привитых сотрудников — 520 женщин (79,6%) и 133 мужчин (20,4%). Анализ распределения вакцинированных лиц по профессиональному признаку показал, что из них 162 (24,8%) — врачи, 418 (64,0%) — средний и 73 (11,2%) — младший медицинский персонал. 237 сотрудников стационара (2-я группа), из которых 179 (75,5%) — женщины и 58 (24,5%) — мужчины, не были привиты, в том числе 73 (30,8%) — врачи, 114 (48,1%) — средний и 50 (21,1%) — младший медицинский персонал. Распределение по возрасту вакцинированных и невакцинированных против ГВ медицинских работников представлено в табл. 1.

Как следует из данных табл. 1, наиболее часто вакцинируются сотрудники в возрасте от 20 до 39 лет (27,7 и 31,1%), а самый низкий процент привитых — в возрастных категориях 50–59 лет и 60 и более лет (9,8 и 7,5% соответственно). Это может быть связано с наличием медицинских противопоказаний и наличием сопутствующей соматической патологии у лиц зрелого возраста, а также с отказом от вакцинации в силу недостаточной информированности об опасности заражения ВГВ.

При сравнительном анализе частоты выявления маркеров инфицирования ВГВ в обследуемых группах установлено существенное превышение удельного веса лиц с наличием HBsAg (1,7% против 0,2%; $p < 0,001$), анти-HBc в сочетании с анти-HBc (20,3% против 10,7%; $p < 0,002$) среди невакцинированных

лиц по сравнению с привитыми сотрудниками. Обнаружение анти-HBc у привитых медицинских работников может свидетельствовать о предыдущей встрече с ВГВ без клинических признаков заболевания, однако этот вопрос является предметом дальнейших исследований. «Изолированные» анти-HBc выявлены у 5 (0,8%) вакцинированных и 15 (6,3%) невакцинированных человек (табл. 2).

Также в 6,4 и 16,9% случаев определены антитела к HBeAg у лиц с наличием и отсутствием прививочного анамнеза. При проведении ПЦР в реальном времени у 3 из 653 вакцинированных (0,5%) и у 5 из 237 невакцинированных сотрудников (2,1%) была обнаружена ДНК ВГВ.

Обнаружение «изолированных» суммарных антител к HBsAg, а также ДНК ВГВ при отсутствии HBsAg у 3 сотрудников (у двух вакцинированных и у одного невакцинированного) свидетельствует о наличии «скрытых» форм ГВ. О регистрации скрытой ВГВ-инфекции среди медицинского персонала сообщают как отечественные, так и зарубежные авторы [5–7]. Выявление ДНК ВГВ у вакцинированных против ГВ сотрудников может быть следствием разных причин: наличия феномена отсутствия ответа на вакцинацию у здоровых лиц; инфицирования мутантными формами ВГВ; физиологическим (за счет инволюции тимуса) возрастным иммунодефицитом сотрудников (все старше 50 лет), сопровождающимся нарушением адекватного реагирования на вакцинацию [3].

Анализ данных о поствакцинальных концентрациях антител показал, что у 23,0% привитых отмечаются низкие (от 10 до 99 мМЕ/мл), у 16,7% — средние (100–1000 мМЕ/мл) и у 38,9% — высокие (более 1000 мМЕ/мл) титры антител. Следует отметить, что среди 653 вакцинированных лиц у 140 (21,4%) отсутствовали антитела к HBsAg или их концентрация была ниже протективного уровня (менее 10 мМЕ/мл).

Одновременное обнаружение анти-HBs+анти-HBc установлено среди 70 (10,7%) иммунизированных

Таблица 2. Сравнительная частота выявления маркеров инфицирования ВГВ у сотрудников многопрофильного стационара, вакцинированных и невакцинированных против ГВ

Маркеры	Вакцинированные (n=653)		Невакцинированные (n=237)	
	абс. число	%	абс. число	%
HBsAg	1	0,2	4	1,7
Анти-HBs	443	67,8	11	4,6
Анти-HBs + анти-HBc	70	10,7	48	20,3
Анти-HBc «изолированные»	5	0,8	15	6,3
Нет серологических маркеров	134	20,5	159	67,1
Всего	653	100,0	237	100,0

Таблица 3. Частота наличия разных концентраций анти-HBs в разные сроки после вакцинации против ГВ

Сроки после вакцинации	Число обследованных	Распределение вакцинированных лиц в зависимости от концентрации анти-HBs, абс. число (%)			
		<10 (отр.) мМЕ/мл	10–99 мМЕ/мл	100–1000 мМЕ/мл	>1000 мМЕ/мл
1–5 лет	533	98 (18,4)	110 (20,6)	88 (16,5)	237 (44,5)
6–7 лет	60	13 (21,7)	20 (33,3)	14 (23,3)	13 (21,7)
8–15 лет	60	29 (48,3)	20 (33,3)	7 (11,7)	4 (6,7)
Итого	653	140 (21,4)	150 (23,0)	109 (16,7)	254 (38,9)

ванных серопозитивных сотрудников, что свидетельствует о перенесенном в прошлом гепатите В в бессимптомной форме. Следует отметить, что число лиц с наличием суммарных антител к HBsAg возрастает с увеличением титров анти-HBs (1,7, 2,3 и 6,7% соответственно).

Результаты исследования сывороток крови на напряженность и длительность иммунитета к ВГВ среди медицинского персонала многопрофильного стационара в разные сроки после вакцинации представлены в табл. 3.

При анализе данных, представленных в табл. 3, прослеживается изменение уровня специфического гуморального иммунного ответа у вакцинированных лиц в зависимости от времени, прошедшего после окончания курса вакцинации. Так, если спустя 1–5 лет после последней прививки лиц с высокими титрами по анти-HBs (100–1000 и >1000) было 16,5 и 44,5%, то через 8–15 лет – 11,7 и 6,7% соответственно от числа вакцинированных. На ранних сроках преобладают сотрудники с титрами анти-HBs >1000 мМЕ/мл (44,5%), а спустя 8–15 лет у большей части привитых доминирующей является концентрация специфических антител <10 мМЕ/мл и 10–99 мМЕ/мл (48,3 и 33,3% соответственно).

В связи с высокой медико-социальной значимостью гепатита В в настоящее время разрабатываются различные подходы к повышению эффективности вакцинации путём применения различных адъювантов, включая иммуномодуляторы, оптимизации схем, создания новых вакцинных пре-

паратов и др. Следует отметить, что определение гуморального иммунного ответа в ИФА лишь косвенно отражает напряженность антиген-специфического Т-клеточного ответа, который играет важную роль в защите от вирусных инфекций. Длительный протективный эффект обусловлен формированием иммунологической памяти, которая связана с накоплением клона долгоживущих (20 лет и более) клеток памяти [3].

При оценке зависимости уровня поствакцинальных антител от возраста установлено, что наибольший удельный вес серопозитивных лиц имеет место в возрастных группах 20–29 (86,7%) и 30–39 (81,3%) лет, минимальный – 62,5 и 63,3% среди медицинских работников – в возрасте 50–59 и 60 и более лет, соответственно. Определение удельного веса различных концентраций анти-HBs показало, что у лиц в возрасте 20–29 и 30–39 лет антитела в титре >1000 мМЕ/мл обнаруживаются в 44,8 и 43,8% случаев, а у сотрудников старше 60 лет – лишь в 26,5% случаев. Такая же закономерность прослеживается для анти-HBs в более низких концентрациях: у лиц пожилого возраста специфические защитные антитела встречаются реже, чем у молодых.

Таким образом, у ряда лиц проведение вакцинации не приводит к формированию протективного гуморального иммунитета или он быстро снижается. Вопрос об ограничении профессиональных обязанностей медицинских работников, у которых не произошла сероконверсия (т. е. титры антител не превышают 10 мМЕ/мл), является чрезвычайно сложным

Таблица 4. Генетическая характеристика изолятов ВГВ у вакцинированных лиц

№ образца сыворотки	Генотип	Субгенотип	Субтип	Вариабельность S-гена
223	D	2	ayw3	T118A, M125T
743	D	2	ayw3	T118V, A128V, M125T
923	D	2	ayw3	T118A
959	D	2	ayw2	M125T
357	D	2	ayw2	Нет замен

и его детальное обсуждение с учетом юридических, профессиональных и этических аспектов выходит за рамки данной статьи. На сегодняшний день ВОЗ рекомендует решать этот вопрос индивидуально в каждом конкретном случае, но без профессиональной дискриминации медицинских работников.

Для оценки генетической вариабельности S-гена и поиска мутаций «ускользания» у вакцинированных лиц были отобраны 5 из 8 образцов сывороток крови, положительных по ДНК ВГВ в ПЦР и проведено секвенирование части S-гена, кодирующей главный гидрофильный регион HBsAg изолятов ВГВ (табл. 4). В остальных трех позитивных сыворотках не удалось выделить ДНК ВГВ в количестве, достаточном для секвенирования, из-за низкой вирусной нагрузки.

Согласно полученным данным, изоляты ВГВ, выделенные из сывороток крови медперсонала, имеют генотип D, субгенотип D2 и характерные для генотипа D субтипы ayw3 и ayw2. При исследовании образцов установлено отсутствие в них основной мутации, вызывающей появление «эскейп» мутантов ВГВ — аминокислотной замены G145R. Анализ аминокислотных последовательностей в участке S-гена позволил установить замену в 118 положении у трех сотрудников с субтипом ayw3, причем в изолятах № 223 и № 923 — T118A, в изоляте № 743 — T118V в сочетании с другими заменами (A128V, M125T) на фоне HBsAg-негативного профиля. Замена M125T отмечена в трех изолятах как самостоятельно, так и в сочетании с другими заменами.

В одном образце сыворотки крови, положительном по ДНК ВГВ, мутантный вариант HBsAg выявить не удалось. Подобный набор аминокислотных замен описан G. Kumag и соавт. (2009) при обследовании пациентов со скрытыми формами ГВ [8].

Проведенный корреляционный анализ не позволил установить зависимость частоты выявления маркеров инфицирования ВГВ от вариабельности S-гена. В то же время обращает на себя внимание тот факт, что во всех 4 изолятах с аминокислотными заменами концентрация ДНК ВГВ была низкой и не превышала 10^3 копий/мл, при этом в 2 случаях вирусная нагрузка была 10^2 копий/мл (табл. 5).

Существование мутантов ВГВ, ускользящих от протективного действия иммунной системы на фоне проведенной вакцинации, впервые было зарегистрировано в Италии, впоследствии появились и другие аналогичные сообщения [9]. Наиболее важная и хорошо изученная мутация представляет собой замену аминокислотного остатка глицина в положении 145 на аргинин (G145R), вызванную точечной мутацией (замена G на A) в позиции 587 нуклеотидной последовательности [10]. В наше время проблема мутантов ВГВ стала еще более актуальной, так как массовая вакцинация против ГВ, реализуемая во многих странах мира в рамках национальных программ, и широкое применение химиотерапии способствуют преимущественной селекции и распространению мутантных форм ВГВ, которые не только «ускользают» из-под

Таблица 5. Частота выявления маркеров инфицирования вирусом гепатита В в зависимости от вариабельности S-гена

№	Мутации	HBsAg	Анти- HBs	Анти- HBc	Анти- HBc-IgM	HBе Ag	Анти-НВе	Анти- ВГС	ДНК ВГВ	Генотип	Субтип
923	T118A	+	+	+	+	–	+	–	10^2	D	ayw3
357	Нет замен	+	+	+	–	–	+	–	10^4	D	ayw2
223	T118A M125T	+	–	+	–	–	+	+	10^2	D	ayw3
743	T118V M125T A128V	–	25	+	+	–	+	–	10^3	D	ayw3
959	M125T	+	–	+	–	–	+	–	10^3	D	ayw2

протективного действия поствакцинального иммунитета, но и не выявляются тестами, основанными на иммунодетекции HBsAg [11, 12].

Данные по изучению эффективности гуморального иммунитета у лиц, вакцинированных против ГВ, позволили сделать вывод о недостаточном профилактическом потенциале ряда препаратов. Во-первых, ранее полагали, что наличие общей «консервативной» а-детерминанты HBsAg в вакцинах вызывает универсальный иммунный ответ против всех известных субтипов ВГВ. Впоследствии было показано, что субтипы ауw, adr, adw отличаются по основным позициям аминокислотной последовательности в положениях иммуноактивной а-детерминанты, что реализуется в различном связывании HBsAg с гетерологичными антителами. По мнению R. A. Heijtkink и соавт. (2002), рекомбинантная вакцина против субтипа adw ГВ обеспечивает хорошую, но не оптимальную защиту против гетерологичных штаммов вируса, поскольку изменения в а-детерминанте, связанные с субтипами, могут влиять на связывание вакцинных антител при инфицировании гетерологичными по

субтипу штаммами [13]. В России доминирующим является субтип ауw (от 75 до 95% в разных регионах), что коррелирует с полученными нами данными. Следовательно, вакцинацию следует проводить против ВГВ субтипа ауw, поскольку в противном случае снижается порог инфицирования и увеличивается количество случаев заболевания ГВ среди вакцинированного населения. При исследовании различных рекомбинантных вакцин, присутствующих на отечественном рынке, установлено, что на данный момент только компания ЗАО НПК «Комбиотех» производит вакцину против ГВ субтипа ауw, преобладающего на территории России [14]. Во-вторых, данные о растущей распространенности мутантов, «ускользающих» от вакцинации, ставят на повестку дня вопрос о необходимости создания вакцин нового поколения, способных защищать как от «диких» штаммов, так и от мутантных форм ВГВ. Внедрение в практику здравоохранения подобной поливакцины позволит ограничить появление и распространение мутантов ВГВ и, следовательно, приведет к снижению заболеваемости гепатитом В.

Литература

1. Шахгильдян И. В., Михайлов М. И., Онищенко Г. Г. Парентеральные вирусные гепатиты. ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. М., 2003. 383 с.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2011 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. 316 с.
3. Семенов Т. А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями. Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2011; 1:51-9.
4. Акимкин В. Г., Семенов Т. А., Никитина Г. Ю., Годков М. А., Скворцов С. В. Эпидемиология гепатитов В и С в лечебно-профилактических учреждениях. ООО «Издательский дом «Бионика». М., 2013. 216 с.
5. Семенов Т. А., Ярош Л. В., Баженов А. И., Никитина Г. Ю., Клейменов Д. А., Эльгорт Д. А. и соавт. Эпидемиологическая оценка распространенности «скрытых» форм и HBsAg-мутантов вируса гепатита В у гематологических больных. Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2012; (6):9-14.
6. Ганина А. А. Скрытая ВГВ-инфекция среди доноров крови и лиц, относящихся к группам риска инфицирования. Автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.00.06—Москва. - 2009. - 24 с.
7. Pinato D. J., Rossi D., Minh M. T., et al. Hepatitis B virus and lymphomagenesis: novel insights into an occult relationship. Dig Liver Dis 2012; 44(3):235-8.
8. Kumar G. T., Kazim S. N., Kumar M., et al. Hepatitis B virus genotypes and hepatitis B surface antigen mutations in family contacts of hepatitis B virus infected patients with occult hepatitis B virus infection. J Gastroenterol Hepatol 2009; 24(4):588-98.
9. Alavian S. M., Carman W. F., Jazayeri S. M. HBsAg variants: Diagnostic-escape and diagnostic dilemma. J Clin Virol 2013; 57(3):201-8.
10. Wu C., Deng W., Deng L., et al. Amino acid substitutions at positions 122 and 145 of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) determine the antigenicity and immunogenicity of HBsAg and influence *in vivo* HBsAg clearance. J Virol 2012; 86(8):4658-69.
11. Weber B. Diagnostic impact of the genetic variability of the hepatitis B virus surface antigen gene. J Med Virol 2006; 78(Suppl 1):59-65.
12. Баженов А. И. Совершенствование методов иммунодетекции HBsAg-мутантов вируса гепатита В. Автореф. дисс. канд. мед. наук: 14.00.36 - Москва. - 2009. - 24 с.
13. Heijtkink R. A., Bergen P. V., Melber K., Janowicz Z. A., Osterhaus A. D. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) derived from yeast cells (*Hansenula polymorpha*) used to establish an influence of antigenic subtype (adw2, adr, ауw3) in measuring the immune response after vaccination. Vaccine 2002; 20(17-18):2191-6.
14. Крымский М. А., Крымский Р. М., Буданов М. В., Борисова В. Н. Соответствие вакцин против гепатита В типу вируса, преобладающего на территории Российской Федерации. Биофармацевтический журнал 2010; 2(5):8-15.

Краткие правила для авторов (Полная версия правил находится на сайте www.m-vesti.ru)

Материалы для публикации в журнале следует отправлять по адресу:

127434, г. Москва, а/я 116, редакция журнала «Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия» или (предпочтительно) по электронной почте на адрес iasmac_journal@antibiotic.ru

Требования к представляемым рукописям

Краткое изложение технических требований:

- печатайте все разделы рукописи через 2 интервала между строками;
- все страницы должны быть последовательно пронумерованы;
- представляйте материалы в следующем порядке: титульная страница, резюме и ключевые слова, основной текст, выражения признательности, список литературы, таблицы (каждая на отдельном листе), рисунки (каждый на отдельном листе);
- рукопись должна содержать разрешение на воспроизведение ранее опубликованного материала и на использование иллюстраций, позволяющих опознать изображенных на них людей;
- к рукописи должен быть приложен документ, подтверждающий передачу права на публикацию;
- обязательно укажите контактный адрес с указанием фамилии и полного имени и отчества контактного лица.

Титульная страница должна содержать:

- 1) название статьи;
- 2) инициалы и фамилию каждого автора с указанием учреждения;
- 3) фамилию, имя, отчество и адрес автора, ответственного за ведение переписки, связанной со статьей.

Вторая страница

Вторая страница должна содержать резюме (объемом не более 250 слов).

Под резюме помещается подзаголовок «Ключевые слова», а после него – 3–10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному перекрестному индексированию статьи и могут быть опубликованы вместе с резюме.

Этические вопросы

Если в статье имеется описание биомедицинских исследований на человеке, укажите, соответствовали ли они этическим стандартам Комитета по экспериментам на человеке (входящего в состав учреждения, в котором выполнялась работа, или регионального) или Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 1983 г. Не используйте фамилии, инициалы больных и номера историй болезни, особенно на рисунках или фотографиях.

Статистика

Описывайте статистические методы настолько детально, чтобы читатель, имеющий доступ к исходным данным, мог проверить полученные Вами результаты. По возможности подкрепите полученные данные количественной оценкой и представляйте их с соответствующими показателями ошибок измерения и неопределенности (такими, как доверительные интервалы). Не следует полагаться исключительно на статистическую проверку гипотез, например, на использование значений p , которые не отражают всей полноты информации. Обоснуйте выбор экспериментальных объектов. Приведите детали процесса рандомизации. Опишите, какие методы были применены для обеспечения «слепого» контроля и насколько успешно.

При описании структуры исследования и статистических методов ссылки должны приводиться по возможности на известные руководства и учебники. Укажите, какие компьютерные программы, доступные для широкого пользователя, применялись в Вашей работе.

Список литературы

Нумеруйте ссылки последовательно, в порядке их первого упоминания в тексте. Обозначайте ссылки в тексте, таблицах и подписях к рисункам арабскими цифрами в квадратных скобках. Ссылки, относящиеся только к таблицам или подписям к рисункам, должны быть пронумерованы в соответствии с первым упоминанием в тексте определенной таблицы или рисунка.

Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стилем, принятом в Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>).

В ссылках на статьи, принятые в печать, но еще не опубликованные, нужно указать: «в печати». При этом авторы должны получить письменное разрешение на упоминание таких статей и подтверждение, что они действительно приняты к публикации. Информация из рукописей, представленных, но еще не принятых в печать, должна обозначаться в тексте как «неопубликованные наблюдения» (обязательно наличие согласия автора).

Не допускаются ссылки на «личные сообщения», за исключением тех случаев, когда они содержат важную информацию, которую нельзя получить другими способами.

Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Статьи в журналах

1. Стандартная журнальная статья

Если в статье не более 6 авторов, то указываются все авторы: Vega K.J., Pina I., Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124(11):980-3.

Если в томе сохраняется последовательная нумерация страниц, как это делается в большинстве медицинских журналов, месяц выпуска и номер журнала не указываются.

Если в статье более 6 авторов, перечислите первых 3 автора и добавьте «и соавт. (et al.)»:

Parkin-D.M., Clayton-D., Black-R.J., et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 years follow up. *Br J Cancer* 1996; 73:1006-12.

2. Организация в качестве автора

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:282-4.

3. Автор не указан

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

4. Статья написана не на английском языке

Примечание: НМБ переводит название статьи на английский язык, помещает его в квадратные скобки и добавляет сокращенное название языка статьи.

Отечественные статьи указываются на русском языке.

5. Том с приложением

Shen H.M., Zhang Q.F. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ. Health Perspect* 1994; 102 (Suppl 1):275-82.

6. Номер с приложением

Payne D.K., Sullivan M.D., Massie M.J. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 231 (Suppl 2):89-97.

7. Том, разделенный на части

Ozben T., Nacitarhan S., Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3):303-6.

8. Номер, разделенный на части

Poole G.H., Mills S.M. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994; 107 (986 Pt 1):377-8.

9. Журнал, номера которого не объединяются в тома

Turan I., Wredmark T., Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320):110-4.

10. Журнал без деления на тома или номера

Browell D.A., Lennard T.W. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

11. Нумерация страниц римскими цифрами

Fisher G.A., Sikic B.I. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9(2):XI-XII.

12. *Тип статьи, указываемый при необходимости*
Enzensberger W., Fisher P.A. Metronome in Parkinson's disease [letter]. *Lancet* 1996; 347:1337.
- Clement J., De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [abstract]. *Kidney Int* 1992; 42:1285.
13. *Статья, содержащая опровержение*
Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. In: *Nat Genet* 1994; 6:426-31] *Nat Genet* 1995; 11:104.
14. *Статья с опубликованным впоследствии опровержением*
Liou G.L., Wang M., Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retracted in *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:3127]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:1083-8.
15. *Статья с последующим опубликованием исправленной части или списка опечаток*
Hamlin J.A., Kahn A.M. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [published erratum appears in *West J Med* 1995; 162:278]. *West J Med* 1995; 162:28-31.

Книги и другие монографии

16. *Физические лица в качестве авторов*
Ringsven M.K., Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.
17. *Редакторы, составители в качестве авторов*
Norman I.J., Redfern S.J., editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.
18. *Организация в качестве автора и издателя*
Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.
19. *Глава в книге*
Phillips S.J., Whisnant J.P. Hypertension and stroke. In: Laragh J.H., Brenner B.M., editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.
20. *Материалы конференции*
Kimura J., Shibasaki H., editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.
21. *Доклад на конференции*
Bengtsson S., Solheim B.G. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun K.C., Degoulet P., Piemme T.E., Rienhoff O., editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North Holland; 1992. p. 1561-5.
22. *Научный или технический отчет*
Изданный финансирующей организацией:
Smith P., Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSI-GOEI69200860.
Изданный исполняющей организацией:
Field M.J., Tranquada R.E., Feasley J.C., editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: ANCP282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.
23. *Диссертация*
Kaplan S.J. Posthospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.
24. *Патент*
Larsen C.E., Trip R., Johnson C.R., inventors; No-voste Corporation, assignee. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Другие опубликованные материалы

25. *Газетная статья*
Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50 000 admissions annually. *The Washington Post* 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).
26. *Аудио- и видеоматериалы*
HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.
27. *Юридические материалы*
Публичное право:
Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

- Законопроект:*
Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1st Sess. (1995).
- Кодекс Федеральных правил:*
Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.25.7 (1995).
- Материалы слушания:*
Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms:
Hearings Before the subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm. on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).
28. *Карта*
North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [demographic map]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.
29. *Библия*
The Holy Bible. King James Version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.
30. *Словари и аналогичные издания*
Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119-20.
31. *Классическая литература*
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Неопубликованные материалы

32. *В печати*
Примечание: вместо формулировки «в печати» НМБ предпочитает формулировку «готовится к выходу», так как не все статьи будут напечатаны.
Leshner A.I. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Engl J Med*. In press 1996.

Электронные материалы

33. *Журнальная статья в электронном формате*
Morse S.S. Factors in the emergence of infectious disease. *Emerg Infect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>
34. *Монография в электронном формате*
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD ROM]. Reeves J.P.T., Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.
35. *Компьютерный файл*
Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Таблицы и рисунки

- Печатайте каждую таблицу/рисунок на отдельном листе.
Все таблицы/рисунки должны быть озаглавлены и пронумерованы в порядке первого упоминания в тексте. Все разъяснения следует помещать в примечаниях (сносках), а не в названии таблицы/рисунка.
Убедитесь, что все таблицы/рисунки упомянуты в тексте.
Если Вы используете данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, полностью приведите источник или получите на это разрешение.

Единицы измерения

- Измерения длины, высоты, ширины и объема должны представляться в метрических единицах (метр, килограмм, литр) или в их десятичных долях.
Температуру следует приводить в градусах Цельсия, а артериальное давление – в миллиметрах ртутного столба.
Все гематологические и биохимические показатели должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – SI).

Сокращения и символы

- Используйте стандартные сокращения (аббревиатуры). Не применяйте сокращения в названии статьи и в резюме. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому применению этого сокращения в тексте (если только это не стандартная единица измерения).