

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной  
химиотерапии

Научно-исследовательский  
институт антимикробной  
химиотерапии  
Смоленской государственной  
медицинской академии

**Учредитель:**

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной химиотерапии

**Издатель:**

Издательский дом «М-Вести»

Журнал зарегистрирован  
Комитетом РФ по печати  
30.09.1999 г. (№ 019273)  
Тираж 5000 экз.

**Подписные индексы:**

**38290** – для индивидуальных  
подписчиков

**38041** – для предприятий и  
организаций (по объединенному  
каталогу "Подписка-2000", том I)

**КМ 1003** – для индивидуальных  
подписчиков

**КМ 1004** – для предприятий и  
организаций (по Российскому  
медицинскому каталогу)

**Адрес для корреспонденции:**

125284, г. Москва, а/я 74,  
редакция журнала  
"Клиническая микробиология  
и антимикробная химиотерапия"  
Тел./факс: (095)263-5372.

**Адрес электронной почты:**

cmac@cliph.keytown.com

Электронная версия журнала  
находится в Интернет  
на веб-сайтах  
<http://www.mtu-net.ru/rmvesti>  
<http://www.microbiology.ru/cmasc>

Присланные в редакцию статьи  
рецензируются

Ответственность за достоверность  
рекламных публикаций несут  
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал  
обязательна

## **Содержание**

### **Болезни и возбудители**

- И.В. Смирнов – Возбудители бактериальных инфекций человека .....4
- И.А. Завалишин, И.Е. Шитикова,  
Т.Д. Жученко – Прионы и прионные болезни .....12
- И.С. Тартаковский – Листерии: роль в инфекционной патологии  
человека и лабораторная диагностика .....20
- В.П. Тюрин, Ю.Г. Тихонов – Антибактериальная терапия инфекционного  
эндокардита .....31
- А. Хопельман, С. Гирлингс – Инфекции мочевыводящих путей  
при сахарном диабете .....40
- Р.Дж. Рубин, К.А. Харрингтон, А. Пун,  
К. Дитрих, Дж.А. Грин, А. Моидуддин – Экономические потери,  
связанные с инфекциями, вызванными *Staphylococcus aureus* .....47

### **Лекции**

- М. Бенниш – Бактериальные диареи у детей: синдромная  
или этиотропная терапия? .....57
- А.Н. Маянский – Дисбактериоз: иллюзии и реальность .....61

### **Антибиотикорезистентность**

- Л.С. Страчунский, О.И. Кречикова, А.С. Иванов,  
М.М. Суворов, М.В. Сухорукова – Антимикробная резистентность  
шигелл в Смоленской области в 1998–1999 годах .....65

### **Лабораторная диагностика**

- Н.Н. Носик, В.М. Стаханова – Лабораторная диагностика  
вирусных инфекций .....70
- М.А. Середкина, О.И. Кречикова, М.В. Сухорукова – Микробиологическое  
исследование аутопсийного материала и интерпретация его результатов ...79

### **Методические рекомендации для клиницистов**

- Правила дозирования антибиотиков у пациентов с нарушенной  
функцией почек .....86

### **Методические рекомендации для микробиологов**

- Выделение, идентификация и определение чувствительности  
к антибиотикам *Haemophilus influenzae* .....93

### **Корреспонденция**

- Г.Л. Риджуэй – Насколько актуальна резистентность  
*Chlamydia trachomatis* к антибиотикам .....110

**Главный редактор:**  
Синопальников А.И.

**Исполнительный директор:**  
Пискунов Г.Г.

**Редакторы:**

Зубков М.Н.	Москва
Козлов Р.С.	Смоленск
Лобзин Ю.В.	С.-Петербург
Руднов В.А.	Екатеринбург
Сидоренко С.В.	Москва
Страчунский Л.С.	Смоленск
Фирсов А.А.	Москва

**Ответственный секретарь:** Дехнич А.В.

**Редакционная коллегия:**

Богомильский М.Р.	Москва
Евстропов А.Н.	Новосибирск
Илькович М.М.	С.-Петербург
Каганов Б.С.	Москва
Катосова Л.К.	Москва
Малеев В.В.	Москва
Падейская Е.Н.	Москва
Рокицкий М.Р.	Казань
Самсыгина Г.А.	Москва
Скрипченко Н.В.	С.-Петербург
Тартаковский И.С.	Москва
Тец В.В.	С.-Петербург
Шляпников С.А.	С.-Петербург

**Международный редакционный совет:**

Акар Ж.	Париж, Франция
Берган Т.	Осло, Норвегия
Бенниш М.	Бостон, США
Березняков И.	Харьков, Украина
Вильямс Д.	Лондон, Великобритания
Гриневич В.	Варшава, Польша
Гарау Д.	Барселона, Испания
Дзюблик А.	Киев, Украина
Корнаглия Д.	Верона, Италия
Леви С.	Бостон, США
Лернер С.	Детройт, США
Лоде Х.	Берлин, Германия
Миттермайер Х.	Линц, Австрия
Набер К.	Мюнхен, Германия
Норд К.	Худинге, Швеция
Рубинштейн Э.	Тель-Авив, Израиль
Семенов В.	Витебск, Белоруссия

**Редактор номера:** Ляшенко Н.И.

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

**Production Manager:**  
Piskunov G.G.

**Editors:**

Zubkov M.N.	Moscow
Kozlov R.S.	Smolensk
Lobzin J.V.	S.-Petersburg
Rudnov V.A.	Ekaterinburg
Sidorenko S.V.	Moscow
Stratchounski L.S.	Smolensk
Firsov A.A.	Moscow

**Editorial Manager** Dekhnitch A.V.

**Editorial Board:**

Bogomilski M.R.	Moscow
Evstropov A.N.	Novosibirsk
Ilkovitch M.M.	S.-Petersburg
Kaganov B.S.	Moscow
Katosova L.K.	Moscow
Maleev V.V.	Moscow
Padejskaja E.N.	Moscow
Rokitecki M.R.	Kazan
Samsigina G.A.	Moscow
Skriptchenko N.V.	S.-Petersburg
Tartakovski I.S.	Moscow
Tetz V.V.	S.-Petersburg
Shliapnikov S.A.	S.-Petersburg

**International Editorial Council:**

Acar J.	Paris, France
Bergan T.	Oslo, Norway
Bennish M.	Boston, USA
Bereznakov I.	Charkov, Ukraine
Williams J.	London, UK
Hryniewicz W.	Warsaw, Poland
Garau J.	Barcelona, Spain
Dzublik A.	Kiev, Ukraine
Cornaglia G.	Verona, Italy
Levy S.	Boston, USA
Lerner S.	Detroit, USA
Lode H.	Berlin, Germany
Mittermayer H.	Linz, Austria
Naber K.	Munich, Germany
Nord K.	Hudingge, Sweden
Rubinstein E.	Tel-Aviv, Israel
Semenov V.	Vitebsk, Byelorussia

**Editor of Issue** Ljashenko N.I.

## **Contents**

---

### **Diseases and Pathogens**

- I.V. Smirnov* – Human Bacterial Pathogens .....4  
*I.A. Zavalishin, I.E. Schitikova, T.D. Zhuchenko* – Prions and Prion Diseases .....12  
*I.S. Tartakovski* – Listeriae – The Role in Infectious Diseases  
and Laboratory Diagnostics .....20  
*V.P. Tjurin, J.G. Tichonov* – Antibacterial Therapy of Infectious Endocarditis .....31  
*A.I.M. Hoepelman, S.E. Geerlings* – Urinary Tract Infections in Patients  
with Diabetes Mellitus .....40  
*R.J. Rubin, C.A. Harrington, A. Poon, K. Dietrich,  
J.A. Greene, A. Moiduddin* – The Economic Impact of *Staphylococcus  
aureus* Infection in New-York City Hospitals .....47

### **Lectures**

- M. Bennish* – Bacterial Diarrhea in Children: Syndromal  
or Ethnological Therapy? .....57  
*A.N. Majanski* – Disbacteriosis: Illusion and Reality .....61

### **Antimicrobial Resistance**

- L.S. Stratchounski, O.I. Kretchikova, A.S. Ivanov,  
M.M. Suvorov, M.V. Sukhorukova* – Antimicrobial Resistance of *Shigellae*  
in Smolensk Region During 1998–1999 .....65

### **Laboratory Diagnostics**

- N.N. Nosik, V.M. Stachanova* – Laboratory Diagnosis of Viral Infections .....70  
*M.A. Seredkina, O.I. Kretchikova, M.V. Sukhorukova* – Post-Mortem  
Microbiological Analysis and Interpretation of Its Results .....79

### **Guideline for Clinicians**

- Dosage of Antibiotics in Patients With Renal Impairment .....86

### **Guideline for Microbiologists**

- Isolation, Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing  
of *Haemophilus influenzae* .....93

### **Correspondance**

- G.L. Ridgway* – Antimicrobial Resistance of *Chlamydia trachomatis* .....110

УДК 579.06

# Возбудители бактериальных инфекций человека

И.В. Смирнов

*Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова*

Расширение спектра возбудителей бактериальных инфекций человека, многообразие их свойств и неодинаковое медицинское значение требуют углубления знаний о бактериях, участвующих в развитии инфекционных процессов. Эти знания необходимы для формирования научно обоснованной врачебной тактики при классических и оппортунистических инфекциях, особенно на начальном (долабораторном) и конечном (интерпретация) этапах микробиологической диагностики, а также при выборе средств этиотропного лечения и специфической профилактики. В связи с этим актуальным представля-

ется ознакомление врачей и другого медицинского персонала с особенностями возбудителей современных бактериальных инфекций, принципами их классификации и номенклатуры.

Представленные материалы содержат сведения о систематическом положении возбудителей бактериальных инфекций, их патогенности и вирулентности в свете практических вопросов, определяющих тактику диагностики, лечения и профилактики бактериальных инфекций.

**Ключевые слова:** бактерии, инфекции, классификация, таксономия.

## Human Bacterial Pathogens

I.V. Smirnov

*Ryazan State Medical University named under I.P.Pavlov*

Extension of spectrum of human bacterial pathogens as well as variety of their characteristics and unequal medical significance demand further study in order to extend the information on bacterial infections. This knowledge is necessary for organization of prudent tactics in the treatment of classical and opportunistic infections especially at the initial (pre-laboratory) and final (interpretation) microbiological diagnostic stages as well as for selection of means for etiological treatment and specific prophylaxis. Thus it seems very important

for physicians and other medical staff to be aware of particular features of human bacterial pathogens and their classification.

The material presented includes the data on systemic position of human bacterial pathogens, their virulence and gives a practical approach to diagnostics, treatment and prophylaxis of bacterial infections.

**Key words:** bacteria, infections, classification, taxonomy.

---

Контактный адрес:  
Смирнов Игорь Владимирович  
390048, Рязань, ул. Зубковой, д. 22/2, кв. 29.  
Кафедра микробиологии Рязанского ГМУ  
Тел.: (0912) 77-3820  
Эл. почта: i sm@mail.ru

## Введение

Прогресс в области клинической микробиологии и инфектологии в последние десятилетия расширил наши представления об известных возбудителях инфекционных болезней и позволил выявить ряд ранее неизвестных инфекций человека.

В связи с существенным расширением спектра возбудителей и нередко пересмотром роли некото-

рых из них в возникновении, развитии и распространении инфекций для практики все более актуальным становится вопрос о применении адекватных методов и средств выделения и точной идентификации возбудителя конкретного заболевания, а также адекватных средств этиотропной терапии и профилактики.

Успех классических методов обнаружения возбудителя инфекции зависит от правильного выбора вида и количества исследуемого материала, времени и техники его отбора, условий транспортирования, обработки, подбора методов и средств выделения и идентификации возбудителя. В каждом конкретном случае они определяются свойствами возбудителя, характером и стадией инфекции.

Следует подчеркнуть, что конечный результат исследования зависит не только (а иногда и не столько) от компетентности и адекватных действий микробиолога, но и от грамотности действий тех специалистов, которые имеют отношение к исследуемому материалу на долабораторном этапе.

Не менее важное значение имеет правильная интерпретация врачами результатов микробиологического анализа, что также требует достаточных знаний о свойствах возбудителей инфекций человека. Многообразие возбудителей бактериальных инфекций не должно быть препятствием на пути рационального контроля за болезнями этой группы.

### Принципы классификации бактерий

Несмотря на широкую распространенность вирусных инфекций, бактерии остаются наиболее часто распознаваемыми этиологическими агентами инфекционных заболеваний. В связи с этим представляются важными вопросы таксономии бактерий – их описания, названия и идентификации.

Взаимосвязь этих понятий схематично представлена на рис. 1 [1].

Биологическая классификация бактерий неоднократно пересматривалась. Но лишь современная классификация, представленная в Руководстве по систематике бактерий Берджи, содержит ясные указания о медицинском значении представителей конкретных таксонов [2].

Бактерии представляют по сравнению с вирусами более высокий (клеточный) уровень организации. Они входят в надцарство *прокариотических* (одноклеточных, "доядерных") микроорганизмов, для которых характерны:

- геном в виде кольцевидно замкнутой двухспиральной молекулы ДНК, лежащей непосредственно в цитоплазме клетки;
- амитотическое бинарное деление;
- размеры в пределах 0,3–2 мкм;

- рибосомы 70S;
- отсутствие митохондрий, эндоплазматической сети, комплекса Гольджи и хлоропластов;
- наличие пептидогликана в клеточной стенке;
- широкий спектр вариантов метаболизма и выраженные адаптационные свойства.

Некоторые виды образуют покоящуюся форму – эндоспору (спору).

Основной определения систематического положения являются: морфология и тинкториальные свойства клеток (форма, размеры, взаимное расположение, спорообразование, окраска по методу Грама и другими методами), культуральные, биохимические, антигенные характеристики, а также чувствительность к различным антимикробным воздействиям и степень генетического родства с представителями других таксонов (по процентному соотношению содержания гуанина и цитозина в геноме, гомологии нуклеиновых кислот и способности к обмену генетической информацией).

По уровню биологической организации бактерии стоят ниже *эукариотических* организмов (грибов, простейших, гельминтов), для которых характерно оформленное ядро, набор линейных хромо-

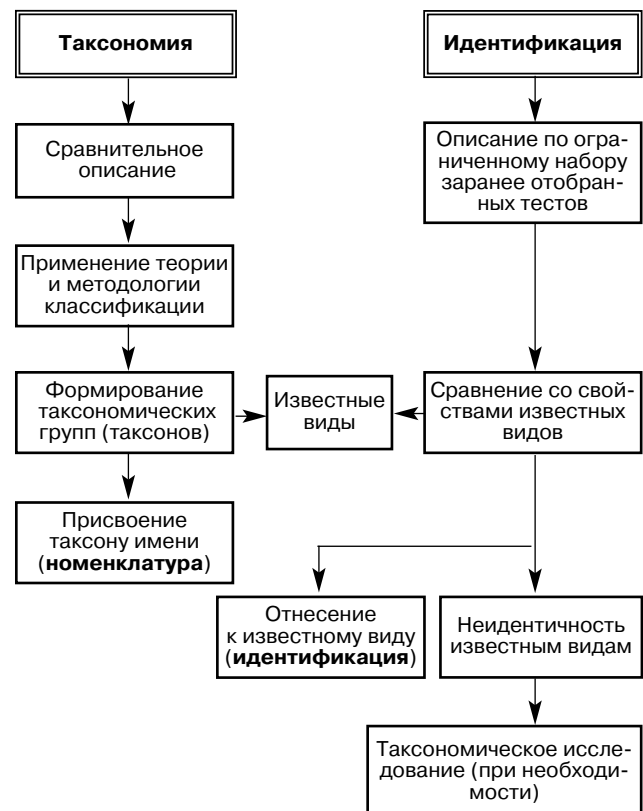


Рис. 1. Взаимосвязь между описанием, классификацией и номенклатурой в таксономии прокариотических организмов [1]

сом с диплоидным набором генов, митотическое деление, половое размножение, сопровождающееся мейозом и кроссинговером, размеры более 2 мкм, рибосомы 80S, митохондрии, эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи, отсутствие эндоспор [3].

Несмотря на введение новых методов таксономических исследований, вопрос о полной и всеобъемлющей классификации бактерий остается до конца нерешенным. Даже истинное родство, выявленное по гомологии нуклеиновых кислот, свидетельствует лишь о наличии общего предка и может быть оспоренным.

Наибольшее практическое значение имеют схемы идентификации, основанные на морфофизиологических, тинкториальных, метаболических и других легко выявляемых свойствах бактерий (рис. 2) [4]. Определение этих свойств в ходе диагностики позволяет не только выделять и идентифицировать чистые культуры, но и дифференцировать их с представителями сопутствующей микрофлоры, не связанными с заболеванием. Более того, даже начальные этапы исследования могут дать ценную информацию для выбора средств этиотропной терапии.

**Морфология и тинкториальные свойства.** По морфологическому принципу бактерии разделяют на *шаровидные* (кокки), *палочковидные* (овоидные, коккобациллы, прямые, изогнутые, вибрионы, с закругленными, заостренными, “обрубленными” концами, ветвящиеся, нити) и *извитые* формы (спиралевидные с одним или более завитками). В зависимости от расположения в микропрепарате различают одиночные, попарно расположенные клетки (диплококки), в виде тетрад (тетракокки), цепочек

(стрептококки, стрептобациллы), пакетов (сарцины), беспорядочных скоплений (стафилококки).

*Тинкториальными* свойствами называют способность воспринимать красители и характерно окрашиваться. Наибольшее значение для идентификации имеет использование сложных (дифференцирующих) методов, в первую очередь метода Грама, позволяющего различить грамположительные и грамотрицательные бактерии. При окраске этим методом грамположительные бактерии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные – в бордово-красный, что отражает различия в строении клеточных стенок бактерий двух групп.

На основании результатов микроскопии окрашенных по методу Грама препаратов из патологического материала можно ориентировочно судить о составе микрофлоры и степени микробной обсемененности материала, что позволяет выбрать более адекватные методы и средства диагностики и начальной антимикробной терапии. Так, например, при обнаружении стрептококков препаратом выбора должен быть пенициллин [5]. Результаты параллельного выделения и идентификации возбудителя с дальнейшим определением чувствительности уточняют сделанный выбор.

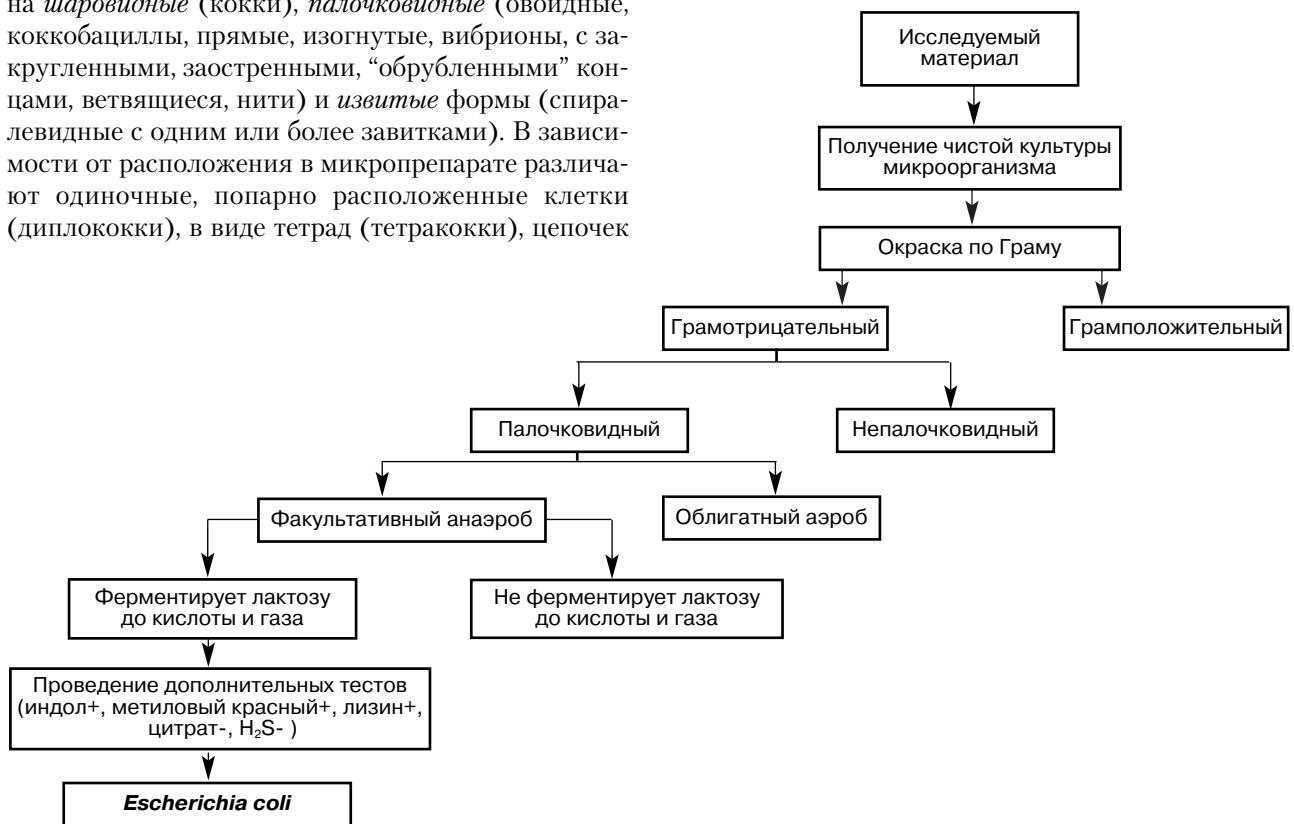


Рис. 2. Пример идентификации неизвестного микроорганизма классическими микробиологическими методами [4]

Из других методов часто используют окраску по Цилю–Нильсену, позволяющую выявить кислотоустойчивые формы бактерии (*Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp.) и споры (покоящиеся формы). Например, микобактерии туберкулеза окрашиваются в красный цвет, а некислотоустойчивые клетки – в синий.

По наличию особых (необязательных) структурных элементов различают бактерии:

- *спорообразующие* (*Clostridia* spp., *Bacillus* spp.) и *аспорогенные* (энтеробактерии и др.);
- *капсулированные* (*Klebsiella* spp., *S. pneumoniae*, *B. anthracis* и др.);
- *бескапсульные* (*Vibrio* spp., *Brucella* spp. и др.);
- *подвижные* (образующие жгутики), например многие грамотрицательные палочки;
- *неподвижные* (многие кокки).

**Метаболические свойства.** Особенности конструкторного и энергетического метаболизма бактерий позволяют выделить несколько групп по типам питания и биологического окисления (дыхания). Различают бактерии:

- по типам усвоения углерода – *гетеротрофы* (используют углерод органических соединений) и *аутотрофы* (используют углерод неорганических соединений);
- по типам дыхания – *аэробы* (растут на воздухе), *анаэробы* (растут в бескислородной среде), *факультативные анаэробы* (растут как в отсутствие, так и в присутствии кислорода), *микроаэрофилы* (растут при пониженном парциальном давлении кислорода), *капнофилы* (растут при повышенном парциальном давлении углекислого газа).

Микроорганизмы, использующие для получения энергии в качестве источника электронов органические соединения, называют *хемоорганотрофами*, неорганические соединения – *хемолитотрофами*.

Поскольку расщепление глюкозы – универсального источника энергии и органоенов – у бактерий может происходить разными путями, выделяют *ферментирующие* и *неферментирующие* бактерии. Для первых характерен *бродильный* тип метаболизма (перенос электронов в бескислородной среде от источника энергии только на органические соединения, синтезированные клеткой), для вторых – *окислительный* (перенос электронов через цепь "дыхательных" ферментов на кислород с образованием перекисных соединений).

Среди патогенных для человека преобладают микроорганизмы с окислительным или окислительным и бродильным типом метаболизма (аэробы и факультативные анаэробы соответственно). Большинство клинически значимых видов относят

к *мезофилам* – для них температурный оптимум роста находится в пределах 25–40°C (в отличие от *психрофилов* и *термофилов*, имеющих соответственно более низкие или более высокие значения оптимума).

По способности расти на простых (универсальных) питательных средах (по типу мясопептонного бульона или агара Хоттингера) различают бактерии *неприхотливые* (*Staphylococcus* spp., энтеробактерии и др.) и *прихотливые* (*Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp. и др.).

Прихотливые бактерии могут расти только в присутствии обогащающих среду добавок (крови, ее сыворотки, дрожжевого экстракта и др.), содержащих *факторы роста* – гемин, витамины, аминокислоты, нуклеотиды, липиды. Бактерии, зависящие от тех или иных факторов роста и неспособные синтезировать какие-либо соединения из глюкозы и солей аммония как единственных источников углерода и азота, называют *ауксотрофами*. Ауксотрофность характерна для многих патогенных бактерий.

**Антигенная структура.** По локализации, химической природе и физико-химическим свойствам у бактерий различают антигены нескольких типов:

- термостабильный *O-антиген (соматический)* представлен боковыми полисахаридными цепями липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий;
- *K-антиген (капсульный, или оболочечный)* – термостабильными полисахаридами капсулы или термолабильными белками наружной мембраны грамотрицательных бактерий, а также клеточной стенки и капсулы грамположительных бактерий;
- *H-антиген (жгутиковый)* – термолабильным белком, флагеллином жгутиков.

Различия в строении указанных антигенов определяют принадлежность к тому или иному антигенному (серологическому) варианту микробного вида. Так, внутри вида *E. coli* насчитывают десятки серогрупп и сероваров, которые имеют специальные обозначения, например *E. coli O157:H7* (возбудитель геморрагического колита с гемолитико-уремическим синдромом).

**Патогенность и вирулентность.** Как и у других микроорганизмов, бактериальные виды подразделяют на *безусловно-патогенные* (возбудители классических инфекций), *условно-патогенные* или *потенциально патогенные* (возбудители оппортунистических инфекций) и непатогенные для человека (не имеют медицинского значения).

Если первые не встречаются в составе микрофлоры здорового человека и при попадании в его организм, как правило, вызывают развитие инфек-

Таблица 1. Основные патогенные и условно-патогенные для человека бактерии [2, 6, 9, 10, 11, 12]

Группа (категория)	Таксоны
1(I) Спирохеты	Роды <i>Treponema</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Leptospira</i>
2(I) Аэробные и микроаэрофильные, подвижные, спиральные и изогнутые грамотрицательные бактерии	Роды <i>Campylobacter</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>Spirillum</i> , <i>Wolinella</i>
4(I) Грамотрицательные, аэробные и микроаэрофильные палочки и кокки	Роды <i>Achromobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Afipia</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Bartonella</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Bruceella*</i> , <i>Burkholderia*</i> , <i>Flavimonas</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Francisella*</i> , <i>Kingella</i> , <i>Legionella</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Morococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i>
5(I) Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки: семейства энтеробактерий (1), вибрионов (2), пастерелл (3) и не отнесенные к ним роды (4)	1. Роды <i>Cedecea</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Ewingella</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Kluuyvera</i> , <i>Leclercia</i> , <i>Morganella</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Shigella</i> , <i>Tatumella</i> , <i>Yersinia*</i> 2. Роды <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> , <i>Vibrio*</i> 3. Роды <i>Actinobacillus</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Pasteurella</i> 4. Роды <i>Calymmatobacterium</i> , <i>Capnocytophaga</i> , <i>Cardiobacterium</i> , <i>Chromobacterium</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Streptobacillus</i>
6(I) Грамотрицательные анаэробные прямые, изогнутые и спиральные бактерии	Роды <i>Anaerobiospirillum</i> , <i>Anaerorhabdus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Bilophila</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i>
8(I) Анаэробные грамотрицательные кокки	Род <i>Veillonella</i>
9(I) Риккетсии и хламидии: семейства риккетсий (1) и хламидий (2)	1. Роды <i>Coxiella*</i> , <i>Ehrlichia</i> , <i>Rickettsia*</i> 2. Роды <i>Chlamydia</i> , <i>Chlamydophila</i>
17(II) Грамположительные кокки	Роды <i>Aerococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Gemella</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>
18(II) Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры	Роды <i>Bacillus*</i> , <i>Clostridium</i>
19(II) Не образующие спор грамположительные палочки правильной формы	Роды <i>Erysipelothrix</i> , <i>Listeria</i>
20(II) Не образующие спор грамположительные палочки неправильной формы	Роды <i>Actinomyces</i> , <i>Arcanobacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Rothia</i>
21(II) Микобактерии	Род <i>Mycobacterium</i>
22, 25, 26(II) Актиномицеты	Роды <i>Actinomadura</i> , <i>Gordona</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Oerskovia</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Tsakamurella</i>
30(III) Микоплазмы (или молликуты)	Роды <i>Mycoplasma</i> , <i>Ureaplasma</i>

**Примечание.** Подчеркнуты роды, содержащие один или несколько безусловно-патогенных видов (вариантов).

\* Отмечены роды, в состав которых входит один или несколько возбудителей особо опасных инфекций

ции, то вторые часто обнаруживаются у здоровых людей и вызывают инфекционный процесс лишь при особых условиях (дефект или общее снижение антиинфекционной резистентности организма, массивность заражения и др.).

По степени опасности для человека и общества в нашей стране бактерии относят к 4 группам (в порядке убывания опасности):

- I – возбудитель чумы;
- II – возбудители холеры, сибирской язвы, бруцеллеза и других "особо опасных инфекций";
- III – возбудители туберкулеза, дифтерии, брюшного тифа и других классических инфекций;
- IV – стафилококки, клостридии, протей и другие возбудители оппортунистических инфекций [6].

По мере накопления соответствующей информации принадлежность видов к той или иной группе может пересматриваться.

В зависимости от фенотипической выраженности патогенного потенциала конкретный представитель (штамм, клон, вариант) патогенного или условно-патогенного бактериального вида может быть высоко-, умеренно- или маловирулентным.

Вирулентность складывается из патогенных свойств штамма: адгезивности, инвазивности, персистентных характеристик, цитотоксичности, токсигенности и других свойств. Изменение вирулентности штамма может быть следствием приобретения или утраты факторов патогенности: капсулы, белков адгезинов и инвазинов, токсинов и других структур и веществ микроба, обеспечивающих воз-



Таблица 2. Частота обнаружения различных бактериальных видов в материале из различных биотопов тела человека и их этиологическое значение [9, с дополнениями]

Бактерии	Частота обнаружения и этиологическое значение*					
	РТ	ЖКТ	МПП	КР	Г	У
	2	3	4	5	6	7
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>					С 1	С 2
<i>Acidaminococcus fermentans</i>		С 1				
<i>Acinetobacter</i> spp.	В 2		В 2	В 2	В 2	
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>					С 2	
<i>Actinomadura madurae</i>				С 2		
<i>Actinomyces</i> spp.	А 2		В 2	В 2	С 2	
<i>Aerococcus viridans</i>	В 1					
<i>Aeromonas</i> spp.		В 2		В 2		
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	С 2			С 2		
<i>Alcaligenes</i> spp.		В 2	С 2			
<i>Alloiococcus otitidis</i>						С 2
<i>Anaerobiospirillum succiniproducens</i>		С 2				
<i>Arachnia propionica</i>	В 1					
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	В 3			С 2		
<i>Azotobacter</i> spp.					С 1	
<i>Bacillus anthracis</i>	С 3	С 3		С 3		
<i>Bacillus</i> spp.	В 1	В 2	С 1	В 1	В 2	
<i>Bacteroides</i> spp.	А 2	А 2	А 2	В 2	С 2	С 2
<i>Bartonella</i> spp.				С 3		
<i>Bifidobacterium</i> spp.	В 1	В 1	С 1	В 2	С 2	С 2
<i>Bilophila wadsworthia</i>			С 2			
<i>Bordetella pertussis</i>	В 3					
<i>Borrelia</i> spp.	В 1					
<i>Brucella</i> spp.	С 3				С 3	
<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>			С 3			
<i>Campylobacter</i> spp.	В 1	В 3	С 2			
<i>Carnocytophaga</i> spp.	В 2					
<i>Cardiobacterium hominis</i>	В 1					
<i>Chlamydia psittaci</i>	В 3		В 2			
<i>Chlamidia trachomatis</i>	С 3		В 3		В 3	
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	В 3					
<i>Clostridium</i> spp.	В 2	А 2	А 2	В 2	С 2	С 2
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> (токсигенные)	С 3			С 3	С 3	С 3
<i>Corynebacterium</i> spp.	В 1	В 1	В 2	В 2	В 2	С 1
<i>Coxiella burnetii</i>	С 3					
<i>Eikenella corrodens</i>	В 2			С 3		
<i>Enterobacteriaceae</i>	В 2	А 2	А 2	В 2	В 2	В 2
<i>Enterococcus</i> spp.	С 1	А 2	В 2	В 2		
<i>Erysipelothrix</i> spp.				С 3		
<i>Eubacterium</i> spp.		А 1		В 2		С 1
<i>Flavobacterium</i> spp.	С 2		С 2	В 2		
<i>Francisella tularensis</i>	С 3				С 3	

никновение и развитие инфекции. На практике при решении вопроса об этиологической или эпидемиологической значимости того или иного штамма нередко приходится учитывать выраженность его патогенных свойств, наличие конкретных факторов патогенности и/или соответствующих генетических детерминант (например, токсигенные и нетоксигенные дифтерийные палочки, высоко- и низкоинвазивные иерсинии).

### Систематизация бактерий в Определителе Берджи

Принципы идентификации, изложенные в Определителе бактерий Берджи, 9-е издание которого вышло в 1994 г. [7], нашли наибольшее распространение в практической бактериологии. В соответствии с ними (на основе строения клеточной стенки и отношения к окраске по Граму) бактерии разделены на 35 групп, входящих в 4 категории:

I – грамотрицательные эубактерии;

II – грамположительные эубактерии;

III – эубактерии, лишенные клеточной стенки – микоплазмы (*Mollicutes*);

IV – археобактерии (*Archaea*).

Патогенные для человека виды относятся к эубактериям (I–III). В табл. 1 приведены названия 14 групп, к которым относят бактерии, имеющие медицинское значение [2, 7, 8, 9]. Далеко не все представители перечисленных родов имеют медицинское значение. Поэтому на практике необходимо учитывать не только родо-

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
<i>Fusobacterium</i> spp.	A 2	A 2	B 1	B 2	C 2	C 2
<i>Gardnerella vaginalis</i>			B 2			
<i>Gemella</i> spp.	B 1					
<i>Haemophilus influenzae</i>	A 3				C 3	B 3
<i>Haemophilus influenzae</i> биовар III ( <i>H. aegyptius</i> )					B 3	
<i>Haemophilus ducreyi</i>			B 3			
<i>Haemophilus</i> spp.	A 2					
<i>Helicobacter pylori</i>		B 3				
<i>Kingella</i> spp.	C 2					
<i>Lactobacillus</i> spp.	B 1	A 1	A 1		C 2	
<i>Legionella</i> spp.	B 2					
<i>Leptospira interrogans</i>			C 3			
<i>Leptospira</i> spp.				C 3	C 3	
<i>Leptotrichia buccalis</i>	B 1					
<i>Listeria</i> spp.			C 2	C 2		
<i>Micrococcus</i> spp.	A 1			A 1		
<i>Mobiluncus</i> spp.			B 2			
<i>Moraxella catarrhalis</i>	B 2		C 1		B 1	B 2
<i>Moraxella</i> spp.	B 1		B 1	C 2	B 2	
<i>Mycobacterium</i> spp.	B 2	B 2	B 2	B 2	C 2	C 2
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	B 3				C 3	
<i>Mycoplasma hominis</i>			B 2			
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	B 2					
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	C 3	C 3	B 3		B 3	
<i>Neisseria meningitidis</i>	B 2		C 3		B 3	
<i>Neisseria</i> spp.	A 1	B 1	B 1		B 1	
<i>Nocardia</i> spp.	B 3			C 2	C 3	
<i>Pasteurella</i> spp.	C 2			C 2		
<i>Pediococcus</i> spp.		C 1				
<i>Peptococcus</i> spp.	B 2	A 1	B 2	C 2		C 2
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	A 2	B 2	B 1	B 2	C 2	C 2
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		C 2		C 2		
<i>Porphyromonas</i> spp.	A 2	A 2	A 2	B 2		
<i>Prevotella</i> spp.	A 2	A 2	A 2	B 2		
<i>Propionibacterium</i> spp.			B 1	A 2	B 2	B 2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B 2		B 2	B 2	B 2	B 2
<i>Pseudomonas</i> spp.		B 2	B 3	B 2	B 2	
<i>Rhodococcus</i> spp.	C 2			C 2		
<i>Rickettsia</i> spp.	C 3			B 3		
<i>Rothia dentocariosa</i>	B 1					
<i>Ruminococcus bromii</i>		C 1				
<i>Selenomonas</i> spp.	C 1	B 1				
<i>Spirillum minus</i>				C 3		
<i>Staphylococcus</i> spp.	A 2	B 2	A 2	A 2	A 2	B 2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	B 2		C 2	B 2		
<i>Stomatococcus mucilaginosus</i>	B 1					
<i>Streptobacillus moniliformis</i>				C 2		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	B 2				C 3	B 3

вую и видовую принадлежность выделенного микроорганизма, но в ряде случаев и патогенный потенциал штамма (например, принадлежность *E. coli* к определенному патогенному варианту), локализацию его в организме и степень обсеменности им клинического материала.

В связи с этим приводим данные о частоте обнаружения бактериальных видов в различных биотопах организма человека и их этиологической значимости при соответствующих локальных инфекциях (табл. 2) [9]. Конечно, эти сведения будут уточняться по мере накопления клинических данных и результатов таксономических исследований.

В отношении системных инфекций следует отметить, что у здоровых лиц кровь, ликвор и внутренние органы, не сообщающиеся с внешней средой, обычно стерильны, и обнаружение тех или иных бактерий в соответствующем клиническом материале обычно считается клинически значимым. Несмотря на отсутствие общей закономерности в присутствии тех или иных бактериальных видов, есть наблюдения, свидетельствующие о преобладании в указанных материалах определенных микроорганизмов при различных клинических ситуациях.

Так, из крови при лихорадке неясного происхождения нередко высевают сальмонеллы, пневмококки, бруцеллы, менингококки, пастереллы, листерии, при бактериальных эндокардитах – зеленящие стрептококки, энте-

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
<i>Streptococcus pyogenes</i>	В 2			В 3		
<i>Streptococcus</i> spp.	А 2	В 2	В 2	В 2	В 2	В 2
<i>Streptomyces somaliensis</i>				С 2		
<i>Succinimonas</i> spp.		В 1				
<i>Succinivibrio</i> spp.		В 1				
<i>Treponema pallidum</i>			В 3		В 3	
<i>Treponema</i> spp.	В 2			В 3		
<i>Ureaplasma urealyticum</i>			В 1			
<i>Veillonella</i> spp.	А 1	В 2		В 2	С 2	С 2
<i>Vibrio</i> spp.	В 1	В 2		С 2		С 2
<i>Wolinella recta</i>	В 1					

**Примечание:** РТ – респираторный тракт, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, МПТ – мочеполовой тракт, КР – кожа и раневое отделяемое, Г – глаза, У – уши; А – часто присутствуют в клиническом материале, В – изредка присутствуют в клиническом материале, С – редко присутствуют в клиническом материале; 1 – редко (если когда-либо) имеют этиологическое значение, 2 – иногда бывают причиной заболевания, 3 – обычно бывают причиной заболевания.

рококки, стафилококки, коринебактерии, в случае бактериемии на 1-й неделе жизни – *Streptococcus agalactiae*, *E. coli* и *S. aureus*, после травм или операций на брюшной полости – грамотрицательные палочки (энтеробактерии, облигатные анаэробы кишечника, псевдомонады).

При менингите в ликворе помимо менингококков могут быть обнаружены пневмококки, *Haemophilus influenzae*, листерии, сальмонеллы,

возбудители туберкулеза, у новорожденных при септицемии и менингите – *S. agalactiae*, грамотрицательные палочки и листерии. При внутричерепных абсцессах преобладают анаэробы (пептострептококки, бактероиды и близкородственные бактерии, актиномицеты), а из аэробов чаще обнаруживаются стрептококки [9].

### Заключение

Вопросы классификации и номенклатуры бактерий важны не только для специалистов в области таксономии, основной задачей которых является уточнение систематического положения и

филогенетической близости видов. Они определяют практические подходы к выделению и идентификации микроорганизмов, имеющих медицинское значение, проведению адекватной антимикробной терапии и профилактики, обеспечивают унификацию терминов и понятий. Без этого невозможно эффективное взаимодействие врачей разных специальностей, имеющих дело с проявлениями инфекционного процесса.

### Литература

- Lengeler J.W., Drews G., Schlegel H.G., editors. Biology of the Prokaryotes. 1st ed. New York: Thieme; 1999.
- Holt J.G., editor. Bergey's manual of systematic bacteriology. 1st ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1986.
- Медицинская микробиология. Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. М.: ГЭОТАР Медицина; 1998.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J., editors. Biology of microorganisms. 8th ed. New Jersey: Simon & Schuster; 1997.
- Gilbert D.N., Moellering R.C., Sande M.A., editors. The Sanford guide to antimicrobial therapy. 29th ed. Hyde Park: Antimicrobial Therapy, Inc.; 1999.
- Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности. 1.2.Эпидемиология. Санитарные правила СП 1.2.036–95. М.: Госкомсанэпиднадзор России; 1996.
- Holt J.G., editor. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994.
- Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. 9-е изд. В 2 т. Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина. М.: Мир; 1997.
- Murray P.R., Baron E. J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover F.C., editors. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, D.C.: ASM Press; 1995.
- Bruckner D.A., Colonna P., Bearson B.L. Nomenclature for aerobic and facultative bacteria. Clin Infect Dis 1999; 29:713-23.
- Эйдельштейн И.А. Фундаментальные изменения в классификации хламидий и родственных им микроорганизмов порядка Chlamydiales. Клин микробиол и антимикроб химиотер 1999; 1:5-11.
- Balows A., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.H., editors. The Prokaryotes. 2nd ed. New York: Springer-Verlag; 1992.

УДК 616.98:578.89+578.89

## Прионы и прионные болезни

И.А. Завалишин, И.Е. Шитикова, Т.Д. Жученко

Научно-исследовательский институт неврологии РАМН, Москва

Прионные болезни относятся к группе нейродегенеративных заболеваний. В общей популяции встречаются очень редко и регистрируются в виде спорадических, инфекционных и наследственных форм. Этиологически эти заболевания связаны с инфекционным белком (прионом), который возникает на посттрансляционном этапе в результате конформационных изменений нормального прионного белка хозяина. Фенотипическая гетерогенность прионных болезней является результатом взаимодействия ряда пере-

менных составляющих. При этом главными факторами, по-видимому, служат экспрессия протеина PrP<sup>res</sup> и полиморфизм кодона 129. Прижизненная диагностика прионных болезней разработана недостаточно. Лечения этих болезней не существует. Возможности профилактики ограничены.

**Ключевые слова:** прион, болезнь Крейтцфельдта–Якоба, синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера, фатальная семейная инсомния, куру.

### Prions and prion diseases

I.A. Zavalishin, I.E. Schitikova, T.D. Zhuchenko

Institute of Neurology RAMS, Moscow

Prion diseases belong to the group of neurodegenerative diseases that are very rare in general population and are registered as sporadic, infectious and inherited forms. These diseases are caused by contagious prion protein that appears as the result of conformational changes of normal host protein on posttranslational stage. There is phenotypical heterogenesis of prion diseases is the result of interreaction of several factors. The most impor-

tant of them seems to be the expression of the protein PrP<sup>res</sup> and polymorphism in codon 129. Lifetime diagnosis of prion diseases is insufficient and there is no reliable options for treatment of these disease as well as for specific prophylaxis.

**Key words:** prion, Creutzfeldt–Jakob disease, Gerstmann–Streussler–Scheinker syndrome, fatal familial insomnia, kuru.

### Введение

Прионные болезни – это группа нейродегенеративных заболеваний человека и животных. Клиническая феноменология большинства из них известна давно, в то время как концепция их этиологии разработана около 20 лет назад, когда был введен термин "прион" и обнаружен прионный белок (PrP) [1, 2]. У человека известны 4 болезни, вызываемые прионами, которые манифестируют в виде инфекционных, спорадических и наследственных форм.

*Куру*, регистрируемый в одном из племен Папуа Новой Гвинеи, возникает в результате употребле-

ния в пищу мозга умерших соплеменников во время ритуального каннибализма. *Болезнь Крейтцфельдта–Якоба* (БКЯ) возникает первично как спорадическое заболевание. Однако существует и ятрогенная БКЯ, развивающаяся в результате случайного инфицирования. Семейная БКЯ, *синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера* (СГШШ) и *фатальная семейная инсомния* (ФСИ) являются доминантно наследуемыми прионными болезнями, связанными с мутациями прионного гена [1, 3, 4].

В последние годы интерес к прионным болезням резко возрос в связи с эпидемией трансмиссивной спонгиозной энцефалопатии коров ("бешенст-

во коров") в Англии, возбудителем которой является прион. Зарегистрированы 52 спорадических заболевания новым вариантом БКЯ, в основном в Англии. Его дебют отмечался в молодом возрасте, что нетипично для этого заболевания, а при патологическом исследовании мозга умерших больных были выявлены изменения, сходные с таковыми при спонгиозной энцефалопатии коров [5, 6]. Это дало основание предположить о возможности заражения людей через продукты, производимые из мяса этих животных. Предположение подтвердилось, когда была установлена идентичность линий прионов, выделенных от больных, с новым вариантом БКЯ, и от коров с трансмиссивной спонгиозной энцефалопатией [7, 8].

### **Прионы – новый класс возбудителей инфекций**

Установлено, что прионы являются мелкими белковыми инфекционными частицами, устойчивыми к ферментативной инактивации [2, 9]. Прогресс в понимании природы прионных болезней у человека связан с изучением возможности их передачи у животных [10] и с выделением прионного белка [2] в результате молекулярного клонирования его гена, который картирован на коротком плече 20-й хромосомы и обозначается PRNP, а также с созданием трансгенных мышей, экспрессирующих мутировавший PRNP [10].

Прионный белок в очищенных прионных препаратах скрепи обозначили PrP<sup>Sc</sup> в отличие от нормальной клеточной изоформы PrP<sup>C</sup>. От PrP<sup>C</sup> PrP<sup>Sc</sup> отличается своей высокой резистентностью к действию протеаз, нерастворимостью после экстракции, способностью накапливаться во вторичных лизосомах, посттрансляционным синтезом и обогащением в процессе выделения [9, 10]. На основании анализа фрагмента PrP<sup>Sc</sup>, резистентного к действию протеазы К, идентифицированы по меньшей мере 2 гликоформы этого белка (PrP<sup>res</sup>).

Прионный белок контагиозен независимо от причин его возникновения. Это установлено экспериментальными исследованиями, когда животные заболевали при инокуляции экстракта мозга больных, умерших не только от инфекционных прионных болезней, но и от спорадических и наследственных их форм. Экспериментально прионными инфекциями было заражено 18 животных куру, 278 – различными формами БКЯ, 4 – СГШШ и несколько – ФСИ и спорадической фатальной инсомнией. При этом патологическая PrP изоформа образуется путем конформации PrP<sup>C</sup> хозяина в PrP<sup>Sc</sup>. Это отличает их от вирусных белков, которые кодируются вирусным геномом [1, 10].

Трансмиссивные прионы состоят главным образом, если не целиком, из PrP<sup>Sc</sup>. Хотя PrP<sup>Sc</sup> синтезируется из клеточного PrP (PrP<sup>C</sup>) в результате посттрансляционного процесса, окончательно неясно, происходит ли превращение PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup> в результате неизвестной химической модификации либо возникает лишь вследствие конформационных изменений. В опытах с использованием мышей, дефектных по наличию PrP<sup>C</sup>, показано, что чувствительность к инфекции PrP<sup>Sc</sup> зависит от присутствия PrP<sup>C</sup>, которое является обязательным условием развития патологического процесса, возникающего в результате инфицирования [11, 12].

Исследования трансгенных мышей показали, что синтез прионов, инкубационный период при скрепи и гистопатологические изменения значительно зависят от селективного взаимодействия инокулированных прионов с PrP субстратом, синтезируемым хозяином. Считается, что биосинтез прионов является экспоненциальным процессом, в котором посттрансляционная конформация PrP<sup>C</sup> или предшественника PrP<sup>Sc</sup> является обязательным этапом.

Полагают, что молекула PrP<sup>Sc</sup> соединяется с молекулой PrP<sup>C</sup> для образования гетеродимерного промежуточного продукта, который трансформируется в 2 молекулы PrP<sup>Sc</sup>. В следующем цикле каждая из 2 PrP<sup>Sc</sup> молекул соединяется с PrP<sup>C</sup> молекулой, давая начало 4 PrP<sup>Sc</sup> молекулам. В 3-м цикле каждая из 4 молекул PrP<sup>Sc</sup> связывается с молекулой PrP<sup>Sc</sup>, давая начало 8 молекулам PrP<sup>Sc</sup>, что и обеспечивает экспоненциальный рост.

Положение о том, что синтез PrP<sup>Sc</sup> – посттрансляционный процесс, подтверждается результатами изучения меченых скрепи-инфицированных клеточных культур. Показано, что PrP<sup>C</sup> синтезируется и распадается быстро, в то время как PrP<sup>Sc</sup> синтезируется медленно в результате еще окончательно неидентифицированного посттрансляционного процесса [10, 11].

Эти наблюдения соответствуют ранее полученным данным, показавшим, что PrP<sup>Sc</sup> накапливается в мозгу инфицированных вирусом скрепи животных, в то время как уровень PrP мРНК остается неизменным [12]. Кроме того, структура и организация PRNP таковы, что наиболее вероятно образование PrP<sup>Sc</sup> в результате посттрансляционного процесса.

Появляясь, обе PrP изоформы проходят через аппарат Гольджи, где их Asp-связанные олигосахариды модифицируются. PrP<sup>C</sup> в основном транспортируется секреторными пузырьками к наружной поверхности клетки, где оседает, связываясь с гликозилфосфатидилинозитолом. В отличие от PrP<sup>C</sup> PrP<sup>Sc</sup> накапливается первично в пределах клетки,

где откладывается в цитоплазматических пузырьках, многие из которых являются вторичными лизосомами. В последующем PrP<sup>Sc</sup> высвобождается во внеклеточное пространство и откладывается в амилоидных бляшках [10, 12].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что прионные болезни возникают в результате накопления PrP<sup>Sc</sup>, а не подавления функции PrP<sup>C</sup>. Механизмы взаимодействия PrP<sup>Sc</sup> и нейрона недостаточно изучены. Имеются данные о том, что события, связанные с реализацией функции как PrP<sup>C</sup>, так и PrP<sup>Sc</sup>, очевидно, происходят в мембране.

Так, при изучении свободной клеточной трансляции выявлено 2 формы PrP<sup>C</sup>: трансмембранной и секреторной [12]. Видимо, мембранозависимые процессы важны для синтеза PrP<sup>Sc</sup>, так как брефелдин А, селективно разрушающий вещества, депонированные в аппарате Гольджи, препятствует синтезу PrP<sup>Sc</sup> в инфицированных скрепи культурах клеток.

В действительности связь инфекционности скрепи с мембранными фракциями известна довольно давно. Считается, что гидрофобные взаимодействия определяют многие физические свойства, проявляемые инфекционными прионными частицами. В последние годы получены данные о том, что в реализации взаимодействия PrP<sup>Sc</sup> и нейрона имеют значение экзайтотоксические механизмы.

### Классификация прионных болезней

Куру, ятрогенная форма и новый вариант БКЯ манифестируют как инфекции. Семейные формы БКЯ, СГШШ и ФСИ начинаются как наследственные болезни. Эти две группы заболеваний составляют не более 10% от числа всех наблюдений прионных болезней. Основная масса больных (90%)

регистрируется как спорадическая форма БКЯ с частотой 1:1 000 000 в популяции.

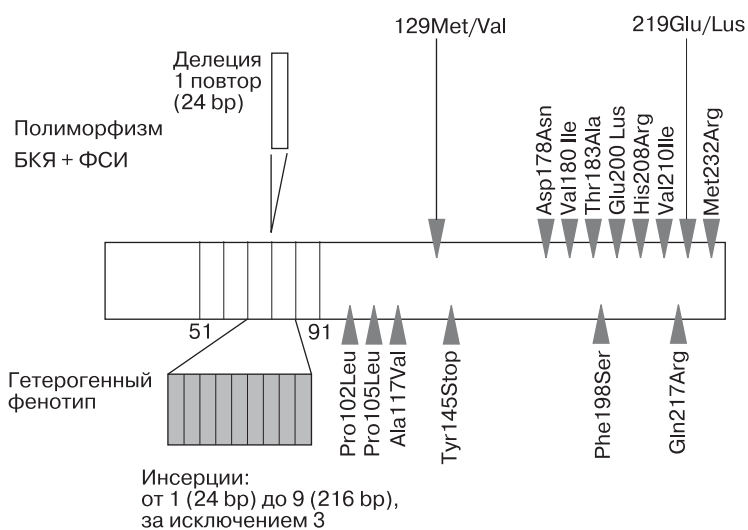
### Генетика прионных болезней

Всего обнаружено более 20 мутаций PRNP, достоверно связанных с наследственными прионными болезнями [10]. Точечные мутации в кодонах 178, 180, 183, 200, 208, 210 и 232, а также 8-членные аминокислотные повторы в кодонах 51 – 91 связаны с семейной БКЯ, точечные мутации в кодонах 102, 105, 117, 145, 198 и 217 – с синдромом СГШШ, в кодоне 178 – с ФСИ (см. рисунок).

Описанные мутации предположительно вызывают конформационные превращения PrP<sup>C</sup> белка из  $\alpha$ -структуры в  $\beta$ -структуру. При спорадической БКЯ не обнаружено специфических мутаций PrP. Генетический полиморфизм в кодоне 129, кодирующем метионин и валин, может влиять на восприимчивость к инфекционным прионным болезням [13, 14].

Так, у части больных с ятрогенной БКЯ, возникшей в результате заражения через экстракт гормона роста [11], была выявлена гомозиготность по валину в кодоне 129 PrP [13], в то время как при заражении в результате пересадки твердой мозговой оболочки выявляется гомозиготность как по валину, так и по метионину [13]. С другой стороны, гомозиготность по этому кодону связана с более ранним началом наследственных форм БКЯ. Полиморфизм кодона 129 влияет на фенотипические особенности всех семейных форм прионных болезней [2, 4, 15].

Обращает на себя внимание, что гомозиготность по метионину в кодоне 129 PrP зарегистрирована в Англии у заболевших новым вариантом БКЯ. Между тем при спорадической БКЯ гомозиготность по



Ген прионного белка человека – мутации и полиморфизм [15]: bp – пара оснований, Ala – аланин, Arg – аргинин, Asn – аспарагин, Asp – аспаргатовая кислота, Gln – глицин, Glu – глутамат, His – гистидин, Ile – изолейцин, Leu – лейцин, Lys – лизин, Met – метионин, Phe – фенилаланин, Pro – пролин, Ser – серин, Thr – триптофан, Tyr – тирозин, Val – валин, БКЯ – болезнь Крейтцфельда–Якоба, ФСИ – фатальная семейная инсомния, СГШШ – синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера. Открытая рамка считывания гена (кодирующий участок) обозначена в виде прямоугольника. Над ним показан полиморфизм нормального гена по кодонам 129 и 219. Отмечены точечные мутации, характерные для наследственных форм прионных болезней человека (БКЯ и ФСИ вверх и СГШШ – вниз), инсерции и делеции

метионину отмечена у 78% больных (в нормальной популяции – у 48%), гомозиготность по валину – у 10% больных и в контроле. Напротив, гетерозиготность (метионин/валин) в контроле отмечена у 42% исследованных и значительно реже у больных – в 12% [13, 16]. Можно согласиться с S.V. Prusiner [14], что гомозиготность по метионину в кодоне 129 при спорадической БКЯ может быть решающей в развитии новых представлений о возможных причинах не только БКЯ, но и всей группы прионных болезней, поскольку уже можно допустить существование генетических факторов риска и антириска спорадической БКЯ.

Однако неясно, возникают ли спорадические формы БКЯ в результате редкой спонтанной конверсии природного типа PrP<sup>C</sup> в PrP<sup>Sc</sup> или соматическая мутация PRNP приводит к образованию мутантного PrP, который трансформируется в PrP<sup>Sc</sup>.

### Морфология

Результаты патоморфологического исследования мозга больных, погибших от прионных болезней, показали черты сходства и различия. Макроскопически определяется атрофия головного мозга, особенно значительная при БКЯ, степень которой влияет на продолжительность выживания. Гистологически выявляются спонгиозная дегенерация, атрофия и утрата нервных клеток, астроцитарный глиоз, амилоидные бляшки, содержащие прионный белок, а также отсутствие воспалительных реакций [15, 17, 18, 19].

При БКЯ указанные изменения регистрируются в коре головного мозга, стриатуме, таламусе, молекулярном слое мозжечка и верхней части ствола мозга, причем амилоидные бляшки обнаруживались в 5 – 10% случаев.

Новый вариант БКЯ характеризуется:

- амилоидными бляшками, окруженными вакуолями;
- спонгиозными изменениями, больше проявляющимися в базальных ганглиях;
- выраженным таламическим астроглиозом;
- скоплением прионного белка, включая внутриклеточные отложения в церебральной и мозжечковой коре, особенно в молекулярном слое.

Патоморфологический диагноз СГШШ основывается на выявлении характерных амилоидных бляшек, дегенерации белых проводниковых систем, преимущественно спиноцеребеллярных трактов, и утраты нейронов по всему мозгу. При этом с разной частотой и степенью выраженности могут присоединяться спонгиозные изменения и глиоз. Амилоидные бляшки при СГШШ чаще обнаруживаются в мозжечке.

При ФСИ отмечаются атрофия переднего и медиодорсального ядер таламуса, олив, различная степень глиоза церебральной и мозжечковой коры, отсутствие бляшек, нерезко выраженные спонгиозные изменения.

Патоморфологические диагностические критерии для трансмиссивных спонгиозных энцефалопатий человека унифицированы [19]. При БКЯ (спорадической, ятрогенной или семейной) наблюдается спонгиозная энцефалопатия в коре головного мозга и/или коре мозжечка и/или подкорковом сером веществе, а также и/или энцефалопатия с PrP иммунореактивностью, при СГШШ – энцефало(миело)патия с мультицентрическими PrP бляшками, при ФСИ – дегенерация таламуса, различные спонгиозные изменения в головном мозге.

Следует отметить, что ткани погибших от прионных болезней остаются контагиозными даже после их фиксации формалином.

### Болезнь Крейтцфельда–Якоба

Продромальные симптомы БКЯ, самой распространенной из указанной группы болезней, неспецифичны и возникают примерно у 30% больных. Они появляются за недели и месяцы до возникновения первых признаков деменции и включают астению, нарушения сна и аппетита, внимания, памяти и мышления, снижение массы тела, потерю либидо, изменение поведения.

Для первых признаков заболевания обычно характерны зрительные нарушения, головные боли, головокружение, неустойчивость и парестезии. У основной части больных постепенно развивается БКЯ, реже – острый или подострый дебют. Обычно болезнь начинается в возрасте 50–65 лет. Несколько чаще болеют мужчины.

Клинической тетрадой БКЯ являются подострая прогрессирующая деменция, миоклонии, типичные периодические комплексы на *электроэнцефалограмме* (ЭЭГ) и нормальный ликвор. Наряду с этим наблюдаются мозжечковые симптомы, расстройство зрительного восприятия, надъядерные глазодвигательные нарушения, а в далеко зашедших стадиях – припадки, экстрапирамидные и пирамидные нарушения, переднероговые симптомы. Большинство больных погибает в первый год болезни, редко – в течение 2 лет и позже.

Новый вариант БКЯ характеризуется более ранним, чем обычно, началом. Возраст больных колеблется от 16 до 40 лет. Между тем классическая БКЯ очень редка в возрасте до 40 лет – не чаще 2–3%. Клинически при новом варианте БКЯ в дебюте отмечаются психические нарушения в виде тревоги, депрессии, изменений поведения, реже – дизесте-

зии лица и конечностей. Спустя недели и месяцы присоединяются неврологические нарушения, в основном мозжечковые. На поздних этапах болезни отмечаются нарушения памяти, деменция, миоклонии или хорей, реже – пирамидные симптомы. На ЭЭГ отсутствуют характерные для БКЯ изменения.

До недавнего времени кроме биопсии мозга с последующим исследованием биоптата на наличие прионного белка не существовало специфической диагностики БКЯ. Однако в последние годы для этих целей используется биопсия глоточной миндалины [8]. Имеются сообщения о диагностике БКЯ с помощью моноклональных антител [20].

Наибольшее диагностическое значение из других методов исследования имеет ЭЭГ, при которой выявляется повторяющаяся трифазная и полифазная активность длительностью менее 200 мкВ, возникающая каждые 1–2 с. При компьютерной томографии головного мозга может определяться корковая атрофия. При магнитно-резонансной томографии иногда выявляются гиперинтенсивные сигналы в проекции базальных ганглиев или таламуса, при позитронной эмиссионной спектроскопии – региональное снижение метаболизма глюкозы, коррелирующее с патоморфологическими изменениями [4]. Определенное диагностическое значение имеет обнаружение в ликворе больных БКЯ патологических белков 26 и 29 кДа и нейрональной специфической энolahзы, особенно белка 14-3-3 [21]. Причем последний рассматривается в качестве маркера прионных болезней.

С целью прижизненной диагностики БКЯ и других прионных болезней человека и животных в России используется оригинальный метод индикации изменений в перевиваемых клетках нейроглии, вызываемых PrP<sup>Sc</sup> [22], а также исследование антител к нейрофиламентам [11].

Клинический диагноз БКЯ обычно основывается на наличии следующих симптомов: деменции, миоклонуса и периодических электрических всплесков на ЭЭГ у нелихорадящего 60-летнего больного. Наличие лихорадки, повышения СОЭ, лейкоцитоз в крови или плеоцитоз в ликворе должны настоятельно раждать врача в отношении иной этиологии заболевания центральной нервной системы.

Обращают на себя внимание клинические и патоморфологические особенности при семейной БКЯ, связанные с характером мутации [10, 13, 18]. Так, при мутации в кодоне 178 происходит замена аспартата на аспарагин, что клинически характеризуется ранним началом болезни, относительно длительным течением (до 2 лет), нарушением памяти на ранних этапах патологического процесса, миоклонусом, отсутствием типичных изменений на ЭЭГ.

В случаях мутации в кодоне 200 (замена глутаминовой кислоты на лизин) клинически отмечается схожесть со спорадической БКЯ, но при морфологическом исследовании редко выявляются амилоидные бляшки. При 8-членных аминокислотных повторах отмечаются раннее начало (25–35 лет), асоциальное поведение, нарушения речи, координации движений и когнитивных функций, редко миоклонус и изменения на ЭЭГ. С увеличением числа повторов нарастает тяжесть клинических и морфологических изменений (при вставке с 10–11 повторами нарушения минимальны, при 12 повторами картина напоминает спорадическую БКЯ, при 13 и 14 повторами она сходна с СГШШ).

В документированных наблюдениях случайной передачи БКЯ инкубационный период составлял 1,5–2 года. Однако при передаче болезни через зараженные инструменты и при пересадке тканей инкубационный период может длиться до 10 лет. Причем БКЯ в этих случаях манифестирует в первую очередь нарушениями интеллекта [1].

Ятрогенная БКЯ, приобретенная при лечении экстрактами тканей, содержащими гормон роста и гонадотропин, проявляется мозжечковыми симптомами с более продолжительным инкубационным периодом – 5–17 лет (границы разброса – 4–30 лет) [4].

В последние годы диагностика БКЯ унифицирована. В соответствии с этим выделяют достоверную, вероятную и возможную БКЯ.

*Достоверный диагноз* БКЯ устанавливается с помощью стандартных патоморфологических методов и/или в соответствующих лабораториях с помощью дополнительных методов (RtP иммунохимические методы, западный блоттинг и/или выявление скрепиассоциированных фибрилл). Остальные случаи БКЯ трактуются как вероятные или возможные.

*Вероятный диагноз* спорадической БКЯ основывается на прогрессирующей деменции и типичных изменениях на ЭЭГ, а также на наличии 2 из следующих клинических признаков: миоклонуса, зрительных или мозжечковых нарушений (атаксии), пирамидных или экстрапирамидных нарушений, акинетического мутизма.

При *возможной* БКЯ имеются те же критерии, что и при вероятном БКЯ, но при отсутствии изменений на ЭЭГ и при длительности болезни менее 2 лет.

Приобретенная БКЯ регистрируется при прогрессирующем мозжечковом синдроме у больного, получавшего гормоны гипофиза, а также при спорадической БКЯ, если в анамнезе имелись ситуации риска возникновения болезни, например, при



трансплантации твердой мозговой оболочки или роговицы.

Семейная форма БКЯ регистрируется в случае достоверного или возможного диагноза БКЯ в сочетании с достоверным или возможным диагнозом БКЯ у ближайшего родственника, а также при нейropsychических нарушениях, сопряженных со специфическими для заболевания мутациями PrP гена, выявляемыми при исследовании лейкоцитов больных.

### **Синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера**

СГШШ описывается как семейное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования [2], в популяции регистрируется с частотой 1 случай на 10 000 000 населения. Болезнь начинается на 3–4-м десятилетии жизни и продолжается в среднем 5 лет.

Начальными симптомами СГШШ являются мозжечковые нарушения, позже присоединяется деменция, которая иногда может и не проявляться. В развернутой стадии болезни преобладают мозжечковые симптомы, но в некоторых семьях ведущими признаками могут быть экстрапирамидные нарушения, в других – параличи зрения, глухота и слепота. Характерно отсутствие сухожильных рефлексов на нижних конечностях при наличии разгибательных патологических знаков. Редко наблюдаются миоклонии [11].

Для большинства генетических подтипов СГШШ характерна замена пролина на лейцин в кодоне 102 PrP гена. Клинически они характеризуются мозжечковой атаксией, миоклониями, афазией, аграфией, агнозией, пирамидными парезами, амиотрофиями, фасцикуляциями. Деменция развивается поздно.

Морфологически отмечаются амилоидные бляшки, негрубые спонгиозоформные изменения, атрофия проводниковых систем спинного мозга и мозгового ствола, а также подкорковых ядер. Мутация в кодоне 105 (замена пролина на лейцин) зарегистрирована в Японии. У этих больных определяются спастический парапарез, эмоциональная слабость; морфологически – амилоидные бляшки в коре головного мозга, реже в мозжечке и подкорковых ядрах, грубый глиоз.

Замена аланина на валин в кодоне 117 отмечена в одной из азиатских семей и в американской семье немецкого происхождения. Для этих семей характерно нарастание с каждым поколением выраженности психических нарушений, пирамидной недостаточности и морфологических проявлений (амилоидные бляшки, нейрональная дегенерация, умеренные спонгиозоформные изменения).

В семье из Индианы (США) описана мутация в кодоне 198 (замена фенилаланина на серин), которая клинически характеризуется деменцией, атаксией, паркинсонизмом, параличом зрения на ранней стадии болезни; морфологически – амилоидными бляшками, нейрофибрилярными сплетениями, легкими спонгиозоформными изменениями.

Мутация в кодоне 217 (замена глутамина на аргинин) описана в шведской семье. Клинически развивалась деменция, позже – атаксия, дисфагия, спутанность сознания; морфологически – нейрофибрилярные сплетения в *neocortex*, амилоидные бляшки в церебральной и мозжечковой коре.

### **Фатальная семейная инсомния**

ФСИ – аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся некурабельной прогрессирующей бессонницей, симпатической гиперактивностью (гипертензией, гипертермией, гипергидрозом, тахикардией), тремором, атаксией, гиперрефлексией, миоклониями, нарушениями внимания, памяти, дезориентацией, галлюцинациями [23].

Болезнь начинается в возрасте от 25 лет до 71 года. У больных нарушены циркадианные ритмы секреции мелатонина, пролактина, гормона роста, АКТГ и кортизола [23, 24]. У всех описанных больных (около 40) выявлена мутация в кодоне 178. Установлены 2 фенотипа ФСИ, обусловленные гаплотипом кодона 129 в нормальном аллеле (129 Met/Met или 129 Met/Val), которые отличаются по клиническим и патологоанатомическим признакам.

Обращает на себя внимание то обстоятельство, что та же мутация описана и при семейной БКЯ. Два различных по фенотипу заболевания связаны с одной патогенной мутацией, которая характеризуется общим полиморфизмом в кодоне 129 (Met/Val). Это связывают с тем, что фенотипы данных заболеваний обусловлены кодоном 129 мутантного аллеля, которые в связи с мутацией Asp178Asn приводят к экспрессии PrP<sup>res</sup>, отличающихся по биофизическим параметрам [15].

В последние годы описано 5 спорадических случаев ФСИ без мутации в кодоне 178, но с характерными для нее изменениями в головном мозге [24].

### **Куру**

Куру – заболевание, сыгравшее главную роль в развитии концепции трансмиссивных спонгиозоформных энцефалопатий человека.

Для куру характерны атаксия, тремор и деменция. Смерть наступает примерно через 12 мес [1, 25]. Однако в настоящее время это заболевание имеет скорее исторический интерес, поскольку традиции

каннибализма у племен восточных высокогорий Новой Гвинеи исчезли.

### **Изоформы прионов**

Вариабельность проявлений прионных болезней ставит вопрос о возможности существования различных линий прионов [2, 9, 15]. Это предположение вытекает не только из разнообразия клинических синдромов, но и в связи с неодинаковым инкубационным периодом и различной патоморфологической картиной прионных болезней. Для объяснения этого обстоятельства предложено 2 гипотезы [10].

Первая утверждает, что соответствующая специфическая информация кодируется третичной и четвертичной структурами PrP<sup>Sc</sup>. Поскольку в процесс размножения прионов включается образование промежуточного продукта, то есть комплекса PrP<sup>C</sup>/PrP<sup>Sc</sup>, было высказано предположение, что специфическая для линии (изолята) информация содержится в третичной структуре PrP<sup>Sc</sup>. Однако эта гипотеза подразумевает, что число различных конформаций PrP<sup>Sc</sup> ограничено.

Альтернативная гипотеза предполагает, что различие прионов происходит из гликоформ PrP<sup>Sc</sup>. Эта гипотеза более привлекательна, так как различий PrP<sup>Sc</sup> гликоформ достаточно для объяснения большого числа линий прионов, и к размножению определенного изолята прионов может привести синтез молекул PrP<sup>Sc</sup> в пределах ограниченной субпопуляции клеток [10]. Эта гипотеза не только подтверждается результатами ряда экспериментов, но также объясняет, как каждый прионный изолят проявляет свои специфические черты, такие, как инкубационный период, особенности патоморфологических изменений и характер накопления PrP<sup>Sc</sup>.

### **Прионы и видовой барьер**

Следует отметить, что замена аминокислот в PrP приводит не только к врожденным прионным болезням. С ними связано существование и видовых барьеров [2, 3, 7, 9]. В последние годы появились прецеденты прорыва этого барьера. Так, прионные заболевания стали регистрироваться у животных, у которых в обычных условиях эта патология не наблюдается (у содержащихся в неволе обезьян и жирафов), что связывается с их кормлением продуктами, приготовленными из тканей животных – традиционных носителей патологической формы прионного белка (овцы, козы) [3, 11].

Теоретически и практически важный вопрос о наличии видового барьера и о возможности межвидового переноса прионных инфекций обсуждается в литературе. Указывается, что на межвидовой перенос инфекции влияют два фактора:

1) эффект вида донора, связанный с различиями в последовательностях гена PrP у двух видов – донор–реципиент;

2) штаммовые особенности приона, влияющие на легкость или сложность преодоления межвидового барьера [14].

По мнению J. Collinge et al. [26], даже существование высокоэффективного видового барьера между крупным рогатым скотом и человеком не может исключить переноса инфекции у немногих людей [6, 7, 27].

Клиническое, гистологическое и электронно-микроскопическое изучение инфекционного процесса у норок, являющихся природным хозяином возбудителя, и инфекционного процесса, вызванного у норок заражением агентом скрепи (природный хозяин – овца), показало сходство по всем изучаемым параметрам [3].

Пассирование агентов трансмиссивных энцефалопатий от одного вида к другому может также непредсказуемо изменить инфекционный спектр каждого конкретного приона [11].

### **Лечение**

Лечение прионных болезней не разработано. Традиционные противовирусные средства, такие, как амантадин, интерфероны, пассивная иммунизация и вакцинация человека и животных, оказались неэффективными [10].

По лимитированным данным, амфотерицин, НРА-23 (ингибитор синтеза вирусного гликопротеида) и кортикостероиды увеличивают инкубационный период при экспериментальном скрепи, а некоторые антибиотики несколько удлиняют жизнь больных животных.

Брефелдин А, разрушая аппарат Гольджи, препятствует синтезу PrP<sup>Sc</sup> в инфицированной культуре клеток [12]. Блокаторы кальциевых каналов, в частности NMDA-рецепторов, способствуют более длительному выживанию инфицированных нейронных культур.

### **Профилактика**

В настоящее время осуществляется ряд мероприятий по профилактике прионных инфекций [11, 19]. Вводятся ограничения на использование лекарственных препаратов, приготовленных из тканей крупного рогатого скота. Прекращено производство гормонов гипофиза животного происхождения. В ряде стран введены ограничения на трансплантацию твердой мозговой оболочки.

Поскольку передача от человека к человеку предполагает прямую инокуляцию инфекционного материала, при работе с биологическими жидкостями

ми больных необходимо использовать резиновые перчатки.

Инструменты рекомендуется дезинфицировать автоклавированием при температуре 132°C в течение 1 ч, а при температуре 121°C – 4,5 ч или погружением в раствор гидроксида натрия 1н на 1 ч при комнатной температуре.

### Заключение

Таким образом, изучение прионов и связанных с ними заболеваний является новой быстроразвивающейся областью биомедицинских исследований.

Весьма вероятно, что основы знаний, полученных при изучении прионных болезней, можно бу-

дет применить для выяснения причин других, более распространенных нейродегенеративных заболеваний, таких, как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, болезнь Паркинсона.

Уже сейчас имеется возможность определить группу риска возникновения врожденных прионных болезней задолго до проявления неврологических нарушений. В связи с этим встает настоятельная необходимость разработки эффективной терапии. Однако насколько быстро возможность лечения прионных болезней станет реальностью, зависит от успехов молекулярной и клеточной биологии, а также химии белка, что дает возможность расшифровки процессов репликации прионов и раскрытию патогенетических механизмов этих болезней.

### Литература

- Palmer M.S., Collinge J. Prion diseases: an introduction. In: Collinge J., Palmer M.S., editors. Prion Diseases. Oxford: Oxford University Press; 1997.
- Prusiner S.B. Human prion diseases and neurodegeneration: prions, prions, prions. Berlin. Heidelberg; 1998. p.1-17.
- Зуев В.А. Медленные вирусные инфекции человека и животных. М.: Медицина; 1988.
- Korczyn A.D. Human prion diseases. Proceedings of 49th Annual meeting of American Academy of Neurology; 1997 Apr 12–19, Boston, MA. p. 1-19.
- Chazot G., Brousolle E., Lapras C.I., Blatter T., Aguzzi A., Kopp N. New variant of Creutzfeldt–Jacob Disease in a 26-year-old French man. Lancet 1996; 347:1181.
- Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., et al. A new variant of Creutzfeldt–Jacob Disease in the UK. Lancet 1996; 347:921-5.
- Bruce M.E., Will R.G., Ironside J.W., McConnell J., et al. Transmissions to mice indicate that "new variant" Creutzfeldt–Jacob disease is caused by the BSE agent. Nature 1997; 389:498-501.
- Hill A.F., Zeidler M., Ironside J., Collinge J. Diagnosis of new variant Creutzfeldt–Jacob disease by tonsil biopsy. Lancet 1996; 347:921-5.
- Brandner S., Iseman S., Raeber A., et al. Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. Nature 1996; 379:339-40.
- Prusiner S.B. Prions causing neurodegenerative diseases of humans and animals. In: Jolles G., Stutzmann J.M., editors. Neurodegenerative diseases. Acad Press; 1996. p.23-80.
- Зуев В.А., Завалишин И.А., Ройхель В.М. Прионные болезни человека и животных. Руководство для врачей. М.: Медицина; 1999.
- Hay B., Prusiner S.B., Lingappa V.R. Biochemistry 1987; 26:8110-4.
- Ironside I.W. Human prion diseases. J Neural Transm 1996; 47:231-46.
- Prusiner S.B. Human prion diseases and neurodegeneration. Cur Topics in Microb Immunol 1996; 207:1-17.
- Gambetti P. Human prion diseases. Proceedings of the 49th Annual meeting of American Academy of Neurology; 1997 Apr 12–19; Boston, MA. p. 43-62.
- Alperovitch A. Epidemiology of Creutzfeldt–Jacob disease – past and present uncertainties. Eur J Neurol 1996; 3:500-6.
- Bell J., Ironside J. Neuropathology of spongiform encephalopathies in humans. Br Med Bull 1993; 49:738-77.
- Budka H., Aguzzi A., Brown P. Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt–Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (Prion diseases). Brain Pathol 1995; 5:459-66.
- Report of a WHO Consultation on Clinical and Neuropathological Characteristics of the New Variant of Creutzfeldt–Jacob disease and other Human and Animal Transmissible Spongiform encephalopathies; 1996, 1997, 1998, Geneva.
- Matsuda H. Chicken monoclonal antibodies with specificity for the N-terminal of human prion protein. FIMS Immunol Med Microbiol 1999; 23:189-94.
- Hsich G., Kenney K., Gibbs C.J., Lee K.H., Harrington M.G. The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. N Engl J Med 1996; 335:924-30.
- Завалишин И.А., Адарчева Л.С., Ройхель В.М., Фомина Г.И., Кондакова Л.И., Соболев С.Г., Погодина В.В. Синдром Герстманна–Штреусслера: новые возможности диагностики. Журн невропатол и психиатр 1995; 1:58-63.
- Medori R., Tritchler H-J., LeBlanc A., et al. Fatal familial insomnia, a prion disease with a mutation at codon 178 of the prion protein gene. N Engl J Med 1992; 326:444-9.
- Gambetti P., Parchi P. Insomnia in prion diseases: sporadic and familial. N Engl J Med 1999; 340:1675-7.
- Gajdusek D.C. Infectious amyloids: subacute spongiform encephalopathies as transmissible cerebral amyloidoses. In: Fields B.N., et al., editors. Fields Virology. Philadelphia: Lippincott Raven Publishers; 1996. p.2851-900.
- Collinge J., Palmer M.S., Sidle K.C., et al. Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein. Nature 1995; 378:779-83.
- Cousens S.N., et al. Predicting the CJD epidemic in humans. Nature 1997; 385:197-8.

УДК [616.98:579.869.1]-078+579.869.1.083.1

## Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика

И.С. Тартаковский

Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва

Представлена современная концепция эволюции роли листерий в инфекционной патологии человека за более чем 70-летний период. Анализируются основные факторы, определяющие заметный рост заболеваемости листериозом в последние годы: контаминация и активное размножение листерий в продуктах питания, повышение восприимчивости к листериям у групп риска на фоне нарушений клеточного иммунитета. Рассматриваются особенности внутриклеточного паразитизма и экспрессии

факторов патогенности листерий. Анализ различных методических подходов к диагностике листериоза свидетельствует о ведущей роли бактериологических методов выделения и идентификации *L. monocytogenes* на основе современных селективных сред и необходимости их быстрого внедрения в практику клинических лабораторий и центров санэпиднадзора.

**Ключевые слова:** листерии, эпидемиология, факторы патогенности, микробиологическая диагностика.

### Listeriae: the role in infectious diseases and laboratory diagnostics

I.S. Tartakovski

Institute of Epidemiology and Microbiology named under N.F. Gamaleya, RAMS

Current approaches covering the role of listeriae in infectious diseases for more than 70 years are given in this article. The main factors causing evident upgrowth of morbidity are analysed. The most prominent of them are: contamination and active reproduction of listeriae in food products, increase of susceptibility in risk groups due to abnormality cellular immunity. Intracellular parasitism features and distinctions of listeriae pathogenity are exami-

ned. The analysis of various methodical approaches to diagnosis of listeriosis shows the leading role of bacteriological methods of *L. monocytogenes* isolation and identification that are based on usage of selective media. The introduction of these methods into the work of laboratories and epidemiology surveillance centers is strongly advisable.

**Keywords:** listeriae, epidemiology, pathogenity, microbiological diagnosis

Листерии давно известны микробиологам, эпидемиологам и клиницистам всего мира. Еще в 1926 г. Е.С. Мургау и соавт. выделили данный возбудитель во время эпизоотии лабораторных живот-

ных в питомнике Кембриджа [1]. Название *Listeria monocytogenes* было дано в 1940 г. в честь английского хирурга D. Lister (1827–1912), разработавшего метод антисептики, и одновременно указывало на наличие моноцитоза, характерного для заболевших кроликов и морских свинок. В 1929 г. листерии впервые выделены от больного человека, а также от овец – одного из основных хозяев листерий, с которыми соприкасается человек [2].

Можно выделить три основных этапа во взаимоотношении листерий и человеческой популяции.

---

Контактный адрес:  
Тартаковский Игорь Семенович  
230981, Москва, ул. Гамалеи, 18  
Институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Н.Ф.Гамалеи РАМН  
Тел.: (095)190-25-81, 193-63-71.  
Факс: (095)190-74-01.  
Эл. почта: 1570.g23@g23.relcom.ru

Первый – до 50-х годов, когда в мире было выявлено не более 70 случаев листериоза, как правило, у людей, непосредственно контактировавших с зараженными животными (работники скотобоев, фермеры-животноводы, доярки).

Второй – 50–70-е годы. Число случаев листериоза достигает нескольких тысяч. Эта инфекция рассматривается как весьма опасный зооноз с высокой летальностью, но большинство случаев по-прежнему связаны с сельскохозяйственными регионами и употреблением сырого молока, контактом с больными животными, в том числе с грызунами.

Третий – 80-е годы – по настоящее время.

Многочисленные эпидемические вспышки и спорадические случаи листериоза в высокоразвитых странах мира (США, Великобритания, Швейцария, Канада, Франция) были связаны с употреблением готовых продуктов пищевой индустрии (сыры, особенно мягкие, мясные полуфабрикаты, салаты и др.), после чего данное заболевание стали рассматривать как одну из важных пищевых инфекций в мире [3, 4].

Листериоз, как и ранее, не является широко распространенной инфекцией. По количеству выявленных случаев он значительно уступает сальмонеллезам и кампилобактериозам, но превосходит их по летальности и тяжести клинического течения. Так, из 2518 больных листериозом, выявленных в США в 1997 г., у 20% наступил летальный исход, а госпитализация больных требовалась в 92% случаев [5].

В Российской Федерации заболеваемость листериозом официально регистрируется с 1992 г. Число выявленных больных невелико (30–60 случаев ежегодно). Как правило, диагностика листериоза связана либо с работой ветеринаров, либо с энтузиазмом отдельных исследователей [6, 7]. Отсутствие эффективной системы санитарно-эпидемиологического надзора за листериозом и неудовлетворительное качество лабораторной диагностики обусловили "своеобразный вакуум" между реальной ролью листерий в инфекционной патологии человека и практическими исследованиями в этой области клинической микробиологии в России.

### **Эпидемиологические и клинические особенности листериоза**

Наиболее полно место и роль листерий в инфекционной патологии человека можно охарактеризовать со следующих четырех позиций.

1. *Листерии как возбудители сапрозоонозной инфекции.* До 80-х годов XX века листериоз рассматривался как типичный зооноз с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя [8, 9].

Возбудитель листериоза выделен от более 90 видов диких и домашних животных, птиц, рыб, моллюсков, насекомых и клещей. Листерии – частый компонент фекальной микрофлоры многих млекопитающих [10]. Традиционным источником инфекции для человека служат сельскохозяйственные животные и грызуны.

Данные отечественных и зарубежных исследователей последних лет свидетельствуют об исключительно широких адаптивных способностях листерий, позволяющих им размножаться в сапрофитической среде в различных природных субстратах (растительных, почвенных, водных). Листерии способны к размножению в широком диапазоне температуры (4–45°C), pH (4,8–9,0) и влажности, в присутствии NaCl (20%) и 15% CO<sub>2</sub>. Высокая метаболическая пластичность листерий обуславливает возможность перехода их от сапрофитической фазы к паразитической и наоборот. Эти обстоятельства наряду с традиционными представлениями о связи листерий с теплокровными животными позволяют рассматривать листериоз как типичный сапрозооноз [11].

2. *Роль листерий в перинатальной и неонатальной патологии.* Наибольшую опасность листериозная инфекция представляет для беременных женщин и новорожденных. Она обуславливает выкидыши, мертворождение, развитие пороков плода, а также менингиты, сепсис и пневмонию у новорожденных.

В США листериоз у беременных женщин составляет около 27% от общего числа заболевших этой инфекцией и около 60% случаев – у лиц в возрасте 10–40 лет [12]. Для листерий, как и для других факультативных внутриклеточных паразитов (легионеллы, микобактерии), главную роль играет клеточный иммунитет. Снижение уровня клеточного иммунитета во время беременности, особенно в поздние сроки, обуславливает повышение восприимчивости к листериозной инфекции у данной группы риска [13, 14].

Листериозная инфекция может развиваться на протяжении всего периода беременности, хотя большая часть случаев приходится на третий триместр. Болезнь, как правило, протекает как средней тяжести течения гриппоподобная инфекция. У рожениц, имевших в анамнезе нарушения функции иммунной системы, листериоз протекает особенно тяжело (диарея со спазмами мышц живота, рецидивирующими болями) и приводит к гибели плода. Парадоксально, но поражение центральной нервной системы – наиболее распространенная клиническая форма листериоза – у беременных выявляется крайне редко. Более 20% случаев перинаталь-

ного листериоза завершается внутриутробной гибелью плода.

При неонатальном листериозе выделяют листериоз с ранним и поздним началом.

Листериоз с ранним началом как результат внутриутробной инфекции проявляется в 1–2-е сутки после рождения в форме сепсиса. Аспирация инфицированной амниотической жидкости может привести к поражению легких. Летальность достигает 50%.

Листериоз с поздним началом развивается в среднем через 10–12 дней после рождения и протекает, как правило, в форме менингита. Эта форма наиболее характерна при внутрибольничных вспышках листериоза в родильных домах. Летальность составляет 20–25% [15].

3. *Листерии как возбудители оппортунистической инфекции.* Для листериоза характерен широкий спектр клинических проявлений. Чаще всего выявляют клинические формы, связанные с поражением центральной нервной системы, проявляющиеся менингитом или менингоэнцефалитом. Преобладают острые, реже подострые формы. Заболевание характеризуется лихорадкой, возможно развитие лимфаденита и конъюнктивита. Моноцитоз выявляется не более чем у 30–40% больных [12, 16].

Эндокардиты составляют 5–10% случаев листериозной инфекции у взрослых [17]. Острый гастроэнтерит описывают при эпидемических вспышках листериозного сепсиса и при поражении нервной системы. У ранее здоровых людей листериозный гастроэнтерит крайне редок [18].

В последние 10–15 лет наиболее значительный рост числа случаев листериоза отмечается у лиц пожилого возраста на фоне сопутствующих заболеваний, иммуносупрессивной терапии. На фоне сопутствующих заболеваний или иммуносупрессивной терапии выявляют такие клинические проявления листериоза, как инфекция кожи, абсцессы печени и селезенки, пневмония, миокардит, остеомиелит, воспаление суставов и др.

Частота случаев оппортунистического листериоза не уступает, а, по данным ряда исследователей, превосходит таковую при перинатальной и неонатальной патологии. Наиболее часто листериоз развивается на фоне онкологических заболеваний, почечной или сердечной недостаточности, диабета.

Листерии не являются ведущими возбудителями при ВИЧ-инфекции. Но у этой группы пациентов листериоз встречается в 150–300 раз чаще, чем в общей популяции [3, 12].

Разнообразные клинические проявления листериоза на фоне снижения клеточного иммунитета при лимфомах, СПИДе, беременности, иммуно-

супрессивной терапии наряду с экспериментальными данными подтверждают ведущую роль клеточного иммунитета в развитии листериозной инфекции [13, 19, 20].

4. *Листерии как возбудители пищевой инфекции.* До 80-х годов XX века наибольшее практическое значение имела профессиональная заболеваемость работников животноводческих и птицеводческих хозяйств или случаи заболеваний, связанных с непосредственным контактом с грызунами. В последние десятилетия большинство крупных эпидемических вспышек листериоза с высоким процентом летальных исходов обусловлены потреблением пищевых продуктов, прежде всего сыра, других молочных продуктов и салатов, в меньшей степени – мясных, куриных и рыбных изделий [4, 21, 22, 23].

Крупнейшей и наиболее известной является вспышка листериоза в 1985 г. в Лос-Анджелесе (США), связанная с употреблением в пищу сычужного мексиканского сыра, контаминированного *L. monocytogenes*, серотип 4в. Всего было выявлено 142 больных листериозом, из них 48 – со смертельным исходом, 130 – с перинатальной и неонатальной патологией. Эта и другие вспышки, менее значительные по своим масштабам, но также с высокой летальностью исходов (20–44%), показали, что в самой технологии приготовления ряда продуктов содержится опасность контаминации листериями и их размножения до высоких концентраций.

Значение пищевого пути передачи листериоза хорошо иллюстрируют данные Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США), показавшие, что 11% всех продуктов, хранящихся в домашних холодильниках, контаминированы листериями. У 64% больных листериозом в холодильнике был найден по меньшей мере один продукт, контаминированный листериями. В 33% случаев выделенные штаммы *L. monocytogenes* от больных, а также из продуктов, хранившихся в холодильнике, имели идентичный молекулярно-генетический профиль при рестрикционном анализе пульс-электрофорезом. Наконец, более 30% sporadических случаев листериоза в США были связаны с хранившимися в холодильнике мягкими сырами или полуфабрикатами мясных продуктов [24].

Проблема пищевого листериоза помимо медицинского приобретает и существенное социально-экономическое значение. Изъятие зараженных партий продуктов из торговли, ограничение их ввоза и вывоза, остановка производства наносят ущерб в сотни миллионов долларов США и европейским странам – экспортерам сыра и мясных продуктов [17, 25, 26].

В литературе нет данных о контагиозности при

листериозе. Зараженный человек или носитель инфекции может быть источником только при возникновении неонатальной и перинатальной патологии. Наблюдается вертикальная передача от матери к плоду, возможно заражение новорожденного при прохождении через родовые пути. Листерии выделяют из 5–6% образцов кала здоровых людей [9,10].

При листериозе у взрослых инкубационный период варьирует от 11 до 70 дней. Заражающие дозы листерий, поступающие с пищей, неизвестны, но в эксперименте на приматах требовалось не менее  $10^9$  КОЕ *L. monocytogenes* для воспроизведения инфекции [12].

### Терапия больных листериозом

При листериозе терапией выбора является сочетание ампициллина [взрослые – 8–12 г/сут в 4 введения; дети – 200 мг/(кг·сут) в 4 введения] и гентамицина [5 мг/(кг·сут) в 3 введения] в течение 2–6 нед в зависимости от клинических проявлений. При наличии противопоказаний к ампициллину используют монотерапию ко-тримоксазолом – 15 мг/(кг·сут) в 3 введения [1, 27, 28].

### Биология и факторы патогенности листерий

*Listeria monocytogenes* – небольшая грамположительная неспорообразующая палочка, факультативный анаэроб, хемоорганогетеротроф.

Листерии ферментируют глюкозу, каталазоположительны, оксидазоотрицательны. Оптимальная температура роста – 30–37°C, хотя листерии как психрофильные микроорганизмы могут расти в широком диапазоне температуры, начиная от +4°C. При

температуре 20–25°C листерии подвижны за счет образования немногочисленных перитрихальных жгутиков. При температуре 37°C жгутики, как правило, не образуются, и листерии неподвижны [29].

Из шести известных в настоящее время видов листерий (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*), только *L. monocytogenes* патогенна для человека и животных, а *L. ivanovii* – для животных (табл.1). Хотя известно не менее 16 сероваров *L. monocytogenes*, большая часть случаев заболеваний связана с сероварами 4b, 1/2a, 1/2b [9, 58]. Фаготипирование позволяет определить 60–80% выделенных клинических штаммов.

Научный аспект интереса к листериям связан с тем, что эти бактерии стали одной из наиболее популярных моделей изучения внутриклеточного паразитизма [30, 31].

Все этапы взаимодействия с эукариотической клеткой и внутриклеточной репликации листерий достаточно хорошо изучены. Они включают:

- взаимодействие листерий со специфическими рецепторами эукариотической клетки;
- активную индукцию фагоцитоза, в результате которой бактерия оказывается в первичной фагосоме, окруженная однослойной мембраной;
- лизис первичной вакуоли;
- деление в цитоплазме эукариотической клетки;
- полимеризацию актина, необходимую для передвижения бактерии по цитоплазме с образованием характерного "актинового хвоста";
- проникновение в соседнюю клетку путем продавливания мембраны и образования "пальцеобразной" инвагинации в соседнюю клетку;

Таблица 1. Дифференцирующие признаки видов рода *Listeria*

Признаки	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>
$\beta$ -Гемолиз	+	–	–	+	+	–
САМР-тест ( <i>Staphylococcus aureus</i> )	+	–	–	–	+	–
САМР-тест ( <i>Rhodococcus equi</i> )	+	–	–	+	–	–
Образование кислоты из: маннитола	–	+	–	–	–	–
$\alpha$ -метил-D-маннозида	+	+	+	–	–	+
L-рамнозы	+	+	d	–	–	d
растворимого крахмала	–	+	–	–	–	–
D-ксилозы	–	–	–	+	+	+
Гидролиз гиппурата	+	–	+	+	–	–
Восстановление нитрата	–	+	–	–	–	–
Патогенность для мышей	+	–	–	+	–	–

**Обозначения:** "+" – 90% и более штаммов положительные; "–" – 90% и более штаммов отрицательные; d – 11–89% штаммов положительные; пробел означает, что определений не проводили; "+" – переменный результат.

Таблица 2. Факторы патогенности *L. monocytogenes*

Белок	Молекулярная масса, кДа	Ген	Функция
PrfA	27	<i>prfA</i>	Регуляция транскрипции генов вирулентности
Листеролизин О	58	<i>hly</i>	Лизис первичной и вторичной фагосом
РІСА (фосфатидилинозитол – специфичная фосфолипаза С)	36	<i>plcA</i>	Лизис фагосомы
Лецитиназа	33	<i>plcB</i>	Лизис вторичной фагосомы
Металлопротеаза	57	<i>mpl</i>	Посттрансляционная модификация лецитиназы
ActA	67	<i>actA</i>	Полимеризация актина
Интерналин, InlB	88,65	<i>inlA, inlB</i>	Индукция фагоцитоза

– лизис вторичной вакуоли, окруженной двойной мембраной;

– новый цикл деления в соседней клетке.

Известен ряд биологически активных молекул и поверхностных белков листерий, играющих важную роль на различных этапах взаимодействия с эукариотической клеткой (табл. 2).

Лучше всего изучен листериозин О – порообразующий тиолзависимый гемолизин с молекулярной массой 58 кДа. Листеролизин, "главный фактор" патогенности листерий, обладает выраженным токсическим эффектом при заражении лабораторных животных, вызывая их гибель. При взаимодействии с эукариотической клеткой листериозин О участвует в лизисе вакуоли (первичной и вторичной), обеспечивая свободное деление листерий в цитоплазме.

Фосфатидилинозитол – специфичная фосфолипаза С (РІСА), белок с молекулярной массой 36 кДа. Участвует в лизисе мембраны первичной вакуоли вместе с листериозином О.

Фосфатидилхолин – специфичная фосфолипаза С (РІСВ), лецитиназа с молекулярной массой 33 кДа. Фермент видоспецифичен для *L. monocytogenes*, участвует в лизисе вторичной вакуоли.

Помимо более изученной мембранолитической функции перечисленных ферментов имеются данные об их регуляторной функции на уровне сигнальной трансдукции мембранных белков эукариотической клетки.

Металлопротеаза (*mpl*) – полипептид с молекулярной массой около 60 кДа. Благодаря металлопротеазе неактивная форма лецитиназы с молекулярной массой 33 кДа переходит в активную форму с молекулярной массой 29 кДа.

На этапах инвазии выявлена роль нескольких поверхностных белков. Интерналин А (InlA), белок с молекулярной массой 88 кДа, участвует в инвазии эпителиальных клеток. Интерналин В, белок клеточной стенки с молекулярной массой 65 кДа, необходим для инвазии клеток гепатоцитов, но не эпителия кишечника. По-видимому, экспрессия *inlA* и *inlB* отражает специфику клеточного тропизма листерий. На этапе инвазии важную роль играет главный внеклеточный белок Р60. Это муреингидролаза, необходимая также для клеточного деления и выявляемая у всех видов рода *Listeria*.

Способность листерий индуцировать полимеризацию актина обеспечивает возможность активного движения возбудителя по цитоплазме клеток. В этом процессе участвует поверхностный белок *actA* с молекулярной массой 67 кДа, индуцирующий полимеризацию актина.

Гены, кодирующие известные факторы вирулентности, расположены на фрагменте хромосомы размерами около 10 тыс. пар нуклеотидов [32]. Функционально они объединены в 4 оперона (рис. 1), транскрипция которых полностью (ген *plcA* и гены *mpl – actA* оперона) или частично (*hly* и *inlAB*) находится под контролем регуляторного белка PrfA [33, 34]. Сам ген *prfA* может транскрибироваться как с двух собственных PrfA-независимых промоторов, так и в составе бицистронного транскрипта, индуцирующегося на промоторе гена *plcA*. Это позволяет PrfA контролировать свою собственную экспрессию.

Гены патогенности листерий активируются, по-видимому, только в результате получения сразу нескольких внешних сигналов, свидетельствующих о

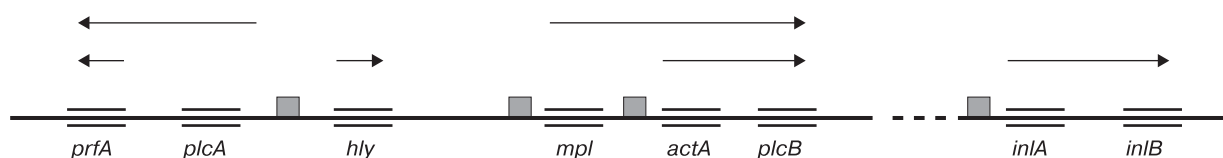


Рис. 1. Схема PrfA-регулона (стрелками обозначены единицы транскрипции, квадратами – сайты связывания PrfA)



попадании возбудителя в эукариотический организм. Работа в области генетики листерий в настоящее время во многом связана с изучением путей передачи внешних сигналов, в том числе с идентификацией низкомолекулярных веществ, контролирующей активность регуляторного белка PrfA.

Способность перемещаться по цитоплазме клетки за счет полимеризации актина и переходить из клетки в клетку, "продавливая" мембрану, позволяет патогенным листериям преодолевать барьеры слизистой оболочки кишечника без контакта с антителами, комплементом и нейтрофилами. Поступая в кровяное русло, возбудитель может перемещаться в различные места, поражая преимущественно мозг и плаценту.

### **Лабораторная диагностика**

Листерии не относятся к числу микроорганизмов, культивирование которых представляет какие-либо трудности. Для этого можно использовать широкий спектр питательных сред – мясопептонный агар, агар Хоттингера, кровяной агар, триптически-соевую среду и т. д.

До начала 80-х годов окраска мазков из клинического материала, выделение культуры на известных средах в сочетании с серологическими методами исследования являлись основными компонентами лабораторной диагностики листериоза. Однако рост числа спорадических случаев и эпидемических вспышек листериоза способствовал выявлению многочисленных уязвимых мест традиционной диагностики.

Так, в клинических образцах возбудитель морфологически может быть сходен с дифтероидами и различными кокками. Известны случаи ложной идентификации *L. monocytogenes* в качестве коринебактерий, энтерококков и стрептококков и наоборот. Выделение "дифтероидов" из крови или ликвора позволяет клиницисту заподозрить в этом микроорганизме *L. monocytogenes*, но не более того. При листериозном менингите окраска мазков из ликвора позволяет выявить возбудитель не более чем в 40% случаев.

Выделение возбудителя из клинического материала и продуктов питания оказалось малоэффективным без селективных компонентов и методов. Поэтому в 80-е годы были созданы селективные среды и методы, значительно повышающие эффективность выделения и сократившие сроки идентификации *L. monocytogenes* [35].

Анализ серологической структуры листерий показал, что она крайне неудобна для диагностики. Серотипы листерий не являются видоспецифическими. Они могут быть общими для разных

видов листерий, независимо от их патогенности для человека. В сочетании с традиционной для серологических методов исследования относительно низкой чувствительностью и специфичностью, ретроспективным характером диагностики и широким распространением бактерионосительства при листериозе этот недостаток значительно снижает область применения серологических методов.

Специфика антигенной структуры листерий повлияла и на разработку экспресс-методов диагностики листериоза и выявления возбудителя в продуктах питания. Молекулярные методы экспресс-диагностики листериоза разрабатываются с большей интенсивностью, чем иммунологические. Тем не менее в практике отечественных бактериологов серологические методы остаются основными. Они чаще всего используются как методы лабораторной диагностики листериоза.

### **Серологические методы диагностики**

В табл. 3 представлено распределение серотипов среди видов листерий. *L. monocytogenes* имеет одну или несколько общих антигенных детерминант с другими видами листерий, кроме *L. welshimeri*. Поэтому само по себе установление серотипа без применения иных методов не позволяет установить диагноз инфекции, вызванной *L. monocytogenes*.

Наиболее перспективным для серологической диагностики представляется определение антител к секретируемому фактору патогенности листерий – листериозину O [36]. Но даже эту более специфичную методику авторы рекомендуют использовать только для выявления неинвазивных бессимптомных форм болезни при эпидемических вспышках листериоза.

В России для серологической диагностики используют препараты для РСК, выпускаемые НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии (г. Покров, Владимирская обл.), и РНГА, разработанные Омским НИИ природно-очаговых болезней [40, 56].

В качестве особенности отечественной серологической диагностики следует отметить, что серовары с 1/2a по 3C, используемые в международной классификации, объединены в первую серогруппу, а остальные серовары – во вторую [40]. На наш взгляд, данная группа методов сохраняет практическое значение лишь при проведении сероэпидемиологических обследований и санитарно-гигиенических мероприятий на животноводческих объектах для профилактики листериоза у животных и обслуживающего персонала.

Таблица 3. Серология видов рода *Listeria*

Вид	Серотипы
<i>L. monocytogenes</i>	1/2A, 1/2B, 1/2C, 3A, 3B, 3C, 4A, 4/AB, 4B, 4C, 4D, 4E, "7"
<i>L. ivanovii</i>	5
<i>L. innocua</i>	4AB, 6A, 6B
<i>L. welshimeri</i>	6A, 6B
<i>L. seelegeri</i>	1/2B, 4C, 4D, 6B

### Бактериологическая диагностика и идентификация листерий

При подозрении на листериоз у больных исследуют кровь и ликвор – при септической форме, менингитах и менингоэнцефалитах, синовиальную жидкость – при воспалении суставов, остеомиелите, меконий – при заболеваниях новорожденных, околоплодную жидкость, плаценту, отделяемое родовых путей – у женщин, родивших мертвых или больных детей.

Выделение культуры *L. monocytogenes* и ее идентификация являются необходимыми для окончательного подтверждения диагноза листериозной инфекции.

Для выделения листерий из клинического материала и продуктов питания используют селективные факторы. Наибольшее значение имеют температурный фактор и селективные добавки [3, 35, 37].

Метод холодного обогащения при температуре +4°C, основанный на психрофильности листерий, весьма эффективен, но из-за длительных сроков инкубации (10–60 дней) не может быть рекомендован для клинической диагностики. В современных схемах выделения листерий обычно используют инкубацию при температуре 30°C в течение 24–48 ч в бульоне с селективными добавками для обогащения исследуемого образца.

Среди широкой гаммы селективных агентов, использовавшихся в разное время для выделения листерий, наибольшее значение сохраняют ингибиторы сопутствующей микрофлоры и дифференцирующие индикаторы, представленные в табл. 4.

Наибольшее распространение для выделения листерий получили Оксфорд агар и PALCAM агар [37, 38].

В состав *Оксфорд агара* входят следующие селективные добавки (в г/л):

- эскулин – 1,0,
- цитрат железистого аммония – 0,5,
- хлорид лития – 15,0,
- циклогексимид – 0,4,
- колистин – 0,02,
- акрифлавин – 0,005,

Таблица 4. Основные селективные агенты, используемые при выделении листерий

- Теллурид калия
- Налидиксовая кислота
- Хлорид лития
- Акрифлавин
- Эскулин
- Красители (фенилрот)
- Антибиотики (цефтазидим, полимиксин В)
- Циклогексимид

цефотетан – 0,002,  
фосфомицин – 0,01.

В состав *PALCAM агара* входят (в г/л):

- эскулин – 0,8,
- цитрат железистого аммония – 0,5,
- хлорид лития – 15,0,
- акрифлавин – 0,005,
- полимиксин В – 0,01,
- цефтазидим – 0,02,
- фенилрот – 0,08.

В качестве обогатительного бульона обычно используют различные варианты триптиказо-соевого бульона с дрожжевым экстрактом и селективным компонентом, включающим солянокислый акрифлавин (0,02–0,01 г/л), налидиксовую кислоту (0,05–0,01 г/л) и циклогексимид (0,05–0,01 г/л).

Схемы выделения листерий в зависимости от степени контаминации и количества листерий в исследуемом материале включают либо непосредственный высев на селективный агар, либо обогащение исследуемого образца на селективном бульоне при температуре 30°C в течение 24–48 ч с последующим высевом на селективный агар.

На Оксфорд агаре вырастают черные колонии *L. monocytogenes*, окруженные черным ореолом. На PALCAM агаре колонии листерий серо-зеленые с черным вогнутым центром. Для них также характерен черный ореол на красном фоне агара. Последующий анализ характерных колоний, утилизирующих эскулин (в результате чего и происходит почернение среды), позволяет на основании ограниченного числа тестов идентифицировать культуру *L. monocytogenes* [25, 35].

Помимо теста на подвижность методом укола в полужидкий агар при комнатной температуре (листерии подвижны при температуре 18–25°C и неподвижны при 37°C) особое значение имеют тесты, позволяющие идентификацию *L. monocytogenes* совместить с дифференциацией от других непатогенных для человека листерий (табл. 5, рис. 2). *L. monocytogenes* формирует рамнозу и не утилизирует ксилосу и маннит, обладает β-гемолитической активностью на кровяном агаре. Весьма информативен САМР-тест, в котором культура *L. monocyto-*

Таблица 5. Основные характеристики, используемые для дифференциации *Listeria monocytogenes* от других видов листерий

Признак	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. grayi</i>
Ферментация:						
маннитола	-	-	-	-	-	+
ксилозы	-	+	+	-	+	-
рамнозы	+	-	-	+/-	+/-	+/-
Бета-гемолиз	+	+	+	-	-	-
САМР-тест – усиление гемолиза около штриха:						
<i>Rhodococcus equi</i>	-/+	+	-	-	-	-/+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	+	-	-	-
Патогенность для человека	Высокая	Низкая	Низкая	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

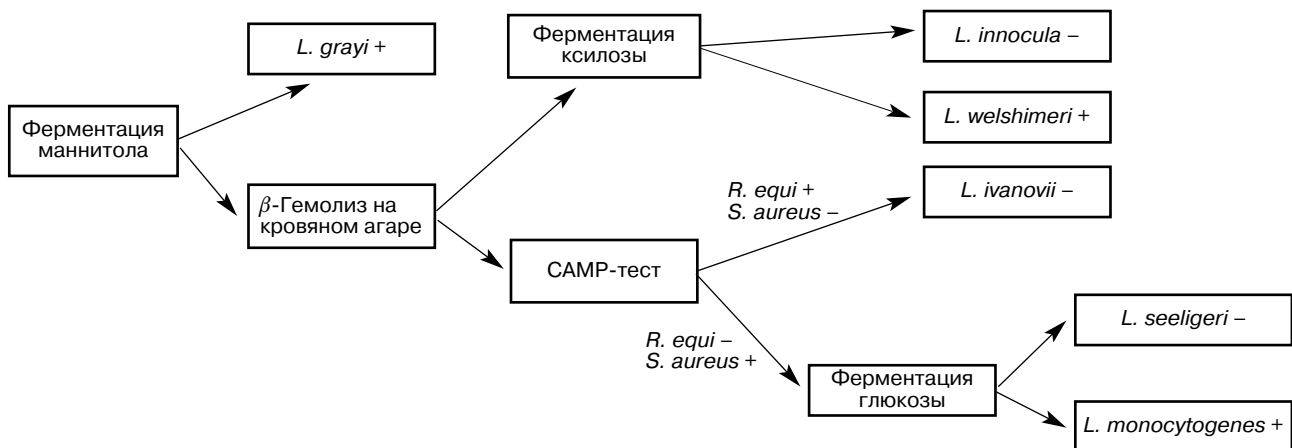


Рис. 2. Схема идентификации видов *Listeria* spp.

*genes* дает положительную реакцию, образуя зону усиления гемолиза с гемолитическим штаммом *Staphylococcus aureus* и, в большинстве случаев отрицательную с *Rhodococcus equi* на чашках с кровяным агаром.

Для идентификации листерий в качестве дополнительных тестов используют агглютинацию с поливалентной листериозной сывороткой и фаготипирование с помощью диагностического набора типовых листериозных бактериофагов (L2A и L4A), лизирующих 60–80% выделенных культур листерий [40].

Для ускоренной идентификации листерий можно использовать идентификационные системы API *Listeria* (Биомерье, Франция) и их аналоги. В связи со значительными недостатками серо- и фаготипирования листерий большое внимание уделяется молекулярному типированию штаммов *L. monocytogenes*. Применение пульс-электрофореза и полимеразной цепной реакции (ПЦР) представляется наиболее перспективным для типирования вирулентных штаммов листерий, хотя их использование в рутинной бактериологической практике пока ограничено [41–45].

## Методы экспресс-диагностики

Практически весь спектр современных методических подходов пытались использовать для ускоренного выявления листерий: иммунофлюоресценцию, иммуноферментный анализ, моноклональные антитела, радиоиммунологический метод, ДНК-зонды, ПЦР, проточную цитометрию и др. [46–51]. Однако в клинической диагностике листериоза они не нашли применения.

Основная область использования экспресс-методов – выявление листерий в продуктах питания. Однако и здесь приоритет в соответствии с международными и национальными регламентами стран – экспортеров продовольствия принадлежит классической бактериологии, хотя в дальнейшем поиск новых высокоспецифичных антигенных и нуклеотидных маркеров может изменить ситуацию.

Определенное значение для клинической диагностики листериоза имеют автоматизированные идентификационные системы, в которых инкубация в бульоне сочетается с биохимической и биофизической идентификацией возбудителя. Поскольку, как правило, *L. monocytogenes* встречается

в исследуемом материале реже многих других условно-патогенных микроорганизмов, ее идентификация требует специальной программы, соответствующей питательной среды и особого внимания к результатам утилизации углеводов и N-ацетил- $\beta$ -глюкозаминидазной реакции [52].

На наш взгляд, при анализе клинического материала (ликвора, крови, околоплодной жидкости, плаценты) перспективно применение ПЦР с использованием праймеров на основе последовательностей гена листериозина O (*hly*) или фосфолипазы (*plcA*). Метод обладает высокой чувствительностью и позволяет выявить возбудитель в течение нескольких часов [53].

Хотя фрагмент хромосомы, на котором расположены гены, кодирующие факторы патогенности *L. monocytogenes*, используемые в ПЦР, сходен с аналогичным фрагментом *L. ivanovii* и *L. seeligeri*, в наших экспериментах мы не наблюдали перекрестных реакций [54]. Однако опыт применения ПЦР при анализе клинического материала недостаточен для практических рекомендаций по его использованию в качестве основного метода диагностики.

### Заключение

Приведенные данные свидетельствуют о "многоголкой" роли листерий в инфекционной патологии человека и необходимости дальнейшего совершенствования санитарно-эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики листериоза в России.

На наш взгляд, быстрый прогресс в этой области может быть достигнут преимущественно в результате объединения усилий в организаторской работе бактериологов, эпидемиологов и специалистов в

области гигиены питания на следующих ключевых направлениях :

1) налаживание производства отечественных селективных сред для выделения листерий (PALCAM агар, Оксфорд агар, накопительный бульон) и других реагентов, необходимых в современных схемах выделения и идентификации *L. monocytogenes* в соответствии с международными стандартами;

2) регламентация общепринятых методов выделения и идентификации возбудителя соответствующими документами Министерства здравоохранения РФ;

3) регламентирующее показателя *L. monocytogenes* для сыра и продуктов животного происхождения в качестве гигиенического требования, предъявляемого к качеству и безопасности пищевых продуктов, и внедрение его в практику текущего санитарно-эпидемиологического надзора; критерий безопасности – *L. monocytogenes* не допускается в 25 г продукта [55];

4) осуществление комплекса мероприятий, по профилактике листериоза у беременных, включающих бактериологическое обследование на листериоз, особенно в случаях отягощенного акушерского анамнеза, выполнение рекомендаций по питанию, исключающих потребление продуктов, в которых наиболее вероятно размножение листерий (мягкие и рассольные сыры типов камамбер, рокфор, брынза, а также продукты пищевой индустрии для быстрого питания, например гамбургеров, не прошедших длительной термообработки перед употреблением), мониторинг за листериями в акушерских стационарах для профилактики внутрибольничного листериоза.

### Литература

- Murray E.G., Webb R., Swann. A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus bacterium monocytogenes. J Pathol Bacteriol 1926; 29:407-39.
- Gray M.L. Killinger. *Listeria monocytogenes* and listeric infections. Bact Rev 1966; 30:309-82.
- Farber J.M., Peterkin P.I. *Listeria monocytogenes*, a food-born pathogen. Microbiol Rev 1991; 55: 476-511.
- Listeriosis is on the increase – says comission. Dairy Ind Int 1989; 9:9.
- Mead P.S., Slutsfeer L., Dietz V., et al. Food-related illness and death in the United States. Emerging Infect Dis 1999; 5:607-26.
- Бакулов И.А., Котляров В.М., Шестиперова Т.И. Эпидемиологические и эпизоотологические аспекты листериоза. Журн микробиол 1994; 5:100-5.
- Тартаковский И.С., Палей О.С., Опочинский Э.Ф. и др. Листерии в инфекционной патологии человека – современная концепция. ЗНиСО 1994; 3:1-4.
- Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. Сб сан вет правил. М., 1996.
- Seeliger H.P. *Listeria* and Law in "Listeria 1992, ISOPOZ XI". Copenhagen 1992; 1-6.
- Schuchat A., Swaminathan B., Broome C.V. Epidemiology of Human Listeriosis. Clin Microbiol Rev 1991; 4:169-83.
- Литвин В.Ю., Емельяненко Е.Н., Пушкарева В.И. Патогенные бактерии, общие для человека и растений: проблемы и факты. Журн микробиол 1996; 2:101-4.
- Lorber B. Listeriosis. Clin Infect Dis 1996; 24:1-11.
- Kaufmann S.H. Immun intracell Bacteria 1993; 11: 129-63.
- Mac Donald T., Carter P.B. Cell-mediated immunity to intestinal infection. Infect Immunol 1980; 28:516-23.

15. Gellin B.G., Broome C.V. Listeriosis. JAMA 1989; 261:1313-20.
16. Durand M., Calderwood S.B., Weber D., et al. Actual bacterial meningitis in adults: a review of 493 episodes. N Engl J Med 1993; 328:21-8.
17. Carvajal A., Fredericson W. Fatal endocarditis due to *Listeria monocytogenes*. Rev Infect Dis 1988; 23:976-8.
18. Riedo F.X., Pinner R.W., de Lourdes Tosca M., et al. A point-source food-borne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness. J Infect Dis 1994; 170:693-6.
19. Пронин А.В., Белый Ю.Ф., Тартаковский И.С. и др. Иммунологические и протективные свойства основных белков внешней мембраны *L. monocytogenes*. Журн микробиол 1996; 3:53-6.
20. Mac Kaness G.B. Cellular resistance to infection. J Exp Med 1962; 116:381-406.
21. Linnan M.J., Mascola X., Lou V., et al. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N Engl J Med 1988; 319:823-8.
22. Schlech W.F., Lavique P.M., Bortolussi R.A. et al. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. N Engl J Med 1983; 308:203-6.
23. Schwartz B., Hexter D., Broome C.V. Investigation of an outbreak of listeriosis: new hypothesis for the etiology of epidemic *Listeria monocytogenes* infection. J Infect Dis 1989; 159:680-5.
24. Schuchat A., Dearey K.A., Wonger I., et al. Role of food in sporadic listeriosis. Case-control study of dietary risk factors. JAMA 1992; 267:2041-5.
25. Карликанова Н., Куваева И., Карликанова Г. Листерии в молоке и в молочных продуктах. М.: Углич; 1999.
26. Костенко Ю.Г., Шагова Т.С., Янковский К.С. Листерии – критерий безопасности мясных продуктов. Мясн индустрия. 1997; 3:23-4.
27. Charpentier E., Gerbaand G., Jacquet C., et al. Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species. J Infect Dis 1995; 172:277-81.
28. Meyer R., Liu S. Determination of the effect of antibiotics in combination against *Listeria monocytogenes*. Diagn Microbiol Infect Dis 1987; 6:199-206.
29. Weaver P.F. Morphological, physiological and biochemical characterization. In: James G.L., editor. Isolation and identification *Listeria monocytogenes*. Atlanta: CDC; 1989. p. 39-43.
30. Portnoy D.A., Chakraborty T., Goebel W., Cossart P. Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* pathogenesis. Infect Immun 1992; 60:1263-7.
31. Sheehan B., Kock S., Dramsis, et al. Molecular and genetic determinants of the *Listeria monocytogenes* infections process. Curr Topics Microbiol Immunol 1994; 192:187-215.
32. Sheehan B., Klarsfeld A., Msade K.T., Cossart P. Differential activation of virulence gene expression by prf A, the *Listeria monocytogenes* virulence regulator. J Bacteriol 1995; 177:6469-76.
33. Ермолаева С.А., Белый Ю.Ф., Тартаковский И.С. Изменение уровня экспрессии факторов вирулентности *Listeria monocytogenes* под влиянием внешних условий. Мол ген микробиол вирусол 2000; 1:17-9.
34. Ermolaeva S., Belyi Yu., Tartakovsky I. Characteristics of induction of virulence factor expression by activated charcoal in *Listeria monocytogenes*. FEMS Microbiol Lett 1999; 174:137-41.
35. Hitchins A.D. *Listeria monocytogenes* in: FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. 1995: 1001-13.
36. Greenington R., Darji A., Wehland J., et al. Listeriolysin and IrpA. Are major protein targets of the human humoral response against *Listeria monocytogenes*. Infect Immun 1997; 65: 3976-80.
37. Microbiological examination for dairy purposes. Section 3.15 Detection of *Listeria monocytogenes*, ISO standards 1993; 1-7.
38. Curtis G.D., Mitchell R., King A., Griffing J. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Lett Appl Microbiol 1989; 8:95-8.
39. Van-Netten P., Perales I., Van-de-Moosdijk A., et al. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and others *Listeria* spp. Int J Food Microbiol 1989; 8:299-316.
40. Лабораторная диагностика листериоза животных и людей, меры борьбы и профилактики. Госагропром, МЗ СССР. М.; 1987.
41. Маракуша Б.И., Дарвиш К., Тартаковский И.С. Характеристика штаммов *L. monocytogenes*, выделенных в России, и их типирование с помощью пульс-электрофореза. Журн микробиол 1996; 3:60-4
42. Brosch R., Chen J., Luchansky J. Pulsed-field fingerprinting of *Listeria*: identification of genomic divisions for *Listeria monocytogenes* and their correlation with serovar. Appl Environm Microbiol 1994; 60:2584-92.
43. Czajra I., Bsat N., Piani M., et al. Differentiation of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by 16S & RNA Genes and Intraspecies Discrimination of *Listeria monocytogenes* strains by Random Amplified polymorphic DNA polymorphisms. Appl Environm Microbiol 1993; 59:304-8.
44. Gilot P., Genicot A., Andre P. Serotyping and esterase typing for analysis of *Listeria monocytogenes* populations recovered from foodstuffs and from human patients with listeriosis in Belgium. J Clin Microbiol 1996; 34:1007-10.
45. Jersek B., Gilot P., Gubina M., et al. Typing of *Listeria monocytogenes* strains by repetitive elements sequence-based PCR. J Clin Microbiol 1999; 37:103-9.
46. Curiale M.S., Lepper W. Enzyme-linked immunoassay for detection of *Listeria monocytogenes* in Dairy products, seafoods and meats. JAOAC Int 1994; 77:1472-89.
47. Fitter S., Henzenroeder M., Thomas C.J. A combined PCR and selective enrichment method for rapid detection of *Listeria monocytogenes*. J Appl Bacteriol 1992; 73:53-9.
48. Jacobsen C.N., Rasmussen I., Jakobsen M. Viability staining and flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes*. J Microbiol Methods 1997; 28:35-43.
49. Peterkin P., Idziak E., Shappe A. Detection of *Listeria*

- monocytogenes* by direct colony hybridization on hydrophobic Grid-membrane filters by using chromogen-labelled DNA probe. Appl Environm Microbiol 1991; 57:586-91.
50. Niederhauser C., Hofelein C., Lu Thy, et al. Comparison of "Gen-Probe" DNA probe and PCR for detection of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated soft cheese and semi-soft cheese. Res Microbiol 1993; 144:47-54.
51. Ralovich B. Detection and epidemiological typing of *Listeria* strains. Diagnostic methods for *Listeria* infection. Acta Microbiol Hungarica 1993; 40:3-38.
52. Funke G., Peters K., Azarena-Roman M. Evaluation of the Rapid CB plus system for the identification of Coryneform bacteria and *Listeria* spp. J Clin Microbiol 1998; 36:2439-42.
53. Ермолаева С.А., Маракуша Б.И., Тартаковский И.С. и др. Видоспецифическое выявление *Listeria monocytogenes* методом направленной амплификации ДНК. Мол ген микробиол вирусол 1994, 1;26-30.
54. Gouin E., Mengaud J., Cossart P. The virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes* is also present in *Listeria ivanovii*, an animal pathogen and *Listeria seeligerii*, a nonpathogenic species. Infect Immun 1994; 62:3550-3.
55. Шевелева С.А., Карликанова Н.Р. О регламентировании показателя *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах и сырье в России. ЗНиСО. 1999; 11:22-5.
56. Березкина Г.В. Технология получения и обоснование применения диагностикума эритроцитарного листериозного сухого для РНГА. В сб.: Актуальные вопросы медицинской биотехнологии. Томск; 1991. 1:159-61.
57. Belyi Y., Varfolomeeva N., Tartakovsky I. A simple colony-blot method for identification of *Listeria* in food samples. Med Microbiol 1995; 184:105-8.
58. Tratt D.I., Robertson I. D., Hampson D.I. Genetic characterization of isolates of *Listeria monocytogenes* from man, animals and food. J Med Microbiol 1993; 38:122-8.

УДК 616.126-002-022

## Антибактериальная терапия инфекционного эндокардита

В.П. Тюрин, Ю.Г. Тихонов

Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко, Москва

*Инфекционный эндокардит (ИЭ)* является тяжелой инфекцией, которая без лечения практически всегда приводит к смертельному исходу. ИЭ вызывается широким спектром микроорганизмов, преимущественно стрептококками (зелеными) и стафилококками. Значительно реже эндокардит может быть обусловлен другими бактериями, а также грибами, хламидиями, риккетсиями. Основой успешного лечения ИЭ является

проведение своевременной длительной парентеральной химиотерапии высокими дозами бактерицидных антибактериальных препаратов. Настоящая статья посвящена вопросам выбора оптимальной антибиотикотерапии в зависимости от вида возбудителя и его чувствительности, а также при неустановленной этиологии ИЭ.

**Ключевые слова:** инфекционный эндокардит, антибиотикотерапия.

### Antibacterial Therapy of Infective Endocarditis

V.P. Tjurin, I.G. Tichonov

Main Military Hospital named under N.N. Burdenko, Moscow

*Infective endocarditis (IE)* is a life-threatening infection that is invariably lethal without intensive antibacterial treatment. Wide array of microorganisms has been encountered as causative agents of infection with streptococci (viridans streptococci) and staphylococci being the most common. Other bacteria, fungi, chlamydiae, rickettsiae, etc. are less frequently responsible for IE. The cornerstone of successful therapy is a prolonged parenteral

treatment with high doses of appropriate bactericidal antibiotics. We review published recommendations for antimicrobial treatment of IE caused by specific microorganisms depending on their antibiotic susceptibility and empiric antibacterial treatment of IE with unknown etiology as well. Short regimens of antibiotic therapy will be also discussed.

**Key words:** Infective endocarditis, antibacterial treatment.

*Инфекционный эндокардит (ИЭ)* вызывается разнообразными микроорганизмами: в большинстве случаев бактериями, реже грибами, риккетсиями и хламидиями. Существуют единичные сообщения о возможной микоплазменной этиологии. Ежегодно публикуются сообщения о выделении в качестве возбудителя ИЭ новых экзотических микроорганизмов. Несмотря на это стрептококки и стафилококки продолжают оставаться основными возбудителями ИЭ.

В табл. 1 обобщены данные о возбудителях 955 случаев ИЭ, которые показывают, что частота выделения стрепто- и стафилококков составила 74,7%. Большинство авторов отмечает возрастание доли стрептококков (44%) в том числе зеленых, в структуре возбудителей ИЭ и отеснение стафилококков на вторую позицию (30,7%). Третье место среди возбудителей ИЭ прочно занимают энтерококки (9%). Грамотрицательные бактерии в 4,1% случаев были причиной заболевания. Остальные микроорганизмы встречались в единичных случаях.

Одна из важнейших проблем антимикробной терапии инфекций – растущая резистентность возбудителей к наиболее часто применяемым антибиотикам. Среди случаев сепсиса, вызванного золотистым стафилококком в Англии, в частности в Уэль-

Контактный адрес:

Тюрин Владимир Петрович  
105229, Москва, Госпитальная площадь, д. 3,  
ГВКГ им. Бурденко  
Тел.: (095) 263-08-37  
Эл. почта: aisyn@glasnet.ru

Таблица 1. **Этиология современного инфекционного эндокардита [20–24]**

Возбудители	Частота, %
Стрептококки зеленящие	25,1 (17,0 – 32,8)
Стрептококки прочие	18,9 (6,6 – 23,2)
Стафилококки золотистые	24,8 (16,8 – 56,6)
Стафилококки коагулазонегативные	5,9 (3,2 – 9,6)
Энтерококки	9,0 (6,6 – 18,0)
Пневмококки	0,7 (0 – 2,6)
НАСЕК-группа	1,9 (1,1 – 2,9)
Синегнойная палочка	0,7 (0 – 2,7)
Гонококк	0,3 (0 – 1,6)
Другие грамотрицательные бактерии	1,2 (0 – 3,4)
Хламидии	0,2 (0 – 0,5)
Риккетсии	0,6 (0 – 1,0)
Грибы	0,6 (0 – 5,0)
Прочие	1,9 (0 – 2,6)
Не установлен	8,1 (3,8 – 14,0)

се, частота метициллинорезистентного золотистого стафилококка (MRSA) существенно возросла с 1,6% в 1989 г. до 31,7% в 1997 г. За тот же период отмечен значительный рост частоты резистентности золотистого стафилококка к гентамицину (с 7,5 до 18,7%) и ципрофлоксацину (с 2,9 до 23,1%). Частота множественной лекарственной устойчивости была намного выше у MRSA, чем у метициллиночувствительных (MSSA) штаммов. В Бразилии частота сепсиса, вызванного MRSA, варьировала от 5 до 50% в зависимости от характеристики и величины госпиталя. В США приблизительно 25% стафилококкового сепсиса вызывается MRSA, а в некоторых госпиталях этот возбудитель носит эндемический характер.

О серьезности этой проблемы свидетельствует доклад Департамента налоговой службы Конгресса США за 1995 г.: расходы на лечение сепсиса, вызванного MRSA, составили 10 млн долларов, ванкомицинорезистентными энтерококками (VRE) – 2,6 млн, а метициллинорезистентными коагулазонегативными стафилококками (MRCNS) – 56 млн. В то же время в Дании частота сепсиса, вызванного MRSA, не превышала 0,1%. Летальность при нем в 3 раза выше, чем при инфекциях, обусловленных MSSA [1–4].

Рост числа резистентных к антибиотикам штаммов наблюдается и среди других возбудителей сепсиса. М.А. Pfaller и соавт. [5] установили, что пенициллинорезистентные штаммы зеленящих стрептококков, выделенные от больных сепсисом, были резистентны также к цефтриаксону в 31% случаев, к эритромицину – в 51%, а 15% штаммов были нечувствительны как к цефтриаксону, так и к эритромицину.

В последнее десятилетие стал отмечаться рост числа резистентных штаммов пневмококка. L.M. Martinez и соавт. [6] при определении чувствительности штаммов, выделенных из крови или ликвора, сообщили, что 31,6% штаммов были умеренно устойчивы и 14% резистентны к пенициллину. При этом уровень промежуточной устойчивости и резистентности к цефалоспорином III поколения составил 12,3 и 3,5% соответственно.

Растущая резистентность возбудителей к наиболее часто применяемым антибиотикам требует пересмотра ранее принятых схем антибактериальной терапии ИЭ. При антибактериальной терапии ИЭ необходимо придерживаться соблюдения следующих принципов:

- антибиотикотерапия должна быть этиотропной, что требует выделения возбудителя;
- обязательно исследовать *in vitro* чувствительность выделенного возбудителя к антибиотикам с определением *минимальной подавляющей концентрации* (МПК) и *минимальной бактерицидной концентрации* (МБК);
- следует применять бактерицидные антибиотики в достаточно высоких дозах для уменьшения вероятности развития резистентности микрофлоры;
- антибиотикотерапия должна быть длительной для достижения эрадикации микроорганизмов и предупреждения рецидивов болезни.

Однако эти принципы нередко нарушаются. Так, О. Venetka и соавт. [7] при анализе 327 случаев ИЭ в Германии в 1996–1998 гг. установили, что почти каждого второго пациента лечили без определения чувствительности возбудителя к антибиотикам. Это приводило к более тяжелому течению болезни и высокой летальности.

Основой терапии ИЭ остается применение бактерицидных антибиотиков. Бактериостатические средства, в частности тетрациклины и макролиды, являются препаратами выбора только при таких редких возбудителях ИЭ, как хламидии, микоплазмы, бруцеллы, риккетсии.

Микроорганизмы находятся в вегетациях между фибриновой сетью и клеточными элементами крови, которые, окружая их, препятствуют воздействию антибиотиков. Поэтому антибактериальная терапия должна быть достаточно длительной. Мы придерживаемся классических сроков длительности терапии: 4 нед эффективной терапии при стрептококковой этиологии, 6 нед – при энтерококковой или стафилококковой этиологии и при неустановленном возбудителе ИЭ.

Эффективная антибактериальная терапия – это та терапия, которая позволяет добиться стойкой нормализации температуры тела, после чего она



продолжается еще 4 или 6 нед. Ни о какой профилактической смене антибиотиков через 2–4 нед из-за предполагаемого снижения эффективности их действия не может быть и речи. Это приходится делать лишь при возникновении второй волны лихорадки, не связанной с эмболическими осложнениями, когда можно предполагать развитие резистентности возбудителя к применяемым антибиотикам.

Для достижения высоких и стабильных концентраций в сыворотке крови антибиотики следует вводить парентерально (внутривенно или внутримышечно).

### **Антибактериальная терапия стрептококкового эндокардита**

Режимы антибактериальной терапии ИЭ, обусловленного стрептококками, основываются главным образом на величине МПК пенициллина в отношении выделенных штаммов.

Терапия больного ИЭ, вызванного пенициллиночувствительными штаммами зеленеющих стрептококков (МПК пенициллина  $<0,1$  мг/л), пенициллином 12–18 млн ЕД в сутки или цефтриаксоном 2 г в сутки в течение 4 нед является эффективной в 98% случаев.

В случае ИЭ, вызванного относительно резистентным штаммом зеленеющего стрептококка (МПК пенициллина  $<0,05 >0,01$  мг/л, а также при неизвестной чувствительности), показана терапия пенициллином или цефтриаксоном (4 нед) первые 2 нед в комбинации с гентамицином или нетилмицином. Если зеленеющий стрептококк имеет низкую чувствительность к пенициллину (МПК  $>0,5$  мг/л), то следует применять схемы и дозы, рекомендованные для лечения энтерококкового эндокардита [8].

Анализ литературы и собственный опыт позволяют предложить следующие схемы антибактериальной терапии ИЭ, вызванного стрептококками (табл. 2).

У пациентов с аллергией на пенициллин и другие  $\beta$ -лактамы антибиотиками препарата выбора является ванкомицин в комбинации с гентамицином. Необходимо помнить, что при применении ванкомицина могут возникать лихорадка, аллергическая сыпь, анемия, тромбоцитопения. Он обладает ото- и нефротоксичностью, местным раздражающим действием (флебиты). Внутривенная инфузия должна продолжаться не менее 1 ч во избежание возникновения синдрома "красного человека", индуцированного гистамином и проявляющегося зудом, покраснением кожного покрова, ангионевротическим отеком, бронхоспазмом, гипотонией, тахикардией.

При анализе штаммов *Streptococcus pyogenes*, выделенных в течение последних 80 лет, не обнаруже-

но изменения активности пенициллина. *S. pyogenes* продолжает оставаться абсолютно чувствительным к этому антибиотику. Сообщается о резистентности к другим антибиотикам, в частности к эритромицину, особенно в Японии, Финляндии и Италии, развившейся вследствие частого применения макролидов [9, 10].

### **Антибактериальная терапия стафилококкового эндокардита**

Все стафилококки по отношению к метициллину (оксациллину) делятся на метициллиночувствительные и метициллинорезистентные. Увеличение числа штаммов MRSA стало одной из основных медицинских проблем во всем мире. Их частота колеблется от 8 до 40% среди всех выделенных штаммов золотистого стафилококка [11].

При ИЭ, вызванном метициллиночувствительными *S. aureus* или коагулазонегативными стафилококками, препаратом выбора является оксациллин или цефазолин (табл. 2). В связи с высокой частотой штаммов стафилококков, вырабатывающих  $\beta$ -лактамазы [12], не следует использовать пенициллин или ампициллин. Американская ассоциация кардиологов, обобщив результаты лечения стафилококковых эндокардитов комбинацией антистафилококкового пенициллина и гентамицина, пришла к выводу, что такое сочетание усиливало нефротоксический эффект, не повышая клиническую эффективность [8].

А.А. Демин и В.П. Дробышева [13] сообщили об успешной терапии стафилококкового эндокардита комбинацией цефтриаксона по 2–4 г/сут в сочетании с гентамицином в дозе 2–3 мг/кг.

Ванкомицин уступает  $\beta$ -лактамам антибиотикам при лечении стафилококкового эндокардита. Возможными причинами этого являются более медленная бактерицидная активность и худшее проникновение в вегетации. Назначение ванкомицина в сочетании с гентамицином обоснованно при аллергии на пенициллины и цефалоспорины. Однако ванкомицин безусловно является практически незаменимым препаратом для лечения инфекций, вызванных метициллинорезистентными штаммами *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков.

Метициллинорезистентные штаммы стафилококков независимо от результатов тестирования *in vitro* резистентны к всем  $\beta$ -лактамам, в том числе к цефалоспорином и карбапенемам. Поэтому назначение их в этом случае нецелесообразно. Препаратом выбора при лечении ИЭ, вызванного устойчивыми к оксациллину штаммами стафилококков, является ванкомицин в комбинации с гентамицином.

Таблица 2. Схемы антибактериальной терапии инфекционного эндокардита в зависимости от этиологии

Антибиотики	Курс, количество недель
<b>Стрептококки</b>	
Бензилпенициллин (натриевая соль) – 18 млн ЕД/сут внутривенно или внутримышечно постоянно или в 6 введений +/-	4
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	2
Ампициллин – 8–12 г/сут внутривенно или внутримышечно в 4 введения +/-	4
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	2
Цефазолин – 6 г/сут внутривенно или внутримышечно в 3 введения +/-	4
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	2
Цефтриаксон – 2 г/сут внутривенно или внутримышечно однократно в сутки	4
Цефотаксим – 4–6 г/сут внутривенно или внутримышечно в 4 введения	4
Ванкомицин – 30 мг/(кг·сут) внутривенно в 2 введения	4
<b>Метициллиночувствительные стафилококки</b>	
Оксациллин – 12 г/сут внутривенно в 6 введений +/-	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	3–5 дней
Цефазолин – 6–8 г/сут внутривенно в 3 введения +/-	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	3–5 дней
Цефотаксим – 6 г/сут внутривенно или внутримышечно в 3 введения +/-	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	3–5 дней
Ванкомицин – 30 мг/(кг·сут) внутривенно в 2 введения (медленно!)	4–6
<b>Метициллинорезистентные стафилококки</b>	
Ванкомицин – 30 мг/(кг·сут) внутривенно в 2 введения (медленно!)	4–6
<b>Энтерококки</b>	
Бензилпенициллин – (натриевая соль) – 30 млн ЕД/сут внутривенно или внутримышечно постоянно или в 6 введений +	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	4–6
Ампициллин – 12 г/сут внутривенно или внутримышечно в 6 введений +	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	4–6
Ванкомицин – 30 мг/(кг·сут) внутривенно в 2 введения (медленно!) +	4–6
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	4–6
<b>НАСЕК-группа</b>	
Цефтриаксон – 2 г/сут внутривенно или внутримышечно однократно в сутки	4
Ампициллин – 12 г/сут внутривенно или внутримышечно в 6 введений +	4
гентамицин – 1 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2–3 введения	2
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i>*</b>	
Цефтазидим – 4–6 г/сут внутривенно или внутримышечно в 3 введения +/-	4–6
амикацин – 15 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2 введения	2

Окончание табл. 2.

1	2
Цефоперазон – 4–6 г/сут внутривенно или внутримышечно в 3 введения +/- амикацин – 15 мг/(кг·сут) внутривенно или внутримышечно в 2 введения	4–6 2
Цефепим – 4 г/сут внутривенно в 2 введения	4–6
<b>Salmonella spp.*</b>	
Имипенем – 2 г/сут внутривенно в 4 введения или	
Меропенем – 3 г/сут внутривенно в 3 введения	4
Ципрофлоксацин – 0,4–0,8 г/сут внутривенно в 2 введения	4

\*Собственные данные.

Большинство штаммов стафилококков высокочувствительны к рифампицину, но к нему быстро развивается резистентность, если он применяется в виде монотерапии.

Американская ассоциация кардиологов не рекомендует рутинное использование рифампицина для лечения стафилококкового эндокардита естественного клапана. Его целесообразно применять лишь в качестве дополнительного антибиотика у больных с неэффективной традиционной антимикробной терапией [8].

### **Антибактериальная терапия инфекционного эндокардита искусственных клапанов**

Выбор антибиотиков при ИЭ у пациентов с искусственными клапанами сердца проводится по указанным выше принципам, принимая во внимание, что ведущими возбудителями ИЭ протезированных клапанов являются стафилококки, чаще коагулазонегативные.

У пациентов с ИЭ искусственных клапанов, вызванных метициллинчувствительными стафилококками, оптимальной является комбинация оксациллина или цефазолина с гентамицином и рифампицином. При аллергии на  $\beta$ -лактамы или при выделении метициллинрезистентных стафилококков оксациллин заменяют на ванкомицин.

В исследованиях *in vivo* было показано, что рифампицин способствует стерилизации искусственных клапанов, а гентамицин предупреждает развитие рифампицинорезистентных штаммов. Вместо аминогликозидов можно использовать фторхинолоны.

### **Краткосрочные курсы антибактериальной терапии стрептококкового и стафилококкового эндокардитов**

Добавление гентамицина к пенициллину *in vitro* вызывает синергидный антибактериальный эффект. Синергизм действия антибиотиков является

основой краткосрочных курсов терапии. Накоплен значительный опыт применения краткосрочных 2-недельных курсов комбинированной терапии у больных ИЭ, вызванном штаммами зеленеющих стрептококков с высокой чувствительностью к пенициллину (МПК пенициллина <0,1 мг/л).

Комбинация бензилпенициллина с гентамицином или цефтриаксона с нетилмицином [14] позволяет добиться выздоровления 98% больных.

Двухнедельная схема антибиотикотерапии может быть использована только при неосложненных формах ИЭ, вызванного высокочувствительными к пенициллину штаммами зеленеющих стрептококков.

Рабочая группа по изучению эндокардита Британского общества антимикробной химиотерапии рекомендует проводить ее в следующих случаях [15]:

- при ИЭ естественных клапанов;
- при отсутствии таких факторов риска со стороны сердечно-сосудистой системы, как сердечная или аортальная недостаточность, нарушения проводимости;
- при отсутствии тромбэмболических осложнений;
- при величине вегетаций по данным ЭхоКГ не более 5 мм;
- при клинической эффективности антибактериальной терапии в течение 7 дней (нормализация температуры тела, улучшение самочувствия, повышение аппетита и др.).

Суточная доза аминогликозидов может быть введена традиционно в виде 2–3 равных доз или однократно. Доказана лучшая переносимость однократного введения полной суточной дозы аминогликозидов при равной или более высокой эффективности по сравнению с дробным введением препарата. Высокая эффективность аминогликозидов при их введении 1 раз в сутки объясняется зависимостью степени бактерицидности антибиотиков от их концентрации в крови, а также продолжитель-

ным "постантибиотическим эффектом" аминокликозидов *in vitro*. При однократном режиме введения риск нефротоксического действия аминокликозидов ниже, а ототоксического не выше, чем при многократном [16].

Короткий курс антибиотикотерапии возможен при ИЭ трикуспидального клапана у наркоманов, если заболевание обусловлено метициллиночувствительными стафилококками. В этих случаях показано назначение оксациллина в сочетании с аминокликозидом [17, 18]. Поражение левых отделов сердца, развитие эмболических осложнений требует длительной терапии.

### **Антибактериальная терапия энтерококкового эндокардита**

Режимы антибактериальной терапии эндокардита, вызванного энтерококками, основываются преимущественно на показателях МПК выделенных штаммов к пенициллину и аминокликозидам. Лечение энтерококкового эндокардита осложняется тем, что эти микроорганизмы, особенно *Enterococcus faecium*, обладают природной резистентностью к цефалоспорином. Поэтому цефалоспорины не должны назначаться при энтерококковом эндокардите.

Энтерококки сравнительно устойчивы к пенициллину. В обычных дозах пенициллин, ампициллин и ванкомицин действуют на большинство энтерококков лишь бактериостатически. Пенициллин (ампициллин) или ванкомицин в сочетании с гентамицином или стрептомицином оказывают бактерицидное действие в результате синергизма. Другие аминокликозиды, например тобрамицин или амикацин в сочетании с пенициллином или ванкомицином не обладают синергизмом действия в отношении энтерококков и не могут быть использованы при лечении энтерококкового эндокардита (табл. 2).

Степень резистентности энтерококков к аминокликозидам может значительно варьировать. МПК стрептомицина  $\geq 2000$  мг/л и гентамицина  $\leq 500$  мг/л указывает на высокий уровень устойчивости к аминокликозидам.

Высокорезистентные к аминокликозидам штаммы энтерококков не уничтожаются при терапии пенициллином (ампициллином) или ванкомицином в комбинации с аминокликозидами из-за отсутствия синергизма. Некоторые из гентамицинорезистентных штаммов могут быть чувствительными к стрептомицину. В противном случае терапию проводят пенициллином (ампициллином) или ванкомицином в течение 8–12 нед. При безуспешной терапии следует рассмотреть необходимость хирургического лечения.

Если энтерококки имеют высокий уровень резистентности к пенициллинам (МПК  $>16$  мг/л), то препаратом выбора является ванкомицин в комбинации с аминокликозидами. Рекомендуемая длительность комбинированной антибактериальной терапии составляет 4 нед (табл. 2).

При длительности энтерококкового ИЭ более 3 мес до начала лечения и при ИЭ искусственных клапанов комбинированную терапию рекомендуется проводить не менее 6 нед. Продолжительная терапия аминокликозидами может приводить к нарушениям функции почек и снижению слуха, которые могут быть необратимыми. В связи с этим рекомендуется проводить терапевтический лекарственный мониторинг с определением пиковых и остаточных концентраций аминокликозидов в сыворотке крови.

Определенную настороженность вызывает появление сообщений о развитии инфекций, вызванных VRE, частота выделения которых в некоторых зарубежных стационарах в настоящее время превышает 10% и имеет тенденцию к постоянному росту. Летальность при сепсисе, вызванном VRE (36,6%), больше, чем в случаях, обусловленных ванкомициночувствительными штаммами (13,6%).

Несмотря на отсутствие сообщений о выделении VRE в России, тенденция к распространению устойчивых к ванкомицину энтерококков диктует необходимость назначения этого высокоэффективного антибиотика только по строгим показаниям.

До сих пор не найдено оптимального лекарственного режима при эндокардите, вызванном VRE. Некоторые штаммы VRE остаются чувствительными к ампициллину, который может быть применен в этих случаях.

### **Антибактериальная терапия НАСЕК-эндокардита**

В последнее время показана роль грамотрицательных медленно растущих микроорганизмов группы НАСЕК (по первым буквам входящих в нее микроорганизмов) в развитии ИЭ. В эту группу объединены следующие прихотливые бактерии: *Haemophilus aphrophilus* и *Haemophilus paraphrophilus*, *Actinobaccillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* и *Kingella kingae*. В структуре этиологических факторов ИЭ они составляют 3–7%. Эти микроорганизмы медленно растут в культурах крови. Их выявление требует продолжительной инкубации – до 2 нед и более.

Микроорганизмы группы НАСЕК отличаются достаточно высокой чувствительностью к  $\beta$ -лактам-

мам. Однако выделены штаммы, продуцирующие  $\beta$ -лактамазы. В связи со сложностью проведения тестов по антимикробной чувствительности бактерии группы НАСЕК должны рассматриваться как ампициллинорезистентные.

Цефалоспорины III поколения являются препаратами выбора при этой этиологии ИЭ (табл. 2). Менее предпочтительной является комбинация ампициллина с гентамицином. Длительность терапии составляет 4 нед при поражении естественного клапана и 6 нед при ИЭ искусственных клапанов сердца [8].

Относительно редким возбудителем ИЭ из семейства *Enterobacteriaceae* остается *Salmonella* spp. Несмотря на то что антибиотикорезистентность у сальмонелл пока не представляет реальной угрозы, в середине 90-х годов нами был выделен у больного ИЭ штамм *Salmonella thyphimurium*, нечувствительный ко всем антибиотикам, за исключением карбапенемов и фторхинолонов, применение которых позволило добиться выздоровления пациента.

*Pseudomonas aeruginosa* остается важным возбудителем ИЭ у "внутривенных" наркоманов. В процессе лечения у нее быстро развивается устойчивость к применяемым антибиотикам, что приводит к клинической и микробиологической неэффективности антимикробной терапии. В настоящее время наиболее часто применяемыми режимами терапии являются комбинации цефтазидима или антисинегнойных пенициллинов (тикарциллин, пиперациллин) с аминогликозидами (табл. 2).

### Эндокардит, обусловленный грибами

С целью снизить чрезвычайно высокую летальность при эндокардите, вызванном грибами, достигавшую 60–100%, в начале 60-х годов был предложен комбинированный медикаментозно-хирургический метод лечения.

Большинство исследователей рекомендует использовать амфотерицин В с ранним (через

1–2 нед) оперативным вмешательством. Целесообразно добавление 5-флуцитозина к амфотерицину В, что обеспечивает *in vitro* синергизм для некоторых грибов.

### Эмпирическая терапия при неустановленной этиологии инфекционного эндокардита

После завершения забора крови на стерильность, когда еще неизвестен результат исследования, назначается эмпирическая антибактериальная терапия. Чем меньше продолжительность эмпирической терапии, то есть чем быстрее идентифицируется возбудитель и его чувствительность к антибиотикам, тем лучше результаты лечения. Если из крови удастся многократно выделить возбудитель, то антибактериальная терапия пересматривается в соответствии с его чувствительностью к антибиотикам. В тех случаях, когда установить возбудитель не удастся, продолжается эмпирическая терапия.

Так как наиболее частыми возбудителями ИЭ являются стрептококк и стафилококк, то стартовая терапия должна быть такой же, как при стрептококковом или стафилококковом эндокардите. Для уточнения предполагаемой этиологии болезни необходимо оценить входные ворота инфекции, характер начала заболевания, температурную реакцию и осложнения, развившиеся к этому времени.

Входные ворота инфекции ассоциируются с определенными возбудителями. ИЭ, развившийся после экстракции зуба или других манипуляций в полости рта, преимущественно обуславливается зеленым стрептококком. Предшествующие нагноительные заболевания кожи и подкожной жировой клетчатки (абсцессы, стрептодермии) указывают на возможность стафилококковой или стрептококковой этиологии.

При наличии указаний на аденомэктомию, хронический пиелонефрит, эпицистостому высока вероятность выделения энтерококков или грамотрицательных бактерий. Кесарево сечение или инфу-

Таблица 3. Эмпирическая антимикробная терапия инфекционного эндокардита с неустановленным возбудителем [19]

Клиническая форма	Основная схема	Альтернативная схема
<b>Острое течение:</b>		
естественный клапан	Оксациллин + аминогликозид	Ванкомицин + аминогликозид
<b>Подострое течение:</b>		
естественный клапан	Ампициллин/сульбактам + аминогликозид	Цефтриаксон или ванкомицин + амино-гликозид
искусственный клапан	Ванкомицин + аминогликозид + рифампицин	
"внутривенная" наркомания	Оксациллин + аминогликозид	Ванкомицин + аминогликозид

цированный аборт ассоциированы с энтерококками, стафилококками или анаэробами; подключичный катетер – со стафилококками, кардиохирургические операции – со стафилококками, дифтероидами, грамотрицательными возбудителями, грибами.

ИЭ, вызванный зеленым стрептококком, как правило, начинается незаметно, исподволь. Иногда он проявляется внезапно с эмболии в головной мозг или в другие органы, реже – с пароксизмальных нарушений ритма (пароксизм предсердной тахикардии, мерцательной аритмии), указывающих на наличие сопутствующего миокардита. Стафилококковому эндокардиту свойственно острое внезапное начало с лихорадкой и ознобом.

Температура тела при стрептококковом эндокардите обычно субфебрильная с редкими подъемами

до 39°C. При стафилококковом ИЭ обычно наблюдается гектическая лихорадка – 39–40°C. Гломерулонефрит как осложнение болезни чаще развивается при стрептококковом эндокардите, а менингит, менингоэнцефалит – при стафилококковом.

Для оценки эффективности лечения в конце первой недели антибактериальной терапии целесообразно повторить посев крови на стерильность.

С.М. Oakley [19] рекомендует схемы антибактериальной терапии больных ИЭ с неустановленным возбудителем, представленные в табл. 3.

Ранняя диагностика инфекционного эндокардита и ранняя адекватная антибактериальная терапия – единственный путь к снижению летальности и излечению с минимальными анатомическими изменениями клапанов.

## Литература

1. Conterno L.O., Wey S.B., Castelo A. Risk factors for mortality in *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19:32-7.
2. Frimoedt-Moller N., Esperson F., Skinhoj P., et al. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* bacteremia in Denmark from 1957 to 1990. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3:297-305.
3. Jonson A.P., James D. Continuing increase in invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Lancet* 1997; 350:1710.
4. Speller D.C.E., Jonson A.P., James D., et al. Resistance to methicillin and other antibiotics in *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989–1995. *Lancet* 1997; 350:323-5.
5. Pfaller M.A., Jones R.N., Marchall S.A., et al. Nosocomial streptococcal blood stream infections in the SCOPE program: species occurrence and antimicrobial resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997; 29:259-63.
6. Martinez L.M., Lopes-Hernandez I., Pascual A., et al. Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin, erythromycin and third-generation cephalosporins in Seville, Southern Spain. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3:382-5.
7. Benetka O., Block M., Sangha O., et al. Clinical course of infective endocarditis in the late nineties: preliminary results of the ALKK endocarditis registry. *Proceedings of the XXI Congress of the European Society of Cardiology*; 1999; Barcelona, Spain.
8. Wilson W.R., Karchmer A.W., Dajani A.S., et al. Antibiotic treatment of adult with infective endocarditis due to streptococci, enterococci, staphylococci, and HACEK microorganisms. *JAMA* 1995; 274:1706-13.
9. Francioli P., Ruch W., Stambouliau D., and the International infective endocarditis study group. Treatment of Streptococcal endocarditis with a single daily dose of ceftriaxone and netilmicin for 14 days: A prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1406-10.
10. Horn D.L., Zabriskie J.B. Why have group A streptococci remained susceptible to penicillin? Report on a symposium. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1341-5.
11. Hadjinikolaou L., Stamou S.H., Rizos I., et al. Brucella infective endocarditis: successful combination of medical and surgical treatment. *Proceedings of the XXI Congress of the European Society of Cardiology*; 1999; Barcelona, Spain. p. 2922.
12. Lowy F.D. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 1998; 338:520-32.
13. Демин А.А., Дробышева В.П. Короткие курсы антибактериальной химиотерапии стафилококкового эндокардита. Тез. докл. VI Рос. нац. конгресс „Человек и лекарство“; 1999. с. 150.
14. Francioli P., Ruch W., Stambouliau D., and the International infective endocarditis study group. Treatment of Streptococcal endocarditis with a single daily dose of ceftriaxone and netilmicin for 14 days: A prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1406-10.
15. Simmons N.A., Ball A.P., Eykyn S.J., et al. Antibiotic treatment of streptococcal, enterococcal, and staphylococcal endocarditis. *Heart* 1998; 79:207-10.
16. Barza M., Ioannidis J.P.A., Cappelleri J.C., Lau J. Single or multiple daily doses of aminoglycosides: a meta-analysis. *Br Med J* 1996; 312:338-45.
17. Chambers H.F. Short-course combination and oral therapies of *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Med Clin North Am* 1993; 7:69-80.
18. Torres-Tortosa M., de Cuesta M., Vergara A., et al. Prospective evaluation of a two-week course of intravenous antibiotics in intravenous drug addicts with infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13:559-64.
19. Oakley C.M. The medical treatment of culture-negative infective endocarditis. *Eur Heart J* 1995; 16 (Suppl B):90-3.
20. Delahaye F., Goulet V., Lacassin F., et al. Incidence, characteristics, demographic, clinical, microbi-

- ologiques et evolutives de l'endocardite infectieuse en France en 1990-91. *Med Mal Infect* 1992; 22:975-86.
21. De Man F., Peetermans W.E., Van de Werf F. Changing pattern of etiologic microorganisms in infective endocarditis: comparison of a retrospective study in the 80s and a prospective study in the 90s. Proceedings of the XIXth Congress of the European Society of Cardiology; 1997; Stockholm, Sweden. p. 2046.
22. Kupferwasser I., Darius H., Muller A.M., et al. Clinical and morphological characteristics in *Streptococcus bovis* endocarditis: a comparison with other causative microorganisms in 177 cases. *Heart* 1998; 80:276-80.
23. Selton-Suty C., Hoen B., Grentzinger A., et al. Clinical and bacteriological characteristics of infective endocarditis in the elderly. *Heart* 1997; 77:260-3.
24. Siddiq S., Missri J., Silverman D.I. Endocarditis in an urban hospital in the 1990s. *Arch Intern Med* 1996; 156:2454-8.

УДК 616.379-008.64-06:616.61/.63-022

## Инфекции мочевыводящих путей при сахарном диабете

А. Хопельман, С. Гирлингс

Медицинский факультет, кафедра инфекционных болезней и СПИДа,  
Институт Эйкмана–Уинклера, Университетский медицинский центр, Утрехт, Нидерланды

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) по распространенности уступают только инфекциям дыхательных путей и чаще возникают у женщин. Однако у определенных групп пациентов ИМП развиваются чаще, могут приводить к развитию осложнений, труднее поддаются лечению и имеют тенденцию к рецидивированию. Одной из таких групп являются пациенты с сахарным диабетом, у которых ИМП являются одним из важнейших осложнений наряду с ретино-, нефро- и нейропатией.

Бессимптомная бактериурия встречалась при сахарном диабете ( $n=636$ ) у 26% женщин по сравнению с 6% в контрольной группе ( $p<0,001$ ). Причем при сахарном диабете II типа бактериурия отмечалась у 29% больных, а при диабете I типа – у 21%. Факторами риска бессимптомной бактериурии у пациенток с сахарным диабетом I типа являлись длительное его течение, периферическая нейропатия и макроальбинурия, а II типа – возраст, макроальбинурия, дефицит массы тела и наличие эпизода ИМП в течение предыдущего года. При наблюдении в течение 18 мес у 20% пациенток с сахарным диабетом имелись ИМП. Кроме того, у женщин со II типом диабета при бессимптомной бактериурии более высок риск развития

ИМП по сравнению с пациентками, у которых бактериурия отсутствует ( $p=0,005$ ). У пациенток с бессимптомной бактериурией обнаружена тенденция к более быстрому прогрессированию нарушения функции почек (4,6% по сравнению с 1,5%,  $p=0,02$ ), что, вероятно, обусловлено бактериурией.

Причинами более частого развития ИМП при сахарном диабете, возможно, являются снижение антибактериальной активности "сладкой" мочи, нарушение функции нейтрофилов, повышение адгезии уропатогенов к эпителию мочевыводящих путей. Показано, что моча с повышенным содержанием глюкозы является благоприятной средой для бактерий. В то же время в очень высокой концентрации глюкоза ингибирует их рост. Установлено отсутствие принципиальной разницы в функции нейтрофилов при сахарном диабете и в контрольной группе. Данные нашего исследования свидетельствуют, что штаммы *Esherichia coli*, экспрессирующие фимбрии 1-го типа, имеют более высокую адгезию по отношению к уроэпителию при сахарном диабете.

**Ключевые слова:** инфекции мочевыводящих путей, сахарный диабет, бессимптомная бактериурия.

## Urinary Tract Infections in Patients with Diabetes Mellitus

A. I.M. Hoepelman, S.E. Geerlings

Department of Medicine, Division Infectious Diseases & AIDS  
Eijkman-Winkler Institute University Medical Center, Utrecht, Netherlands

Urinary tract infections (UTI) are second only to respiratory tract infections as problems encoun-

tered by practicing physicians. They occur most often in young healthy adult women and are easy treatable in these patients. However, in some patient groups infections occur more often, can have a complicated course, are more difficult to treat and often recur. Many of them have easily recognisable urological abnormalities, but also more subtle conditions as age over 65 years, treatment with immunosuppressive drugs, HIV-infection with a  $CD4^+$  count below  $200/mm^3$  and last but not

Контактный адрес:

Andy I.M. Hoepelman, MD, Ph. D.

Department of Internal Medicine, room F.02.126, Division

Infectious Diseases & AIDS

PO Box 85500, F02126

3508 GA Utrecht, Netherlands

Тел.: +31-30-2506228

Факс: +31-30-2523741

Эл. почта: I.M.Hoepelman@digd.azu.nl



least diabetes mellitus lead to an enhanced susceptibility for UTI. Besides organ complications as retinopathy, nephropathy and neuropathy, infections are common problems in these patients. UTI complications (e.g., bacteremia, renal abscesses, and renal papillary necrosis) occur more often in diabetic patients.

We recently have completed a study in 636 non-pregnant women with DM (in- and outpatients and diabetics visiting their GP). The prevalence of asymptomatic bacteriuria was 26% compared to 6% in the control group ( $p < 0,001$ ). The prevalence of asymptomatic bacteriuria in the 378 women with DM type 2 was 29% (compared to 21% in those with DM type 1). Therefore, the prevalence of asymptomatic bacteriuria is consistently higher in diabetic women than in non-diabetics. In the study mentioned above risk factors for asymptomatic bacteriuria in all women with DM were retinopathy, macroalbuminuria, a longer duration of the diabetes, a lower body mass index, and a symptomatic UTI in the previous year ( $p < 0,05$ ). Risk factors for asymptomatic bacteriuria in the women with type 1 diabetes included a longer duration of the diabetes, peripheral neuropathy, and macroalbuminuria. The prevalence of asymptomatic bacteriuria was 29% in women with DM type II. Risk factors in these women included age, macroalbuminuria, a lower body mass index, and a UTI in the previous year. All p-values were adjusted for age. There was no association between the diabetes regulation and the pres-

ence of a post-voiding bladder residue and the presence of asymptomatic bacteriuria. We followed the cohort mentioned before for 18 months. Of these 589 women, 115 (20%) developed a symptomatic UTI. Women with DM type II and asymptomatic bacteriuria at baseline had an increased risk of developing UTI, compared to women with DM type II without asymptomatic bacteriuria at baseline ( $p = 0,005$ ). There was no difference in the incidence of a symptomatic UTI between DM type I women with and those without asymptomatic bacteriuria. DM type I women with asymptomatic bacteriuria had tendency to a faster decline in renal function than those without asymptomatic bacteriuria (4,6 versus 1,5%,  $p = 0,02$ ).

Studies demonstrate greater susceptibility of diabetic than of nondiabetic animals to urinary tract infection. Suggested mechanisms are: decreased antibacterial activity due to the "sweet urine", defects in neutrophil function, increased adherence to uroepithelial cells. We have shown that bacteria indeed grow better in urine with glucose, however, very high concentrations inhibit growth and in the clinical study no effect of regulation of DM was documented. We also have shown that no difference exist in PMN function between diabetic women with/without and controls. However, *Escherichia coli* expressing type I fimbriae adhere better to uroepithelial cells of diabetic women.

**Key words:** urinary tract infections, diabetes mellitus, asymptomatic bacteriuria.

## Введение

*Инфекции мочевыводящих путей* (ИМП) по распространенности уступают только инфекциям дыхательных путей, наиболее часто отмечаются у женщин и обычно хорошо поддаются лечению при отсутствии осложняющих факторов. Однако у определенных групп пациентов отмечается более высокая частота осложнений ИМП, они труднее поддаются лечению и склонны к рецидивированию. У большинства этих пациентов имеются анатомические и функциональные аномалии мочевыводящих путей. Другими факторами риска являются пожилой возраст, иммуносупрессивная терапия, ВИЧ-инфекция при количестве CD4-лимфоцитов менее 200/мл. Далеко не последнее место в данном ряду занимает сахарный диабет [1, 2].

Сахарным диабетом страдает 1–2% населения Нидерландов, что в абсолютных числах составляет около 300 тыс. человек. Прогнозируется, что к

2010 г. эта цифра достигнет 400–500 тыс. Инфекции, в том числе ИМП, являются одной из важнейших проблем у больных сахарным диабетом наряду с такими осложнениями, как ретино-, нефро- и нейропатия [3].

В одном крупном исследовании у пациентов с бактериемией сахарный диабет выявлялся в 2/3 случаев, при этом ИМП являлись наиболее частым источником развития бактериемии [4]. В связи с тем, что осложнения ИМП (бактериемия, абсцесс почки, папиллярный некроз) у больных сахарным диабетом развиваются значительно чаще, возникает необходимость диагностировать ИМП на начальных стадиях [3].

## Клиническая картина

ИМП у пациентов, страдающих диабетом, могут протекать в виде бессимптомной бактериурии (выделение одного и того же микроорганизма в количестве  $\geq 10^5$  КОЕ/мл в двух или более пробах мочи,

взятых с интервалом не менее 24 ч) и инфекций, протекающих с соответствующей клинической симптоматикой. В связи с тем, что основным путем инфицирования почек является восходящий путь, можно утверждать, что развитию клинических проявлений ИМП часто предшествует бессимптомная бактериурия.

Такие клинические проявления, как дизурия, гематурия, дискомфорт в поясничной области, повышение температуры тела, характерны не только для цистита и пиелонефрита, вызванных бактериями, они могут возникать и у пациентов с уретритами и вагинитами, обусловленными вирусом простого герпеса и хламидиями. Поэтому необходимым исследованием является оценка бактериурии и пиурии (5 и более лейкоцитов в поле зрения при большом увеличении или 10 и более лейкоцитов в 1 мкл нецентрифугированной мочи).

В типичных случаях при сахарном диабете поражаются верхние отделы мочевыводящих путей [5, 6]. Развитие острого пиелонефрита сопровождается лихорадкой, ознобом, болью в поясничной области, отеком мягких тканей в области позвоночно-реберного угла на стороне поражения, симптомами интоксикации (тошнотой, рвотой) и др. При инфекциях верхних отделов мочевыводящих путей могут быть и симптомы, характерные для вовлечения нижних отделов. Более того, у некоторых пациентов преобладает симптоматика поражения нижних отделов мочевыводящих путей.

ИМП нередко приводят к развитию бактериемии. В ряде случаев развиваются абсцесс почки, папиллярный некроз и эмфизематозный пиелонефрит [7].

Формирование абсцесса почки можно заподозрить у пациентов с отсутствием положительной динамики в течение 72 ч после начала адекватной антибактериальной терапии.

Для папиллярного некроза характерны боль в поясничной области, озноб, лихорадка и, что особенно важно, развитие почечной недостаточности в 15% случаев.

Эмфизематозный пиелонефрит встречается исключительно у больных сахарным диабетом и вызывается в основном грамотрицательными бактериями, реже – смешанной микрофлорой. Это заболевание в большинстве случаев сопровождается некрозом, продукцией газа в почке и окружающих тканях. К клиническим особенностям относятся лихорадка, боль в области поясницы, у 45% пациентов пальпаторно определяется образование. Частым осложнением эмфизематозного пиелонефрита является бактериемия. Наибольшее диагностическое значение имеет обнаружение газа при рентге-

нографии или компьютерной томографии. Наилучшие результаты достигаются при сочетании антибиотикотерапии и хирургического лечения.

### **Эпидемиология бессимптомной бактериурии**

Частота бессимптомной бактериурии при сахарном диабете изучалась в нескольких исследованиях, которые были обобщены G.G. Zhanel и соавт. [8]. Частота выявления бессимптомной бактериурии у женщин варьирует в широких пределах (0–29%, в среднем – 20%). Это может быть связано с необъективностью выборки пациентов, отсутствием отдельной оценки для госпитализированных и амбулаторных больных, а также пациентов с различной степенью тяжести течения фонового заболевания.

В небольшом предварительном исследовании, проведенном на базе нашей клиники, бессимптомная бактериурия выявлена у 32% амбулаторных пациенток, страдающих сахарным диабетом [9]. В дальнейшем при обследовании 636 небеременных женщин с сахарным диабетом установлено, что частота бессимптомной бактериурии составляет 26% по сравнению с 6% в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). У женщин с сахарным диабетом II типа бессимптомная бактериурия выявлялась в 29% ( $n=378$ ) случаев (в сравнении с 21% при диабете I типа) [10].

Таким образом, можно сделать вывод, что частота бессимптомной бактериурии значительно выше у женщин, страдающих сахарным диабетом. Данные, полученные при исследованиях у мужчин, более стабильные: бессимптомная бактериурия выявлялась в 1–2% случаев без каких-либо видимых различий частоты у пациентов с сахарным диабетом и без него.

### **Возбудители инфекции и ее локализация**

Не существует различий в этиологической структуре ИМП у пациентов с диабетом и без него. В большинстве случаев возбудителем является *Escherichia coli* (около 75%), другие энтеробактерии и *Enterococcus faecalis* [11, 12, 13]. При этом около 80% штаммов *E. coli* экспрессируют фимбрии 1-го типа (S.E. Geerlings и соавт., в печати). Иногда ИМП вызывается грибами (*Candida albicans*, *Tolurospis glabrata*).

При фракционном бактериологическом исследовании показано, что примерно у 75% пациентов в инфекционный процесс вовлекаются почки [5, 6]. В целом больные сахарным диабетом составляют большую часть пациентов с осложнениями ИМП (50% пациентов с папиллярным некрозом и 30% – с перинефральными абсцессами) [7].

## Факторы риска, связанные с сахарным диабетом

Считается, что следующие факторы могут обуславливать повышенный риск развития ИМП у больных сахарным диабетом [3]:

- плохая компенсация сахарного диабета;
- нейропатия с неврогенной дисфункцией мочевого пузыря и хронической задержкой мочи;
- пожилой возраст;
- инструментальные манипуляции;
- рецидивирующий вагинит;
- микро- и макроангиопатия;
- нарушение функции лейкоцитов.

В то же время имеются и другие данные. Так, не выявлено корреляции между частотой развития ИМП и длительностью течения сахарного диабета, его компенсацией и наличием нейропатии [11, 12, 14, 15]. С другой стороны, показано значение бактериурии и ретинопатии (не во всех исследованиях) [14, 15], микроангиопатии сосудов почек [12, 15], а также автономной кардиоваскулярной нейропатии [13, 16]. Многие из этих данных противоречивы. Например, при большей длительности течения сахарного диабета симптомы микроангиопатии обычно более выражены.

В наиболее крупном исследовании, в котором учитывались все перечисленные факторы, были установлены следующие факторы риска развития бессимптомной бактериурии у пациенток с сахарным диабетом: наличие ретинопатии, макроальбуминурии, длительное течение диабета, дефицит массы тела, наличие симптомов ИМП в течение предыдущего года ( $p < 0,05$ ) [10]. Факторами риска при I типе диабета являлись длительное течение диабета, периферическая нейропатия и альбуминурия, а при II типе – пожилой возраст, макроальбуминурия, дефицит массы тела и наличие эпизода ИМП в течение предыдущего года.

В целом встречаемость бессимптомной бактериурии у пациенток со II типом сахарного диабета составила 29% [10]. Не выявлено корреляции между степенью компенсации диабета, объемом остаточной мочи и наличием бессимптомной бактериурии [10]. Расчет значений  $p$  производился с учетом возрастных различий.

## Последствия бессимптомной бактериурии при сахарном диабете у женщин

В проспективных исследованиях на ограниченном контингенте больных показано, что симптомы ИМП развиваются у 31% пациентов с бессимптомной бактериурией без сахарного диабета при наблюдении в течение 1 года [36, 37]. Исходя из этого мож-

но предположить наличие связи между бессимптомной бактериурией и развитием в последующем симптомов ИМП, нарушением функции почек, гипертензии, а также повышением летальности. Однако было неизвестно, повышает ли бессимптомная бактериурия риск развития симптомов ИМП и нарушения функции почек при сахарном диабете.

В описанном нами ранее исследовании показано, что у 155 (26%) из 589 пациенток с сахарным диабетом при наблюдении в течение 8 мес развились симптомы ИМП, которые в большинстве случаев требовали назначения антибиотиков. Бессимптомная бактериурия являлась фактором риска развития ИМП в течение последующих 18 мес как у пациенток со II типом диабета, так и у больных без сахарного диабета по сравнению с контрольной группой без бессимптомной бактериурии ( $p = 0,005$ ) [17]. В то же время не выявлено различий в частоте возникновения ИМП у пациенток с I типом сахарного диабета при наличии или отсутствии бессимптомной бактериурии.

Кроме того, выявлена тенденция к более быстрому развитию и прогрессированию нарушения функции почек у пациенток с бессимптомной бактериурией (4,6% по сравнению с 1,5%,  $p = 0,02$ ), что возможно, является ее результатом. Для подтверждения этой гипотезы мы планируем наблюдать данную группу пациенток в течение 5–10 лет.

В другом недавно завершеном исследовании пиелонефрит развивался у 27% больных с сахарным диабетом и бессимптомной бактериурией (14 из 52), не получавших антибактериальную терапию, и у 2% больных при назначении антибиотиков. Проведение антибактериальной терапии достоверно снижало частоту госпитализации по поводу пиелонефрита ( $p = 0,02$ ).

## Патогенез

Экспериментальные данные свидетельствуют о более высокой восприимчивости животных с сахарным диабетом к ИМП [19–22]. Предполагается, что это обусловлено:

- а) сниженной антибактериальной активностью "сладкой" мочи;
- б) нарушением функции нейтрофилов;
- в) повышением адгезии к эпителию мочевыводящих путей.

Нами изучен рост штаммов *Escherichia coli* (3 – из крови, 2 – из мочи, 2 – из фекалий и 1 – лабораторный штамм K12) в моче с добавлением глюкозы и без нее, а также с различным значением pH в сравнении с ростом на бульоне Мюллера–Хинтона [23]. Все штаммы лучше росли на бульоне Мюллера–Хинтона, за исключением лабораторного штамма, росшего одинаково хорошо в моче.

Значительных различий между ростом кишечной палочки в моче больных с диабетом без глюкозурии и пациентов, не страдающих диабетом, не выявлено. В то же время добавление глюкозы в концентрации до 55 ммоль/л (такая концентрация глюкозы может создаваться при плохой компенсации сахарного диабета) повышало скорость роста всех исследуемых штаммов.

Таким образом, можно сделать вывод, что глюкозурия действительно повышает восприимчивость пациентов с сахарным диабетом к ИМП. Однако очень высокие концентрации глюкозы (свыше 55 ммоль/л) подавляют рост бактерий [23].

Крысы с сахарным диабетом в эксперименте были более восприимчивы к ИМП, вызванных *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* [18]. Следует отметить, что условия эксперимента были далеки от идеальных. В исследованиях на крысах бактерии вводили внутривенно. Таким образом исследовался гематогенный путь инфицирования, а не гораздо более важный восходящий путь [19].

Данные значений нарушения функций нейтрофилов также неубедительны [24, 25]. Кроме того, известно, что ИМП не являются основной проблемой у пациентов с нарушенной функцией нейтрофилов или нейтропенией [26]. Мы также не выявили различий в функции полиморфно-ядерных нейтрофилов у женщин с сахарным диабетом с бактериурией и без нее и у здоровых (контроль) [9].

Представляют интерес экспериментальные данные, демонстрирующие повышение адгезии бактерий к уроэпителию животных с сахарным диабетом [20]. Данный феномен может быть опосредован минимум двумя механизмами:

- а) снижением антиадгезивной активности мочи;
- б) повышением адгезивной способности уроэпителиальных клеток.

Некоторые авторы отмечают генетическую предрасположенность к ИМП. Так, рецидивирующие ИМП у пациентов без каких-либо структурных аномалий мочевыводящих путей отмечаются в основном при определенных типах групп крови, что связано с отсутствием экспрессии некоторых групповых антигенов [27, 28]. По-видимому, у данных пациентов рецепторы, ответственные за адгезию, менее защищены или происходит экспрессия других гликофинголипидов [28, 29].

Интересно, что такая же корреляция отмечалась и при сахарном диабете у пациентов со стоматитом или без него, вызванного *C. albicans* [30]. Недавно нами выявлено повышение адгезии кишечной палочки с фимбриями 1-го типа к уроэпителию женщин с сахарным диабетом по сравнению со здоровыми (контроль). При этом не выявлено никаких

различий в адгезии штаммов *E. coli* без фимбрий и с Р-фимбриями (неопубликованные данные).

Как отмечено выше, повышение риска развития ИМП может быть связано с дефектами антиадгезивных механизмов. К известным антиадгезивным веществам мочи относятся олигосахариды и гликопротеин, получивший название белка Тамм-Норсфалл (ТНР), которые покрывают уроэпителий и секретируются в мочу [31, 32].

Фимбрии 1-го типа являются важным фактором адгезии бактерий к буккальным и вагинальным эпителиальным клеткам. Это особенно показательно у пациентов с рецидивирующими ИМП. Фимбрии 1-го типа (экспрессируемые 80% штаммов, вызывающих ИМП у женщин с сахарным диабетом) связываются с ТНР.

Следовательно, можно предположить, что при развитии рецидивирующих ИМП у пациентов с сахарным диабетом имеется дефицит продукции и/или экскреции ТНР. И действительно, у пациентов с сахарным диабетом изменено гликозилирование ТНР и снижена экскреция его несвязанной формы вне зависимости от нарушения функции почек, возраста и степени компенсации сахарного диабета [33].

Однако еще предстоит изучить, существует ли связь между снижением экскреции ТНР и бактериурией при сахарном диабете.

Мы также исследовали экскрецию с мочой интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-8 (ИЛ-8) у женщин с сахарным диабетом, бессимптомной бактериурией и без нее. Более того, мы попытались выявить корреляционную связь между концентрацией указанных цитокинов и наличием известных факторов вирулентности у кишечной палочки, выделенной у данной группы пациенток. Были обнаружены более низкая концентрация ИЛ-6 и ИЛ-8 в моче ( $p = 0,11$  и  $p < 0,001$  соответственно) и меньшая частота выделения известных уропатогенных серотипов *E. coli* ( $p = 0,002$ ) у женщин с сахарным диабетом в сравнении со здоровыми (контроль) [34].

Концентрация ИЛ-8 в моче коррелировала ( $p = 0,03$ ) с фенотипической экспрессией фимбрий 1-го типа, ИЛ-6 – с генотипической ( $p = 0,03$ ) и фенотипической ( $p = 0,04$ ) экспрессией Р-фимбрий у *E. coli*. Более низкие значения лейкоцитурии также коррелировали ( $p < 0,05$ ) с более низкой концентрацией в моче ИЛ-6 и ИЛ-8 [34].

Исходя из сказанного мы заключили, что более низкая концентрация цитокинов и лейкоцитов в моче при сахарном диабете может объяснять повышенную частоту бактериурии у этих пациентов. Очевидно, что для более полного изучения данной проблемы необходимы дополнительные исследования.

## Принципы терапии

ИМП, развившиеся у пациентов с сахарным диабетом, следует рассматривать как осложненные. Говоря о выборе препарата для терапии ИМП у этой группы пациентов, необходимо отметить, что это должен быть препарат, создающий высокую концентрацию в ткани почек (фторхинолоны, котримоксазол), а продолжительность терапии должна быть не менее 10–14 дней.

Неизвестно, однако, следует ли лечить бессимптомную бактериурию? В настоящее время проводится метаанализ влияния антибиотикотерапии при бессимптомной бактериурии на развитие почечной недостаточности и симптоматических ИМП. При этом терапия бессимптомной бактериурии

имеет смысл в том случае, если будет показана ее эффективность в качестве профилактики нефропатии и/или почечной недостаточности.

## Объекты дальнейших исследований

Будущим исследованиям предстоит дать ответы на следующие вопросы.

1. Нужно ли лечить бессимптомную бактериурию?
2. Насколько актуально рецидивирование инфекции после адекватной терапии и эффективна ли в данном случае профилактика?
3. Каков точный механизм повышения адгезии бактерий к уроэпителию при сахарном диабете?
4. Нарушен ли у пациентов с сахарным диабетом иммунный ответ на липополисахариды и другие бактериальные компоненты?

## Литература

1. Hoepelman A.I.M., van Buren M., van den Broek J., Borleffs J.C.C. Bacteriuria in men infected with HIV-1 is related to their immune status (CD4+ cell count). *Aids* 1992; 6:179-84.
2. Johnson J.R., Roberts P.L., Stamm W.E. P fimbriae and other virulence factors in *E. coli* urosepsis: association with patients' characteristics. *J Infect Dis* 1987; 156:225-9.
3. Wheat L.J. Infection and diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1980; 3:187-97.
4. Carton J.A., Maradona J.A., Nuno F.J., et al. Diabetes mellitus and bacteraemia: A comparative study between diabetic and non-diabetic patients. *EJM* 1992; 1: 281-7.
5. Forland M., Thomas V., Shelokov A. Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus. Studies on antibody coating of bacteria. *JAMA* 1977; 238:1924-6.
6. Forland M., Thomas V.L. The treatment of urinary tract infections in women with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1985; 8:499-506.
7. Saiki J., Vaziri N.D., Barton C. Perinephric and intranephric abscesses: a review of the literature. *West J Med* 1982; 136:95-102.
8. Zhanel G.G., Harding G.K., Nicolle L.E. Asymptomatic bacteriuria in patients with diabetes mellitus. *Rev Infect Dis* 1991; 13:150-4.
9. Balasoiu D., Kessel K.C., Kats-Renaud H.J., Collet T.J., Hoepelman A.I. Granulocyte function in women with diabetes and asymptomatic bacteriuria. *Diabetes Care* 1997; 20:392-5
10. Geerlings S.E., Stolk R.P., Camps M.J.L., Netten P.M., Hoekstra J.B.L., Bouter K.P., Bravenboer B., Collet T.J., Jansz A.R., Hoepelman I.M. Prevalence and risk factors for asymptomatic bacteriuria in women with diabetes mellitus. *ICAAC* 1999: abstr 607.
11. Schmitt J.K., Fawcett C.J., Gullickson G. Asymptomatic bacteriuria and hemoglobin A1. *Diabetes Care* 1986; 9:518-20.
12. Hansen R.O. Bacteriuria in diabetic and non-diabetic outpatients. *Acta Med Scand* 1964; 176:721-30.
13. Joffe B.I., Seftel H.C., Distiller L.A. Asymptomatic bacteriuria in diabetes mellitus. *S Afric Med J* 1974; 48:1306-8.
14. Vejsgaard R. Studies on urinary infection in diabetics. II. Significant bacteriuria in relation to long-term diabetic manifestations. *Acta Med Scand* 1966; 179:183-8.
15. Batalla M.A., Balodimos M.C., Bradley R.F. Bacteriuria in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1971; 7:297-301.
16. Sawers J.S., Todd W.A., Kellett H.A., et al. Bacteriuria and autonomic nerve function in diabetic women. *Diabetes Care* 1986; 9:460-4.
17. Geerlings S.E., Stolk R.P., Camps M.J.L., Netten P.M., Collet T.J., Hoepelman I.M. Asymptomatic bacteriuria in diabetic females precedes symptomatic urinary tract infection. *ICAAC* 1999: abstr 604.
18. Zhanel G.G., Nicolle L.E., Harding G.K.M. Untreated asymptomatic bacteriuria (ABU) in women with diabetes mellitus (WDM) is associated with high rates of pyelonephritis. *ICAAC* 1999: abstr 609.
19. Raffel L., Pitsakis P., Levison S.P., Levison M.E. Experimental *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus faecalis* pyelonephritis in diabetic rats. *Infect Immun* 1981; 34:773-9.
20. Obana Y., Nishino T. The virulence of *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* in experimental bladder infection in diabetic mice. *J Med Microbiol* 1989; 30:105-9.
21. Obana Y., Shibata K., Nishino T. Adherence of *Serratia marcescens* in the pathogenesis of urinary tract infections in diabetic mice. *J Med Microbiol* 1991; 35:93-7.
22. Levison M.E., Pitsakis P.G. Effect of insulin treatment on the susceptibility of the diabetic rat to *Escherichia coli*-induced pyelonephritis. *J Infect Dis* 1984; 150:554-60.
23. Geerlings S.E., Brouwer E.C., Gaastra W., Verhoef J., Hoepelman A.I.M. Effect of glucose and pH on uropathogenic and non-uropathogenic *Escherichia coli*; studies with urine from diabetic and non-diabetic individuals. *J Med Microbiol* 1999;48:535-9.

24. Gargan R.A., Hamilton Miller J.M., Brumfitt W. Effect of pH and osmolality on in vitro phagocytosis and killing by neutrophils in urine. *Infect Immun* 1993; 61:8-12.
25. Chernew I., Braude A.I. Depression of phagocytosis by solutes in concentrations found in kidney and urine. *J Clin Invest* 1962; 41:1945-53.
26. Wang Q.N., Qiu Z.D. Infection in acute leukemia: an analysis of 433 episodes. *Rev Infect Dis* 1989; 11 Suppl 7:S1613-S20.
27. Sheinfeld J., Schaeffer A.J., Cordon Cardo C., Rogatko A., Fair W.R. Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. *N Engl J Med* 1989; 320:773-7.
28. Lomberg H., Cedergren B., Leffler H., Nilsson B., Carlstrom A.S., Svanborg Eden C. Influence of blood group on the availability of receptors for attachment of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1986; 51:919-26.
29. Stapleton A., Nudelman E., Clausen H., Hakomori S., Stamm W.E. Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *J Clin Invest* 1992; 90:965-72.
30. Aly F.Z., Blackwell C.C., Mackenzie D.A., et al. Chronic atrophic oral candidiasis among patients with diabetes mellitus – role of secretor status. *Epidemiol Infect* 1991; 106:355-63.
31. Parkkinen J., Virkola R., Korhonen T.K. Identification of factors in human urine that inhibit the binding of *Escherichia coli* adhesins. *Infect Immun* 1988; 56:2623-30.
32. Reinhart H.H., Spencer J.R., Zaki N.F., Sobel J.D. Quantitation of urinary Tamm-Horsfall protein in children with urinary tract infection. *Eur Urol* 1992; 22:194-9.
33. Bernard A.M., Ouled A.A., Lauwerys R.R., Lambert A., Vandeleene B. Pronounced decrease of Tamm-Horsfall proteinuria in diabetics. *Clin Chem* 1987; 33:1264.
34. Geerlings S.E. Cytokine secretion is impaired in women with diabetes mellitus. *ICAAC* 1999: abstr 1609.
35. Stamm W.E., Hooton T.M. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med* 1993;329:1328-34.
36. Gaymans R., Haverharm M.J., Valkenburg H.A., Goslings W.R.O. A prospective study of urinary tract infectious in a Dutch general practice. *Lancet* 1976, 25:674-7.
37. Ronald A.R., Patullo L.S. The natural history of urinary tract infections in adults. *Infect Dis Clin North Am* 1991;3:299-312.

УДК 579.862.2.044:615

## Экономические потери, связанные с инфекциями, вызванными *Staphylococcus aureus*

Р.Дж. Рубин, К.А. Харрингтон, А. Пун, К. Дитрих, Дж.А. Грин, А. Моидуддин

Исследовательская группа Левина, Ферфакс, Вирджиния, США

Переведена и печатается с согласия авторов и редакции журнала «Emerging Infectious Diseases» 1999;5:9-17

На основе статистической информации из больниц и прейскуранта медицинских услуг за 1995 г., полученных в отделе здравоохранения Нью-Йорка, подсчитано общее число госпитализированных больных, летальных исходов и прямых медицинских расходов, связанных с инфекциями, вызванными *Staphylococcus aureus*. Сопоставлены расходы на лечение внебольничных и госпитальных инфекций, вызванных метициллинорезистентными и чувствительными штаммами *S. aureus*. У пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, продолжительность госпитализации, стоимость лечения и летальность были в 2 раза выше, чем у пациентов, госпитализированных в связи с другими инфекциями. Расходы на терапию метициллинорезистентных и чувстви-

тельных штаммов золотистого стафилококка значительно не отличались, однако летальность от инфекций, вызванных резистентными штаммами, была больше (соответственно 21 и 8%). При одинаковой летальности от внебольничных и госпитальных инфекций непосредственные медицинские расходы на лечение одного пациента с внебольничными инфекциями были выше (соответственно 35 300 и 28 800 долларов США). Результаты исследования показывают, что уменьшение частоты внутрибольничных инфекций, вызванных метициллинорезистентными и чувствительными штаммами *S. aureus*, приведет к снижению медицинских расходов.

**Ключевые слова:** инфекции, *Staphylococcus aureus*, фармакоэкономика.

### The Economic Impact of *Staphylococcus aureus* Infection

Robert J. Rubin, Catherine A. Harrington, Anna Poon, Kimberly Dietrich, Jeremy A. Greene, Adil Moiduddin

The Lewin Group, Fairfax, Virginia, USA

Translated and reprinted with permission from «Emerging Infectious Diseases» 1999;5:9-17

We modeled estimates of the incidence, deaths, and direct medical costs of *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients in the New York City metropolitan area in 1995 by using hospital discharge data collected by the New York State Department of Health and standard sources for the costs of health care. We also examined the relative impact of methicillin-resistant versus-sensitive strains of *S. aureus* and of community-acquired ver-

sus nosocomial infections. *S. aureus*-associated hospitalizations resulted in approximately twice the length of stay, deaths, and medical costs of typical hospitalizations; methicillin-resistant and -sensitive infections had similar direct medical costs, but resistant infections caused more deaths (21 versus 8%). Community-acquired and nosocomial infections had similar death rates, but community-acquired infections appeared to have increased medical costs per patient (\$35 300 versus \$28 800). The results of our study indicate that reducing the incidence of methicillin-resistant and -sensitive nosocomial infections would reduce of *S. aureus* infection.

**Key words:** infections, *Staphylococcus aureus*, pharmacoeconomics.

Контактный адрес:

Robert J. Rubin

The Lewin group

9302 Lee Highway, Fairfax, VA 22031-1214, USA

Fax: 703-218-5501

Каждый год у около 2 млн госпитализированных пациентов развиваются внутрибольничные инфекции [1]. При исследовании у пациентов с тяжелыми инфекциями на базе крупной университетской больницы выявлено, что развитие госпитальной бактериемии приводит к возрастанию срока пребывания в отделении интенсивной терапии в среднем до 8 дней, госпитального лечения в среднем до 14 дней и увеличению летальности до 35% [2]. В проведенных ранее исследованиях установлено, что продолжительность пребывания в стационаре пациентов с послеоперационными раневыми инфекциями увеличилась в среднем на 7,4 дня [3].

По данным Национальной системы по надзору за нозокомиальными инфекциями США (National Nosocomial Infection Surveillance System), с 1990 по 1996 г. *S. aureus* был наиболее частым возбудителем внутрибольничных инфекций [4]. Являясь основным возбудителем внутрибольничной пневмонии и хирургических инфекций и вторым по частоте возбудителем внутрибольничных ангиогенных инфекций [4], *S. aureus* нередко вызывает внебольничные инфекции (остеомиелит, септический артрит, инфекционные заболевания кожи, эндокардит и менингит). При этом у более чем 95% пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, терапия антибиотиками, наиболее часто используемыми при внебольничных инфекциях, такими, как пенициллин и ампициллин, была неэффективна [5].

Более того, широкое распространение получили метициллинорезистентные штаммы *S. aureus* (MRSA). Со времени первого сообщения о MRSA в 1960 г. [6] частота вызванных им инфекций значительно возросла в 80-х годах [7, 8]. В настоящее время MRSA стали эндемичными во многих стационарах, обуславливая около 30% всех инфекций, вызванных *S. aureus* [8].

Ванкомицин является практически единственным антибиотиком, эффективным против MRSA. Однако начиная с 1989 г. появились сообщения о ванкомицинорезистентных штаммах энтерококков (VRE) [9], чему способствовало широкое использование этого антибиотика. Высказываются опасения, что даже небольшое увеличение частоты VRE-инфекций может привести к появлению резистентности у *S. aureus*, так как гены, обуславливающие резистентность к ванкомицину, могут быть переданы от VRE [10].

В 1996 г. в Японии впервые описаны штаммы *S. aureus* с промежуточным уровнем резистентности к ванкомицину (VISA) [11]. В 1997 г. в США зарегистрированы два не связанных друг с другом случая инфекций, вызванных VISA (Мичиган и

Нью-Джерси) [12]. В обоих случаях пациенты с повторными MRSA-инфекциями получали несколько курсов терапии ванкомицином в течение 6 мес, что предположительно и привело к развитию промежуточного уровня устойчивости *S. aureus* к ванкомицину. Более того, у пациента из Нью-Джерси за 7 мес до появления инфекции, вызванной *S. aureus* с промежуточным уровнем устойчивости к ванкомицину, была выявлена колонизация VRE. Распространение инфекций, вызванных штаммами VISA, свидетельствует о постоянной эволюции золотистого стафилококка и вероятном появлении полностью резистентных к ванкомицину штаммов микроорганизма [12].

В настоящее время предлагаются различные меры контроля за инфекциями, вызванными MRSA [13]. Контроль эндемии MRSA в больницах является трудным и дорогостоящим мероприятием [14–17]. Контроль за распространением инфекций в США менее жесткий, чем в Канаде или некоторых европейских странах, где такие меры, как выявление носителей, проспективное наблюдение за пациентами и медперсоналом, а также использование мупироцина, способствовали улучшению контроля за MRSA [18].

Понимание масштабов данной проблемы важно для администрации больниц, фондов медицинского страхования и медперсонала, занимающихся разработкой мер профилактики распространения MRSA и появления ванкомицинорезистентных штаммов *S. aureus*. Однако экономические аспекты инфекций, вызванных *S. aureus*, недостаточно изучены. В большинстве исследований стоимость терапии госпитальных инфекций определялась без учета возбудителя [2, 19, 20].

Более того, сообщаемые затраты на лечение в разных исследованиях отличаются вследствие неоднородности популяций, различий в локализации инфекций и методик их оценки [16, 21]. Лишь в нескольких работах оценивалась стоимость лечения инфекций, вызванных MRSA в сравнении с метициллиночувствительными штаммами [22, 23], а также изучались отдельные вспышки MRSA-инфекций. В силу приведенных причин подобные исследования не обеспечивают адекватной информации о серьезности обсуждаемой проблемы.

Нами оценены общее число случаев госпитализации, летальность и расходы на терапию инфекций, вызванных *S. aureus*, в больницах Нью-Йорка в 1995 г. Этот регион был выбран в связи с широким распространением штаммов с множественной устойчивостью [22, 24]. Сравнивались расходы на терапию внутрибольничных и внебольничных инфекций, а также инфекций, вызванных метицилли-



Таблица 1. Коды МКБ-9-КМ для определения инфекции в SPARCS

Инфекция	МКБ-9-КМ*	Диагноз
Пневмония	482.4	Стафилококковая пневмония
Бактериемия	038.1	Стафилококковая септицемия
	790.7	Бактериемия
	996.62	Инфекция и воспалительная реакция, возникшие в результате введения сосудистого катетера, имплантации или трансплантации
Эндокардит	421.0	Острый и подострый инфекционный эндокардит
	996.61	Инфекция и воспалительная реакция, возникшие в результате введения внутрисердечного катетера, имплантации или трансплантации
Хирургическая инфекция	998.3	Нарушение целостности операционной раны
	998.5	Послеоперационная инфекция
Остеомиелит	730.01–730.09	Острый остеомиелит
	730.10–730.19	Хронический остеомиелит
Септический артрит	711.00–711.09	Гнойный артрит
	996.66	Инфекция и воспалительная реакция, возникшие при заболеваниях полости суставов

\* Международная классификация болезней, 9-я редакция, клиническая модификация, 1995 г.

ночувствительными (MSSA) и метициллинорезистентными штаммами *S. aureus*.

### Исследование

**Данные.** В ходе исследования использована информация из административной документации общегосударственных систем планирования и исследований США (SPARCS) [26]. SPARCS – это база данных, в которой собрана информация, переданная больницами в Департамент здравоохранения о всех пациентах, находившихся на лечении в больницах штата Нью-Йорк: расположение больниц, характеристика пациентов (возраст, пол, расовая и этническая принадлежность), первичные и вторичные диагнозы, диагностические и лечебные процедуры, продолжительность стационарного лечения, общая его стоимость, статус пациента.

Были проанализированы данные из стационаров Бронкса, Датчесса, Кингса, Манхэттена, Нассау, Оранжа, Путнама, Куинса, Ричмонда, Рокленда, Саффолка, Ольстера и Вестчестера. Данные об инфекционной заболеваемости и другая информация, отсутствовавшая в SPARCS, получена в результате обработки литературных источников или определена клинической комиссией, состоящей из 4 врачей-инфекционистов. Остальные данные о больничных расходах, использовавшиеся в исследовании, взяты из прейскуранта программы “Medicare” (Medicare Fee Schedule, 1995 [27]) и Red Book [28] – каталога оптовых цен на фармацевтические препараты для амбулаторных больных.

**Определения.** В настоящее исследование из базы данных SPARCS, использующей коды Международной классификации болезней IX пересмотра, клиническая модификация (МКБ-9-КМ), включались пациенты с наиболее частыми внутрибольничными инфекциями, вызванными *S. aureus*: пневмонией, бактериемией, эндокардитом, хирургическими инфекциями, остеомиелитом и септическим артритом (табл. 1). За исключением кодов 482.4 (стафилококковая пневмония) и 038.1 (стафилококковая септицемия) в остальных кодах не указывается возбудитель.

Для определения инфекции, вызванной *S. aureus*, использовались коды без указания возбудителя вместе с кодами МКБ-9-КМ, в которых возбудитель уточняется (то есть 041.11 – бактериальная инфекция, вызванная *S. aureus*, независимо от места выделения). Пациенты с множественными инфекциями учитывались только один раз. Расшифровывались диагнозы при первом обращении.

В связи с тем, что в SPARCS не указан тип инфекции (внутрибольничная или внебольничная), инфекции присваивалась категория госпитальной или внебольничной по решению клинической комиссии (табл. 2).

**Моделирование частоты инфекций.** Код 041.11 МКБ-9-КМ (бактериальная инфекция, вызванная *S. aureus*) редко используется в больничных отчетах. Поэтому частота инфекций, вызванных *S. aureus*, основанная на учете кода 041.11 в SPARCS, меньше реальной. Встречаемость инфек-

Таблица 2. **Определение нозокомиальной или внебольничной инфекции, вызванной *S. aureus***

Инфекция	Внутрибольничная	Внебольничная
Пневмония	Вторичный диагноз*	Первичный диагноз
Бактериемия	Катетер-ассоциированные или хирургические инфекции**	Не катетер-ассоциированные, не хирургические инфекции
Эндокардит	Инфекции искусственных клапанов	Инфекции неповрежденных клапанов
Хирургические инфекции	Все	Нет
Остеомиелит	Нет	Все
Септический артрит	Инфекции протезированных суставов	Инфекции непротезированных суставов

\*Код МКБ-9-КМ 482.4 как первичный диагноз и 482.4 как пример другого диагноза.

\*\*Код 996.62, 038.1 или 790.7.

Таблица 3. **Частота инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, по данным литературы и клинической комиссии**

Инфекция	Диагноз	<i>S. aureus</i> , %	Источник
Бактериемия	Стафилококковая септицемия	50	30
	Бактериемия	15	31, 32
Эндокардит	Инфекция и воспалительная реакция, возникшие в ответ на введение сосудистого катетера, имплантацию или трансплантацию	16	4
	Острый и подострый бактериальный эндокардит	30	Клиническая комиссия
	Инфекция и воспалительная реакция, возникшие в ответ на введение внутрисердечного катетера, имплантацию или трансплантацию	14	
Хирургическая инфекция	Нарушение целостности операционной раны и послеоперационная инфекция	20	4
Остеомиелит	Острый и хронический остеомиелит	50	34, 35
Септический артрит	Гнойный артрит	11 (возраст < 5 лет) 33 (возраст 5–18 лет) 55 (возраст > 18 лет)	33
	Инфекция и воспалительная реакция, связанные с внутрисуставным протезом	25	33

ций, вызванных *S. aureus* (кроме пневмонии), учитывалась следующим образом (табл. 3): частота каждого вида инфекции (например, эндокардит) в SPARCS умножалась на процент инфекций, вызванных *S. aureus* (по определению клинической комиссии). Встречаемость пневмонии определялась путем учета кода 482.4 МКБ-9-КМ (стафилококковая пневмония). Для кода 038.1 МКБ-9-КМ (стафилококковая септицемия) только 50% случаев регистрировались как вызванные *S. aureus* (остальные условно расценивались как вызванные эпидермальным стафилококком) [30].

**Оценка летальности.** Летальность считалась вызванной бактериемией, эндокардитом или внебольничной пневмонией, если эти заболевания были внесены в SPARCS как первичный диагноз, а код 041.11 использовался как вторичный диа-

гноз. Летальность при внутрибольничной пневмонии соответствовала ее реальному показателю. Летальность при вентиляционной пневмонии обуславливалась тяжестью сопутствующего заболевания и пневмонией. Исследования, проведенные на согласованных когортах, показали, что летальность при вентиляционной пневмонии составляла от 0 до 57% от общей летальности [36–39]. На основании этого, по заключению клинической комиссии, летальность, вызванная внутрибольничной пневмонией у пациентов с вентиляционной пневмонией (коды V46-0 и V46-1, МКБ-9-КМ), составляла 50% от летальности, зарегистрированной в SPARCS [30, 40].

Летальность, вызванная не вентиляционной пневмонией, равнялась летальности, зарегистрированной в SPARCS. Учитывая низкие показатели

летальности, приведенные в SPARCS (около 2%), мы считали, что остеомиелит, септический артрит и хирургические инфекции не вызывали летальных исходов.

**Оценка прямых медицинских расходов.** Прямые медицинскими расходами считали стоимость лечения инфекций, вызванных *S. aureus*, профессиональных медицинских расходов во время госпитального лечения и после выписки пациента. Для каждого инфекционного заболевания прямые медицинские расходы определяли умножением средних прямых медицинских расходов на одного пациента на частоту заболевания. Средние затраты на лечение одного пациента с инфекцией, вызванной *S. aureus*, считались равными средней стоимости больничных расходов по данным SPARCS, если заболевание (то есть пневмония, бактериемия) кодировалось как первичный диагноз и при использовании кода 041.11 как вторичного диагноза.

Профессиональные медицинские расходы, связанные с госпитализацией, складывались из визитов и консультаций врача для оценки состояния и лечения пациента, расходов на проведение рентгенологических и хирургических процедур и анестезии. Средняя частота врачебных визитов в расчете на одного пациента основана на оценках клинической комиссии. Стоимость услуг врача дана в соответствии с каталогом цен "Medicare Payment Rates" (1995) для района Лонг-Айлэнд, штат Нью-Йорк, в котором приведены средние цены в сравнении с ценами в Нью-Йорке и округах штата.

Медицинские расходы после выписки пациента включают в себя расходы, связанные с лечением осложнений, возникающих после выписки (то есть абсцесс, аневризма), требующих повторной госпитализации, проведения внутривенной и пероральной антибактериальной терапии в амбулаторных условиях. Средняя частота проведения медицинских процедур в расчете на одного пациента приведена согласно оценке клинической комиссии. Стоимость повторной госпитализации приведена в расценках SPARCS, расходы на проведение амбулаторной внутривенной терапии взяты из литературных данных [40, 41], стоимость лекарственных средств – из каталога оптовых цен для амбулаторных пациентов [25].

**Моделирование MRSA- и MSSA-инфекций.** В SPARCS не указывается связь инфекции с MRSA или MSSA, а код V-09 (резистентный микроорганизм) используется редко. Поэтому в исследовании мы смоделировали сравнительную заболеваемость, летальность и расходы на лечение MRSA и MSSA. Встречаемость MRSA и MSSA приведена из расчета, что 29% инфекций вызваны MRSA [8].

Клинической комиссией подсчитано, что 10% внебольничных пневмоний вызваны MRSA (включая инфекции, требующие длительного пребывания в стационаре).

Для определения количества смертей от инфекций, вызванных MRSA и MSSA, клинической комиссией был подсчитан коэффициент риска летального исхода. Таким образом, количество летальных исходов рассчитывалось исходя из найденного соотношения риска и общего количества летальных исходов от инфекций, вызванных *S. aureus*. Прямые медицинские расходы на одного пациента при лечении инфекций, вызванных MRSA и MSSA, определяли следующим образом: разность в использовании средств для лечения пациентов с инфекциями, вызванными MRSA и MSSA, подсчитывалась клинической комиссией. Эта разность обращалась в разность стоимости лечения по методу, описанному в разделе "Оценка прямых медицинских расходов". Средняя стоимость лечения пациентов с инфекциями, вызванными MRSA и MSSA, рассчитывалась с использованием средней стоимости лечения пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, и средней разности стоимости лечения пациентов с инфекциями, вызванными MRSA и MSSA.

### **Заболеваемость, летальность и общие экономические потери**

**Инфекции, вызванные *S. aureus*.** Из 1 351 362 больных, выписанных из стационаров (кроме стационаров акушерско-гинекологического профиля), по данным SPARCS для Нью-Йорка за 1995 г., 13 550 (около 1%) пациентов были выписаны с диагнозом "инфекция, вызванная *S. aureus*" (табл. 4). Общие прямые медицинские расходы составили 435,5 млн долларов США, средняя продолжительность пребывания в стационаре – примерно 20 дней, прямые расходы на лечение – около 20 млн долларов США (табл. 4). Было зарегистрировано 1400 летальных исходов (летальность – 10,3%). Для сравнения: средняя стоимость пребывания пациента в стационаре, по данным SPARCS (кроме стационаров акушерско-гинекологического профиля), составила 13 263 доллара США, средняя продолжительность госпитального лечения – 9 дней, летальность – 4,1%.

Таким образом, стоимость лечения, продолжительность пребывания и летальность пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, были приблизительно в 2 раза больше, чем для среднестатистического госпитализированного пациента.

Из всех вызванных *S. aureus* инфекций наиболее часто встречались пневмонии и бактериемии, кото-

Таблица 4. Частота, продолжительность госпитального лечения и экономические потери от инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, в зависимости от вида инфекции

Инфекция	Частота, абс. число	Продолжительность госпитального лечения, дни	Прямые медицинские расходы		Летальность	
			Общие, млн \$ США	На 1 пациента, \$ США	Абс. число	%
Пневмония	3600	22,2	128,3	35 400	890	24,7
Бактериемия	4400	18,0	137,0	31 300	470	10,7
Эндокардит	550	25,9	25,8	47 200	40	7,3
Хирургическая инфекция	2300	13,6	50,5	21 800	НД*	НД*
Остеомиелит	2000	23,9	68,4	35 100	НД	НД
Септический артрит	700	22,0	25,5	35 100	НД	НД
Всего ...	13 550	19,8	435,5	32 100	1400	10,3

\*НД – нет данных.

Таблица 5. Прямые медицинские затраты – средние расценки стационара, профессиональные расходы и расходы после выписки (в расчете на одного пациента)

Инфекция	Расценки стационара		Расценки врачей		Расходы после выписки		Итого \$ США
	\$ США	%	\$ США	%	\$ США	%	
Пневмония	33 400	94	2000	6	НД*		35 400
Бактериемия	27 900	89	2100	7	1300	4	31 300
Эндокардит	41 700	88	4300	9	1200	3	
Хирургическая инфекция	20 200	93	1600	7	НД*		21 800
Остеомиелит	30 000	86	3200	9	1800	5	35 000
Септический артрит	30 600	87	3100	9	1400	4	35 100
В среднем	29 000	90	2300	7	800	3	32 100

\*НД – нет данных.

рые обусловили 60% общих прямых медицинских расходов и 97% летальных исходов. Как видно из данных табл. 4, стационарное лечение пациентов с эндокардитом было самым продолжительным (26 дней) и самым дорогостоящим (47 200 долларов США); госпитальное лечение пациентов с хирургическими инфекциями было самым коротким (14 дней) и требовало наименьших затрат в расчете на одного пациента (21 800 долларов США).

Больничные расходы в среднем составили 29 000 долларов США (90% от всех расходов), оплата персоналу – 2300 (7%) долларов США и расходы после выписки пациента – 800 (3%) долларов (табл. 5).

**Нозокомиальные инфекции** составили 46% от общего количества заболеваний, вызванных *S. aureus*, – 6300 случаев (табл. 6). Средние затраты на лечение пациента с внебольничной инфекцией (35 300 долларов США) были приблизительно на

6500 долларов больше затрат на лечение пациента с нозокомиальной инфекцией (28 800 долларов США). Летальность от внебольничных и госпитальных инфекций существенно не различалась (10,5 и 10,2% соответственно).

**Инфекции, вызванные MRSA.** Частота заболеваний, вызванных MRSA, составила 21% (2 780) от общего количества заболеваний, вызванных *S. aureus* (29% от 6 300 внутрибольничных и 10% от 7250 внебольничных инфекций), в то время как частота инфекций, вызванных MSSA, составила 79% (10 770) от общего числа заболевших (табл. 6). Расходы на лечение пациента с MRSA были на 2500 долларов США больше, чем расходы на лечение пациента с MSSA (34 000 и 31 500 долларов США соответственно). Разница в стоимости лечения инфекций, вызванных MRSA и MSSA, обусловлена большей стоимостью ванкомицина, более продолжительным сроком госпитального лечения и расхо-

Таблица 6. Частота, продолжительность госпитального лечения, расходы и летальность от инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, в зависимости от штамма и резистентности

Характер инфекции	Частота, абс. число	Прямые медицинские расходы		Летальность	
		общие, млн \$ США	на 1 пациента, \$ США	Абс. число	%
Внутрибольничная	6300	181,0	28 800	640	10,2
Внебольничная	7250	254,5	35 300	760	10,5
пневмония	1500	51,7	34 900	380	25,3
не пневмония	5750	202,8	35 400	380	6,6
MRSA	2780	94,5	34 000	590	21,2
MSSA	10 770	339,4	31 500	810	7,5

Таблица 7. Статистический анализ

Показатели	Прямые медицинские расходы, млн \$	Умерли, абс. число
Результаты исследования	435,5	1400
Нижняя граница: только код 041.11	236,4	740
Верхняя граница: все подходящие расходы	599,0	1960

дами на изоляцию пациента. Для внутрибольничных инфекций стоимость лечения одного пациента с MRSA была на 3700 долларов США больше, чем стоимость лечения пациента с инфекцией, вызванной MSSA (31 400 и 27 700 долларов США соответственно). Летальность пациентов при инфекциях, вызванных MRSA, была в 2,5 раза больше таковой в результате инфекций, вызванных MSSA (21,2 и 7,5% соответственно).

**Анализ чувствительности.** Несмотря на то что в SPARCS недостаточно часто использовался код 041.11 МКБ-9-КМ, он отражает нижнюю границу распространения инфекций, вызванных *S. aureus*. По данным SPARCS, код 041.11 был использован 7366 раз и соответствовал экономическим потерям в 236,4 млн долларов США и 2% летальности – 740 летальных исходов (табл. 7). Верхнюю границу экономических потерь от инфекций, вызванных *S. aureus*, определяли из расчета, что все больничные расходы и смерть пациентов относились к инфекциям, вызванным *S. aureus*, при которых общая стоимость составила 599 млн долларов США, а летальность – 14,5% (1960 летальных исходов).

Анализ показал (переменными являлись процент внутрибольничных MRSA, процент изолированных пациентов, разница в продолжительности пребывания в стационаре пациентов с MRSA и MSSA, длительность пребывания в стационаре пациентов с вентиляционной пневмонией, число катетер-ассоциированных инфекций, вызванных *S. aureus*, и процент бактериемий, септицемий и послеоперационных инфекций, вызванных *S. aureus*), что разница в стоимости лечения одного случая MRSA по сравнению с MSSA составила от 1770 до 5100 долларов США.

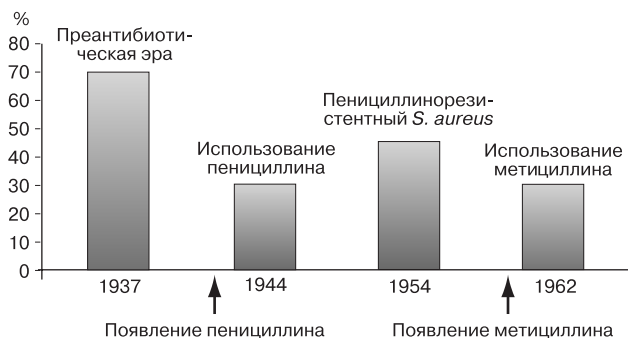
## Обсуждение

Статистический анализ показал, что в исследовании не было существенной недооценки или переоценки прямой медицинской стоимости терапии инфекций, вызванных *S. aureus* в Нью-Йорке. Однако исследование имело несколько ограничений: оно было ретроспективным, а источники данных не подтверждались другими методами исследования (то есть результатами опросов, изучения историй болезней и др.). Поэтому ошибки кодирования в базе данных могли отразиться на результатах исследования.

Расчеты клинической комиссии, которые использовались при оценке разности между MRSA и MSSA, могли быть недостаточно достоверными. Полученные сравнительные данные расходов и летальности, обусловленной MRSA и MSSA, можно рассматривать как лучший вариант при отсутствии других данных, полученных с использованием контролируемых данных или множественного анализа репрезентативной популяции.

Полученная в исследовании стоимость лечения одного случая инфекции оказалась больше, чем в исследовании W.R. Jarvis [19]. Главной причиной этого, вероятно, явилась ориентация нашего исследования на Нью-Йорк, где цены значительно выше, чем в других регионах США. К тому же в проводимых ранее исследованиях использовались только данные о больничных расходах.

Настоящее исследование было социально ориентированным, поэтому в него включались такие показатели, как оплата визита врача на дому и амбулаторные расходы на лечение в дополнение к расходам на стационарное лечение. Наконец, большинство проведенных ранее исследований не были



Динамика летальности от стафилококковой бактериемии в 1937–1962 гг., %

ориентированы на инфекции, вызванные определенными микроорганизмами, поэтому средние расходы на лечение инфекций, вызванных *S. aureus*, могут оказаться значительно выше средних расходов на терапию инфекций, обусловленных другими микроорганизмами [42].

В настоящем исследовании использовались умеренные расценки на медицинское обслуживание. Стоимость медицинского обслуживания в системе “Medicare” в среднем меньше коммерческих цен. В исследовании не учитывались медицинские расходы после выписки пациента, связанные с осложнениями, которые не приводили к повторной госпитализации. При определении социальных потерь не учитывали расходы, связанные со смертью или утратой трудоспособности в результате заболевания.

Несмотря на описанные ограничения, исследование демонстрирует серьезность госпитального лечения пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, высокую стоимость медицинского обслуживания и уровень летальности. Средняя длительность пребывания в стационаре пациентов с инфекциями, вызванными *S. aureus*, была продолжительной (20 дней), что почти в 3 раза превышает этот показатель при инфекциях другой этиологии [43]. Увеличение продолжительности пребывания в стационаре, в свою очередь, приводит к возрастанию прямой стоимости медицинского обслуживания. В 1995 г. она составила 32 100 долларов США в расчете на одного пациента.

## Литература

- Haley R.W., Culver D.H., White J.W., Morgan W.M., Emori T.G. The nationwide nosocomial infection rate: a new need for vital statistics. *Am J Epidemiol* 1985; 121:159.
- Pittet D., Tarara D., Wenzel R.P. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients, excess length of

stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994; 271:1598-601.

Лечение пациентов с MRSA обходится на 6–10% дороже, чем лечение пациентов с MSSA (2500 и 3700 долларов США соответственно). Разница в цене не связана с большей вирулентностью MRSA, а объясняется высокой стоимостью ванкомицина и изоляции пациента (если она используется). Расчеты оказались меньше разницы, определенной в исследовании Wakefield (5104 доллара США) [21], возможно, это объясняется тем, что в упомянутом исследовании оценивалась стоимость госпитального лечения больных только с тяжелым течением инфекций, вызванных *S. aureus*, в то время как в настоящем исследовании оценивались все случаи госпитализации пациентов с инфекциями, обусловленными *S. aureus*.

У пациентов с MRSA наблюдалась более высокая частота летальных исходов по сравнению с таковой при MSSA (21 и 8% соответственно). Разница в летальности объясняется, возможно, фоном возникновения инфекций MRSA (то есть пожилой возраст, наркомания, наличие сопутствующих заболеваний, предшествующее назначение антибактериальных препаратов) [44] и недостаточно эффективной терапией MRSA. Вследствие узкого терапевтического индекса ванкомицина нельзя увеличить концентрацию препарата в крови без значительного снижения его переносимости [45].

Экономические затраты и летальность, связанные с инфекциями, вызванными *S. aureus*, могут значительно возрасти в случае распространения штаммов *S. aureus* с промежуточной резистентностью к ванкомицину или появления штаммов, полностью резистентных к ванкомицину. Так, например, после появления пенициллинорезистентных *S. aureus* в 1950 г. летальность от бактериемии, по данным Университета штата Миннесота, возросла с 28 до 50% (см. рисунок) [46]. С началом применения метициллина и других антистафилококковых пенициллинов летальность от стафилококковой бактериемии снизилась [47]. Усилия специалистов должны быть направлены на организацию мероприятий по уменьшению числа случаев внутрибольничных инфекций, вызванных MRSA и MSSA, чтобы уменьшить связанные с ними экономические потери.

- Brachman P.S., Dan B.B., Haley R.W., Hooten T.M., Garner J.S., Allen J.R. Nosocomial surgical infections: incidence and cost. *Surg Clin North Am* 1980; 60:15-25.
- Centers for Disease Control and Prevention. National Nosocomial Infection Surveillance System report: data

- summary from October 1986 – April 1996. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services; 1996.
5. Neu H.C. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992;257:1064-72.
  6. Barrett F.F., McGehee R.F., Finland M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City hospital. *N Engl J Med* 1968;279:441.
  7. Boyce J.M. Increasing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990;11:639-42.
  8. Panlilio A.L., Culver D.H., Gaynes R.P., Banerjee S., Henderson T.S., Tolson J.S., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975–1991. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13:582-6.
  9. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin – United States, 1989–1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993;42:597-9.
  10. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44(RR12):1-13.
  11. Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin – Japan, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:624-6.
  12. Update: *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in United States, 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:813-5.
  13. Boyce J.M., Jackson M.M., Pugliese G., Batt M.D., Fleming D., Garner J.S., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a briefing for acute care hospitals and nursing facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15:105-15.
  14. McManus A.T., Mason A.D., McManus W.F., Pruitt B.A. What's in a name? Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* just another *S. aureus* when treated with vancomycin? *Arch Surg* 1989; 124:1456-9.
  15. Pittet D., Waldvogel F.A. To control or not to control colonization with MRSA ... that's the question! *QJM* 1997;90:239-41.
  16. Teare E.L., Barrett S.P. Stop the ritual of tracing colonised people. *BMJ* 1997;314:665-6.
  17. Cookson B. Controversies: is it time to stop searching for MRSA? Screening is still important. *BMJ* 1997;314: 664-5.
  18. Casewell M.W. New threats to the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 1995;30 Suppl:465-71.
  19. Jarvis W.R. Selected aspects of the socioeconomic impact of nosocomial infections: morbidity, mortality, cost, and prevention. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17:552-7.
  20. Haley R.W., White J.W., Culver D.H., Hughes J.M. The financial incentive for hospitals to prevent nosocomial infections under the prospective payment system: an empirical determination from a nationally representative sample. *JAMA* 1987;257:1611-4.
  21. Wakefield D.S., Pfaller M.A., Hammons G.T., Massanari R.M. Use of the appropriateness evaluation protocol for estimating the incremental costs associated with nosocomial infections. *Med Care* 1987;25:481-8.
  22. Jemigan J.A., Clemence M.A., Stott G.A., Titus M.G., Alexander C.H., Palumbo C.M., et al. Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:668-96.
  23. Wakefield D.S., Helms C.M., Massanari R.M., Mori M., Pfaller M. Cost of nosocomial infection: relative contributions of laboratory, antibiotic and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control* 1988;16:185-92.
  24. Frieden T.R., Fujiwara P.I., Washko R.M., Hamburg M.A. Tuberculosis in New York City – turning the tide. *N Engl J Med* 1995;333:229-33.
  25. Frieden T.R., Munsiff S.S., Low D.E., Willey B.M., Williams G., Faur Y., et al. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City. *Lancet* 1993;342:76-9.
  26. New York State Department of Health. 1995 Statewide Planning and Research Cooperative System (SPARCS) Administratively Releasable File. Albany (NY): The Department; 1997.
  27. Health Care Financing Administration. Physician fee schedule (CY 1995); payment policies and relative value adjustments. *Federal Register* 1994;59(235):63410-635.
  28. 1995 Drug Topics Red Book. Montvale (NJ): Medical Economics Company; 1995.
  29. International classification of diseases, 9th revision, clinical modifier: with color symbols: ICD-9-CM. 4th ed. Salt Lake City (UT): Medicode Publications; 1994.
  30. Lautenschlager S., Herzog C., Zimmerh W. Course and outcome of bacteremia due to *Staphylococcus aureus*: evaluation of different clinical case definitions. *Clin Infect Dis* 1993;16:567-73.
  31. Espersen F. Identifying the patient risk for *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *J Chemother* 1995;7:11-7.
  32. Muder R., Brennen C., Wagener M., Goetz A. Bacteremia in a long-term care facility: a five year prospective study of 163 consecutive episodes. *Clin Infect Dis* 1992; 14:647-54.
  33. Mandell G.I., Bennett J.E., Dolin R., editors. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practices of infectious diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995.
  34. Lavery L.A., Sariaya M., Ashry H., Harkless L.B. Microbiology of osteomyelitis in diabetic foot ulcers. *J Foot Ankle Surg* 1995;34:61-4.
  35. Isselbacher K.J., Braunwald E., Wilson J.D., Martin J.B., Fauci A.S., Kasper D.L., editors. Harrison's principles of internal medicine. 13th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.; 1994.
  36. Fagon J.Y., Chastre J., Vuagnat A., Troillet J.L., Novara A., Gibert C. Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units. *JAMA* 1996;275:866-9.
  37. Papazian L., Bregeon F., Thirion X., Gregoire R., Saux P., Denis J.P., et al. Effect of ventilator-associated pneumonia on mortality and morbidity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:91-7.
  38. Fagon J.Y., Chastre J., Hance A.J., Montravers P., Novara A., Gibert C. Nosocomial pneumonia in ventilated

- patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay. *Am J Med* 1993;94:281-8.
39. Leu H.S., Kaiser D.L., Mori M., Woolson R.F., Wenzel R.P. Hospital-acquired pneumonia: attributable mortality and morbidity. *Am J Epidemiol* 1989;129:1258-67.
  40. Craven P.C. Treating bone and joint infections with teicoplanin: hospitalization vs. outpatient cost issues. *Hospital Formulary* 1993;28:41-5.
  41. Alien R. Cost-effectiveness issues for home IV therapy in the United States. *Hospital Formulary* 1993;28:37-40.
  42. Amow P.M., Quimosing E.M., Beach M. Consequences of intravascular catheter sepsis. *Clin Infect Dis* 1993;16:778-84.
  43. Agency for Health Care Policy and Research. The HCUP-3 Nationwide Inpatient Sample (NIS), Release 2, 1993. Springfield (VA): National Technical Information Service; 1996.
  44. Bradley S.F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Geriatr Med* 1992;8:853-68.
  45. McEvoy G.K., editor. American hospital formulary service drug information 1997. Bethesda (MD): American Society of Health-System Pharmacists; 1997.
  46. Spink W.W. Staphylococcal infections and the problem of antibiotic-resistant staphylococci. *Arch Int Med* 1954;94:167-96.
  47. Alien J.D., Roberts C.E., Kirby W.M. Staphylococcal septicemia treated with methicillin: report of twenty-two cases. *N Engl J Med* 1962;266:111-6.



УДК 616.34-008.314.4-022-053.2

## Бактериальные диареи у детей: синдромная или этиотропная терапия?

М. Бенниш

Университет Тафта, Бостон, США

### Bacterial diarrhea in children: syndromal or ethiological therapy?

M. Bennish

Tufts University, Boston, USA

#### Эмпирическая синдромная или этиотропная терапия?

Лечение диарей часто основывается на наличии клинических синдромов, а не их этиологии. Этому существует целый ряд объяснений.

В о - п е р в ы х, во многих странах, особенно развивающихся, где диарея является высокоэндемичным заболеванием, нет адекватных условий для микробиологической диагностики. Однако даже в развитых странах иногда постановка микробиологического диагноза может быть затруднена.

В о - в т о р ы х, часто дети лечатся на дому или в амбулаторных условиях, когда микробиологические исследования рутинно не проводятся. Кроме того, у детей не всегда возможно получить для микробиологического исследования кал, что приводит к необходимости получения мазка из прямой кишки, являющегося неадекватным для диагностики ряда возбудителей, например паразитов.

В - т р е т ь и х, ряд возбудителей, например патогенные штаммы *Escherichia coli*, не может быть идентифицирован даже в наиболее оснащенных микробиологических лабораториях.

В - ч е т в е р т ы х, выделение и идентификация возбудителя обычно занимает не менее 48 ч, а к этому времени значение результата микробиологического исследования для выбора терапии и потенциальное влияние самой антимикробной терапии на течение заболевания заметно снижаются.

Контактный адрес:

Michael Bennish

E-mail: michael.bennish@es.nemc.org

Н а к о н е ц, многие диагностические методы обладают недостаточно высокой чувствительностью (способностью выявлять инфекционное начало).

Однако существуют определенные ограничения и в отношении синдромального лечения. Двумя основными клиническими синдромами являются водянистая и кровавая диарея. Эти синдромы могут возникать под действием целой группы энтеропатогенов. Синдромальное лечение также способствует избыточному потреблению антимикробных препаратов, так как нет ни одного препарата, одновременно эффективного при всех возможных возбудителях. Несмотря на то что дополнительные средства могут быть сохранены вследствие менее интенсивного использования диагностических тестов, неизбежно возрастают расходы, связанные с применением антимикробных препаратов. Кроме того, избыточное использование последних может усугубить проблему антимикробной резистентности.

#### Клинические синдромы диареи

Как уже отмечено, в целях выбора тактики лечения диарею часто подразделяют на 2 клинических синдрома: водянистая и кровавая (или дизентериеподобная) диарея. Эти два синдрома различаются по патофизиологии (табл. 1), клиническим проявлениям, этиологии (табл. 2) и лечению.

Водянистая диарея часто является невоспалительным процессом, который возникает вследствие нарушения всасывания и увеличения секреции жидкости в тонкой кишке. Частыми возбудителями водянистой диареи являются токсинпродуцирующие микроорганизмы, например *V. cholerae* и энтеротоксигенные штаммы *E. coli*. Вирусы, в частности

\*Лекция прочитана на конференции "Антибактериальная терапия в педиатрической практике", Москва, 25–26 мая 1999 г.

Таблица 1. Клинические синдромы диарей: патофизиология

Фактор, обуславливающий развитие синдрома	Диарея	
	водянистая	кровянистая
Локализация инфекции	Тонкая кишка	Толстая кишка
Механизм возникновения	Действие токсинов	Инвазия
Воспаление	Нет	Да
Повреждение капилляров	Нет	Да
Секреция жидкости	↑↑↑↑	↑
Абсорбция жидкости	↓	↓
Нарушение моторики кишечника	↑↑	↑

Таблица 2. Наиболее частые возбудители водянистой и кровянистой диарей у детей

Патогены	Диарея	
	водянистая	кровянистая
Вирусы	Рота-, энтеро-, астро- и калицивирусы	–
Бактерии	Энтеротоксигенная <i>E. coli</i> <i>V. cholerae</i> O1 и O139	<i>Shigella</i> spp. <i>Campylobacter jejuni</i> Энтероинвазивная <i>E. coli</i>
Простейшие	<i>Cryptosporidium parvum</i> <i>Cyclospora cayentanensis</i> <i>Microsporidia</i> ( <i>Enterocytozoon bienens</i> )	<i>Entamoeba histolytica</i>

ротавирусы, также являются частыми причинами синдрома водянистой диареи у детей. В отличие от *V. cholerae* они не вырабатывают токсинов, но диарея также имеет невоспалительный характер.

Кровянистая, или дизентериеподобная, диарея вызывается микроорганизмами, которые поражают толстую кишку и приводят к деструкции (изъязвлению) эпителиального слоя. Деструкция сопровождается поражением капилляров, что приводит к появлению крови в кале. Вследствие того, что микроорганизмы, вызывающие данный тип диареи, являются инвазивными, то в ответ на их внедрение развивается локальный и системный воспалительный процесс.

### Эмпирическая терапия водянистой диареи у детей

Вследствие того, что водянистая диарея не сопровождается инвазией тканей и возникает под действием токсинов или (часто) вызывается вирусами, антибактериальная терапия рутинно не назначается. Исключением являются среднетяжелые и тяжелые инфекции, вызываемые *V. cholerae* O1 или *V. cholerae* O139, при которых назначение антибиотиков может снизить длительность и объем диареи на 50%.

Основной подход к лечению водянистой диареи – назначение регидратационных растворов (внутрь, а в тяжелых случаях внутривенно), что компенсиру-

ет потерю жидкости и предотвращает развитие дегидратации.

### Эмпирическая терапия кровянистой диареи

Лечение кровянистой диареи зависит от географического расположения региона, где она развилась. Во многих развивающихся странах наиболее частыми возбудителями являются шигеллы, поэтому назначается соответствующая эмпирическая терапия. В руководствах ВОЗ по лечению диарей в настоящее время также рекомендуется этот подход.

В большинстве развитых стран мира шигеллезы не так широко распространены, а наиболее частыми возбудителями являются энтерогеморрагические штаммы *E. coli*. Эффективность и целесообразность антибактериальной терапии подобных инфекций является недостаточно ясной. Принимая во внимание масштабы России, можно предположить наличие региональных особенностей этиологии кровянистых диарей.

### Эмпирическая терапия неводянистой, некровянистой диареи

Этиологию данного типа диареи в каждом отдельном случае определить очень сложно, особенно на основании клинических симптомов. Вследствие этого антимикробная терапия в таких случаях не показана.

### Лечение диареи в зависимости от ее возбудителя

Бактерии, возбудители диарей, при которых рекомендуется назначать антимикробную терапию, представлены:

- *Shigella* spp.;
- *Salmonella typhi*;
- другими сальмонеллами, вызывающими отдельные случаи инфекций;
- *Vibrio cholerae*.

Лечение инфекций, вызванных данными возбудителями, стало более трудным в связи со значительным увеличением за последние 10 лет числа резистентных штаммов. Препараты, долгое время используемые в терапии этих инфекций, например ампициллин и ко-тримоксазол, потеряли свое практическое значение вследствие роста резистентности.

### **Антимикробная терапия шигеллезов у детей.**

Основными показателями эффективности и возможности использования антимикробных препаратов для лечения шигеллезов являются:

- активность *in vitro*;
- сравнительно высокая (по отношению к МПК) концентрация в сыворотке крови;
- концентрация в просвете кишечника не имеет определяющего значения;
- безопасность при использовании у детей;
- наличие пероральных лекарственных форм;
- относительная дешевизна.

Ампициллин и ко-тримоксазол, которые длительное время использовались в качестве препаратов выбора, не являются таковыми в настоящее время в связи с распространенностью резистентности в различных странах мира. Кроме того, другие препараты (сульфаниламиды, тетрациклины и хлорамфеникол) также потеряли свое значение в последние годы в связи с аналогичной проблемой, а также в связи с высокой частотой развития нежелательных лекарственных реакций.

Налидиксовая кислота является "старым" хинолоном, эффективным в отношении штаммов шигелл, резистентных к ампициллину и ко-тримоксазолу. К сожалению, многие штаммы *Shigella dysenteriae* типа 1 в настоящее время являются резистентными к данному препарату, хотя другие шигеллы в основном сохраняют чувствительность. Налидиксовая кислота применяется по 60 мг/(кг·сут) в 4 приема (максимальная суточная доза – 4 г) в течение 5 дней.

Фторхинолоны (ципрофлоксацин и норфлоксацин) являются активными в отношении всех видов шигелл. Их сывороточная концентрация в 100 и более раз превышает МПК для возбудителей. Несмотря на то что поражение суставов у молодых животных вызывало определенные опасения по поводу хондротоксичности, данная нежелательная реакция не наблюдалась у детей при использовании коротких курсов.

Доза ципрофлоксацина у детей составляет 10 мг/кг 2 раза в сутки в течение 5 дней (максимальная курсовая доза – 500 мг). Однократный прием 1 г ципрофлоксацина был эффективным при лечении шигеллезов (за исключением *Shigella dysenteriae* типа 1) у взрослых. Однако подобных исследований у детей не проводилось.

Другим антибиотиком, часто используемым для лечения шигеллезов, является мециллинам или его пероральная форма (пивмециллинам или пивамдиноциллин в формуляре США). Этот препарат селективно связывается с ПСБ 2 (пенициллинсвязывающим белком 2) и активен в отношении большинства ампициллинорезистентных штаммов ши-

гелл. Мециллинам применяется в дозе 15–20 мг/кг 3 раза в сутки в течение 5 дней (максимальная курсовая доза – 400 мг). Однако он не выпускается в виде эликсира и не используется в ряде стран.

Азитромицин – это 15-членный макролидный (азалидный) антибиотик с однократным режимом дозирования, внутриклеточная концентрация при применении которого в 100 и более раз выше, чем в сыворотке крови. МПК азитромицина для шигелл примерно равна его сывороточной концентрации ( $\approx 65$  мг/л). Его эффективность показана у взрослых при приеме 500 мг в первые сутки с последующим приемом 250 мг во 2–5-е сутки. Однако у детей подобные исследования не проводились. Доза азитромицина у детей составляет 10 мг/кг однократно в первые сутки с последующим приемом 5 мг/кг во 2–4-е сутки.

Следует отметить, что такие антимикробные препараты, как фуразолидон, гентамицин (и другие аминогликозиды) и пероральные цефалоспорины, являются неэффективными при шигеллезах. Эффективность парентеральных цефалоспоринов также недостаточно определена.

**Лечение сальмонеллезов у детей.** Антибактериальная терапия неосложненных сальмонеллезов у детей не показана. Продолжительность диареи обычно составляет около 7 дней вне зависимости от назначения антибиотиков. Более того, в некоторых исследованиях было показано увеличение частоты рецидивов при применении антибиотиков терапии на 10–50%.

Показаниями для антибактериальной терапии сальмонеллезов у детей (за исключением брюшного тифа) являются:

- возраст менее 6 мес;
- гемолитические анемии;
- иммунодефицитные состояния;
- наличие бактериемии или очага инфекции (остеомиелита, менингита).

Препаратами, эффективными при лечении сальмонеллезов, являются: ампициллин, фторхинолоны, цефтриаксон (цефотаксим), ко-тримоксазол и хлорамфеникол (табл. 3). Выбор терапии зависит от чувствительности, которая вариабельна в различных регионах.

**Лечение брюшного тифа.** Все дети, заболевшие брюшным тифом, вызванным *Salmonella typhi*, должны получать антимикробную терапию. Антибиотики, используемые при других сальмонеллезах, являются эффективными и при брюшном тифе. Однако следует учитывать, что в настоящее время *S. typhi* часто бывает резистентна к ампициллину, ко-тримоксазолу и хлорамфениколу.

Продолжительность лечения инфекции, вы-

Таблица 3. Антибактериальные препараты для терапии сальмонеллезов

Препарат	Дозирование	Примечание
Ампициллин	200 мг/(кг-сутки) в 4 приема внутрь, внутримышечно или внутривенно	Взрослая резистентность
Ко-тримоксазол	10 мг/(кг-сутки) по триметоприму, в 2 приема внутрь или внутривенно	Взрослая резистентность, высокая частота нежелательных реакций
Цефтриаксон	100 мг/(кг-сутки) в 1–2 введения внутривенно	Возможно развитие псевдохолелитиаза
Ципрофлоксацин	20 мг/(кг-сутки) в 2 приема	Нежелательно применять у детей в возрасте до 12 лет в связи с возможной хондротоксичностью
Хлорамфеникол	75 мг/(кг-сутки) в 4 приема	Высокая частота нежелательных реакций

Таблица 4. Антибактериальные препараты для терапии холеры

Препарат	Дозирование	Примечание
Ампициллин	50 мг/(кг-сутки) в 4 приема в течение 3 дней	–
Ко-тримоксазол	8 мг/(кг-сутки) по триметоприму, в 2 приема, 3 дня	Высокая частота нежелательных реакций
Эритромицин	30 мг/(кг-сутки) в 3–4 приема в течение 3 дней	–
Доксициклин	5 мг/кг однократно	При терапии одной дозой риск поражения зубной эмали невелик
Тетрациклин	25 мг/кг однократно	То же
Ципрофлоксацин	15 мг/кг однократно	Нежелательно применять у детей до 12 лет в связи с возможной хондротоксичностью
Азитромицин	20 мг/кг однократно	Эффективность данного режима терапии у детей не доказана

званной *S. typhi*, колеблется от 7 (хинолоны) до 14 (хлорамфеникол) дней.

**Антибактериальная терапия инфекций, вызванных *V. cholerae*.** Назначение антибиотиков при инфекциях, вызванных *V. cholerae* у детей, показано только при наличии среднетяжелой/тяжелой диареи или дегидратации. При этом эффективная антибактериальная терапия может сократить объем и длительность диареи до 50% (с 4 до 2 дней).

Режимы антимикробной терапии больных холерой детей (табл. 4) включают однократный прием докси- или тетрациклина или трехдневное лечение фуразолидоном, ампициллином или эритромицином. Многообещающие результаты получены при клинических исследованиях однократного применения 15 мг/кг ципрофлоксацина и 20 мг/кг азитромицина.

**Бактериальные диареи, при которых эффективность применения антибиотиков не доказана.** Существуют бактериальные диареи, при которых эффективность антимикробной терапии не доказана. К ним относятся диареи, вызванные

*Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, энтерогеморрагической или энтеротоксигенной *E. coli*.

### Заключение

Лечение диарей у детей может быть или синдромальным, или этиотропным.

При этиотропной терапии необходимо провести адекватное микробиологическое исследование. При этом даже небольшая задержка с определением возбудителя и его чувствительности может способствовать снижению эффективности назначаемых антибиотиков.

Синдромальный подход основан на знании популяционной эпидемиологии диареи. К возбудителям, при выделении которых может быть показано назначение антимикробных препаратов, относятся *Shigella* spp., *Salmonella typhi* и *Vibrio cholerae*. Возрастание антибиотикорезистентности осложняет лечение этих инфекций. В большинстве случаев пероральная регидратация остается одним из основных подходов к лечению диарей.

УДК 616.34-008.87-07

## Дисбактериоз: иллюзии и реальность

А.Н. Маянский

Нижегородская государственная медицинская академия

### Disbacteriosis: illusion and reality

A.N. Majanski

Nizniy Novgorod State Medical Academy

"Дисбактериоз" – один из самых популярных диагнозов, особенно среди педиатров. Емкая по своей сути, концепция о дисбактериозе претендует на одну из базисных позиций в представлениях о микробном симбиозе и его болезнетворных потенциях. Проблема "обросла" огромным количеством фактов и требует осмысления.

Дисбактериозом принято называть количественные и качественные нарушения состава нормальной микрофлоры. Результат основывается на анализе микрофлоры толстой кишки (точнее – фекалий), так как она наиболее разнообразна, обильна и легко доступна для исследования. Предполагается, что количественная и качественная необычность микробного пейзажа испражнений таит в себе опасность и требует коррекции. Иными словами, бактериологический диагноз "дисбактериоз" трансформируется в клиническое понятие с вытекающими отсюда для носителей данного диагноза последствиями.

Такой взгляд прочно укрепился в сознании врачей. Диагноз ставят начиная с рождения ребенка, при первых нарушениях стула, симптомах диатеза, аллергии, кожных заболеваниях, инфекционной гипорезистентности и пр. Подобная практика, не имея аналогов за рубежом, проводится в нашей стране не одно десятилетие.

За это время представления о нормальной микрофлоре претерпели серьезную эволюцию. Утверждено количественное и функциональное "лидерство" за облигатными анаэробами, определены экологические, клинические и ятрогенные ситуации, способствующие дестабилизации состава микрофлоры, сформулированы понятия о колонизации и колонизационной резистентности, возникло (впрочем, на классических представлениях об условной патогенности) учение об оппортунистических инфекциях.

Все это побуждает пересмотреть патогенетические аспекты проблемы дисбактериоза. Но сначала несколько слов о физиологии нормальной микрофлоры.

#### Как в норме

Органы человека, контактирующие с внешней средой, уже в момент рождения контаминируются разнообразными микробами. Большинство из них проходит транзитом, другие задерживаются на непродолжительное время. Но есть и такие, которые, находя благоприятные для себя условия, размножаются, создавая то, что называется нормальной микрофлорой.

Микробы кишечника представляют главный компонент нормальной микрофлоры человека. Основной "полигон" – толстая кишка – коллектор пищевых отходов, являющихся великолепным питательным материалом для бактерий, грибов, простейших. Вкупе с физическими (температура, влажность, содержание кислорода) и химическими (рН) параметрами создаются благоприятные условия для развития многочисленных микроорганизмов. "Лидерство" принадлежит бактериям.

Контактный адрес:

А.Н. Маянский  
603600, Нижний Новгород,  
пл. Минина и Пожарского, 10/1  
Нижегородская государственная медицинская академия  
Тел./факс: (8312) 34-7351  
Эл. почта: mayansky@sinn.ru

\*Лекция прочитана на конференции "Антибактериальная терапия в педиатрической практике", Москва, 25–26 мая 1999 г.

Двенадцатиперстная и проксимальный отдел тонкой кишки практически стерильны. По мере приближения к подвздошной кишке число бактерий, преимущественно лактобацилл и энтерококков, увеличивается.

Подвздошная кишка богаче микрофлорой, количество и разнообразие которой нарастают к дистальным ее отделам, где примерно поровну представлены анаэробы (бактероиды, бифидобактерии и др.) и факультативно-анаэробные бактерии (кишечная палочка, лактобациллы, энтерококки).

После баугиниевой заслонки, то есть с того места, где начинается толстая кишка, картина резко меняется. Общее количество жизнеспособных бактерий в 1 г фекалий возрастает до  $10^{10}$ – $10^{12}$ , а качественный состав усложняется до 400 и более видов. Абсолютное большинство составляют неспорообразующие анаэробы, среди которых преобладают бактероиды, бифидо-, эу- и катенобактерии, пептококки.

Часто присутствуют спороносные анаэробы (кlostридии), количество которых, впрочем, заметно уступает количеству бесспорных форм. На долю аэробной (точнее – факультативно-анаэробной) микрофлоры приходится всего 1–5 %; она распределяется примерно поровну между энтеробактериями (доминирует кишечная палочка), энтерококками и лактобациллами.

Встречаются также стафилококки и дрожжеподобные грибы (кандиды). Их количество не превышает  $10^4$ – $10^6$  в 1 г фекалий.

Необходимо дифференцировать резидентную и факультативную микрофлору, подразумевая базисный (облигатный) характер первой и случайный (временный) – второй. Своеобразие микрофлоры связано главным образом с ее факультативным компонентом.

Способность бактерий к колонизации слизистых оболочек определяется двумя главными механизмами – адгезией (закреплением) на поверхности эпителиоцитов и выживанием в новом окружении.

Адгезия – первый и ключевой этап стабилизации микроорганизмов. За ней следуют их борьба за выживание и размножение. В стерильном кишечнике им требуется выстоять против попадающих туда секретов желудка, печени (желчь), поджелудочной железы, секреторных продуктов собственного эпителия.

Бактериостатические и бактерицидные эффекты ослабевают по мере приближения к дистальным отделам тонкой кишки. Пройдя баугиниеву заслонку, бактерии попадают в комфортную зону. Появление первичной микрофлоры меняет экологию кишечника, препятствует или, напротив, способст-

вует размножению определенных групп микроорганизмов. Сформировавшийся микробиоценоз существует как единое целое.

Одним из барьеров на пути экзогенных инфекций является сама микрофлора. Например, в чистой культуре шигеллы приживаются в кишечнике безмикробных мышей, но быстро элиминируются после добавления в корм кишечной палочки. Нормальная микрофлора участвует в обезвреживании токсинов, ограничивая болезнетворность токсигенных бактерий, попадающих в кишечник.

### **Возможны варианты**

У взрослого человека состав нормальной микрофлоры достаточно стабилен. Она довольно устойчива к переменах диеты. Требуются специальные диеты, чтобы дестабилизировать кишечный микробиоценоз.

"Пищевой" дисбактериоз носит временный характер, исчезая при переходе на "обычное" питание. То же самое можно сказать о "стрессорных дисбактериозах", регистрируемых при длительном пребывании в необычных условиях (тяжелая физическая работа и др.). Такого рода дисбиотические реакции носят компенсаторный характер и легко устранимы. Состав микрофлоры меняется у пожилых людей и зависит от времени года. "Возрастной" и "сезонный" дисбактериоз возникает и у здоровых людей, что лишнее раз говорит об условности нормы для кишечного микробиоценоза.

Многочисленные наблюдения свидетельствуют об изменениях микробного пейзажа толстой кишки при различных заболеваниях местного и общего характера. Дисбактериоз регистрируется у большинства больных с поражениями желудочно-кишечного тракта инфекционной и неинфекционной природы, у больных и реконвалесцентов после острых вирусных и бактериальных инфекций некишечной локализации, при хронических воспалительных и аллергических заболеваниях, лучевой болезни, у больных лейкозами и другими злокачественными процессами, при постлучевом синдроме, на фоне применения цитостатиков и антибиотиков.

"Лекарственные", особенно антибиотикозависимые дисбактериозы отличаются наибольшей стабильностью и могут иметь серьезные последствия. Классический пример – кандидомикоз.

### **Дисбактериоз как он есть**

Формально определить дисбактериоз нетрудно: это любые, выходящие за рамки нормы (для данного биотопа), сдвиги состава облигатной и/или факультативной микрофлоры.

Рутинный анализ предусматривает обследование фекалий на количественное содержание бифидобактерий, лактобацилл, энтеробактерий (кишечная палочка и ее гемолитические варианты), "паракишечных" (лактозодефектные) и синегнойной палочек, протей, энтерококка, золотистого стафилококка, кандид. Акцент делается на снижении количества "благородных" бактерий, прежде всего бифидобактерий, и на повышении числа условно-патогенных видов. Отметим следующие недостатки анализа:

1) трудности в трактовке результатов, связанные с широкой вариабельностью нормальных значений, то есть тех же показателей у практически здоровых людей, быстрой сменяемостью "нарушений", нестандартностью самого анализа; немало примеров, когда дисбактериоз, установленный в одной лаборатории, отвергается в других;

2) не учитывается содержание бактериоидов и других облигатных анаэробов, которые доминируют в нормальной микрофлоре кишечника, тем более что микрофлора фекалий – лишь приблизительная копия пристеночной, особенно "глубинной" (криптовой) микрофлоры кишечника;

3) тенденциозно выглядит трактовка понятия "условно-патогенные бактерии"; практически все представители нормальной микрофлоры обладают потенциальной болезнетворностью;

4) не учитывается микрофлора тонкой кишки, изменение состава которой, прежде всего повышение бактериальной обсемененности, играют существенное значение в патологии пищеварительного тракта.

Перечисленные позиции говорят о противоречиях широко практикуемого ныне анализа на "дисбактериоз". Фактически – это дорогостоящее трудоемкое исследование с невысокой отдачей. Принимая во внимание огромный опыт такого рода исследований, диагноз "дисбактериоз" почти безошибочно ставится на основании клинической картины болезни.

Концепция дисбактериоза претендует на расширение этиологически неясных энтероколитных синдромов хронического или затяжного характера, которым сопутствуют более или менее выраженные изменения состава облигатной и факультативной микрофлоры кишечника (фекалий). Это служит формальной основой для утверждения причинных связей между такого рода процессами и "нетипичными" для эубиоза энтеробактериями, синегнойной палочкой, стафилококком, кандидами и др. Подобная трактовка неоднократно заходила в тупик, но спасали "беспроницаемые" рассуждения о смешанной инфекции и многофакторном патогенетическом арсенале дисбиотической микрофлоры.

Пожалуй, наиболее реальным является участие нормальной микрофлоры в развитии оппортунистических инфекций. Парадоксально, но врачи чаще имеют дело с болезнями, причиной которых является нормальная микрофлора, чем с патологией, вызванной внешней инфекцией.

В микробиологических описаниях принято говорить о степени кишечного дисбактериоза. Две первые из них отражают нарастание изменений в составе микрофлоры толстой кишки (точнее – фекалий), третья – избыточное заселение бактериями вышележащих отделов пищеварительного тракта, четвертая характеризует внекишечную контаминацию (проникновение микробов в кровь, мочевыводящую систему и т. д.).

Предполагается, что дисбактериоз развивается как процесс, нарастая по мере воздействия факторов и условий, дестабилизирующих состав микрофлоры. Однако такая последовательность необязательна. Избыточное размножение бактерий в тонкой кишке и желудке не всегда сочетается с изменениями микробного пейзажа фекалий. Искусственными выглядят и рассуждения о генерализованных формах кишечного дисбактериоза. По сути – это видоизменение классической концепции об эндогенных, или аутоинфекциях, которые "рождаются" из собственной микрофлоры при ослаблении местного и системного иммунитета.

Причинная связь с нарушениями микробиоценоза кишечника вовсе необязательна. Более того, источником этиологически сходных инфекций может быть окружающая среда, а потому утверждать о внекишечных инфекциях, обусловленных кишечной палочкой, протеем, бактериоидами и другими, как о проявлениях кишечного дисбактериоза, представляется необоснованным усложнением, которое уводит от четкого постижения сути эпидемического процесса, патогенеза и тактики лечения.

Словом, внекишечная локализация "кишечных бактерий" – вовсе не фаза местного дисбиотического процесса. Скорее, наоборот: "перекосы" в составе микрофлоры, регистрируемые в таких случаях, возникают как вторичная реакция на изменения экологии кишечника, спровоцированные дистантным инфекционным процессом.

Принято дифференцировать дисбактериозы по этиологическому принципу – протейный, клебсиеллезный, стафилококковый, кандидозный, синегнойный и пр. Но если этиологическая значимость соответствующих бактерий в кишечных расстройствах больного доказана, что сделать довольно трудно, проще говорить об инфекции, а не о дисбактериозе и лечить пациента исходя из общих принципов антибактериальной терапии.

## Конец иллюзиям

Получив микробиологический диагноз, врач должен придать ему клиническое содержание и выбрать тактику лечения. Обычно свято верят в специфичность заместительной бактериотерапии (препараты, содержащие живые бактерии) и фаготерапии (фаги против синегнойной палочки, клебсиелл, протей и др.), которые логично должны восстановить состав микрофлоры, повлияв на болезнь. Попробуем поколебать эту веру.

Препараты, содержащие живые бактерии, предназначенные для восстановления эубиотического (нормального) состояния микрофлоры, получили название "эубиотики". В коммерческом варианте они доступны в виде колибактерина (живая кишечная палочка), бифидумбактерина (бифидобактерии), лактобактерина (лактобациллы) и их комбинаций. Общая идея сводится к искусственному заселению кишечника "благородными" бактериями, вытеснению благодаря этому болезнетворных штаммов и восстановлению нормального микробиоценоза (эубиоза).

Несмотря на очевидную логику, механизм действия эубиотиков неясен. Прежде всего неизвестно, насколько активно они ведут себя в кишечнике. По крайней мере после прекращения поддерживающей терапии искусственно введенные штаммы быстро исчезают из кишечника и замещаются случайной микрофлорой. Выбор эубиотика на основании результатов бактериологического анализа, например, назначение бифидумбактерина при дефиците бифидобактерий, а лактобактерина – при недостатке лактобацилл, не более чем иллюзия: опыт показывает, что клиническая результативность не коррелирует с таким подходом.

Благотворное влияние продуктов молочно-кислого брожения известно с незапамятных времен. С этой точки зрения, эффект молочных продуктов, заквашенных бифидобактериями и лактобациллами, не является неожиданностью. Вопрос лишь в том, где кончается бактериотерапия, то есть эффект живых бактерий, искусственно трансплантируемых в кишечник, и начинается диетотерапия, то есть действие комплекса преформированных полезных факторов. Кстати, еще до И.И. Мечникова увлекались молочной кислотой все с тем же "великолепным" результатом.

Истина, по-видимому, состоит в том, что лечить надо прежде кишечник, а уже потом его микрофлору исходя из принципа, что дисбактериоз – болезнь организма, а не микрофлоры и, как вторичное явление, спонтанно обратим.

Дисбактериоз – понятие микробиологическое, и требуется серьезно подумать, прежде чем проецировать его на клинику.

Еще об одной иллюзии. Речь идет о фаготерапии. Обладая селективным (штаммспецифическим) бактерицидным эффектом, бактериофаги идеально отвечают критерию "волшебной пули". Но фаготерапия и фагопрофилактика не оправдали возлагавшихся на них надежд. В этом есть биологические причины, в частности слишком узкая специфичность фагов, быстрое появление фагорезистентных штаммов, которые в принципе можно преодолеть, располагая достаточно большой коллекцией фагов и адаптируя их к выделяемым штаммам.

Но есть возражения и "технического" характера. Например, фаги плохо сорбируются бактериями в коллоидной среде, так что трудно представить возможность реализации их бактерицидности в толстой кишке, где бактерии окутаны слизью и перемешаны с фекалиями.

Памятуя, что ссылка на авторитеты не доказательство, заметим все-таки, что ни в одном из известных нам зарубежных руководств о фаготерапии вообще не упоминается. Вряд ли здесь случайное упущение. Скорее это осознание печальной неизбежности: "волшебная фаговая пуля" реально не приносит пользы в борьбе с инфекционной патологией.

Главная иллюзия медицины – иллюзия формальной логики. Она подменяет причинно-следственные связи примитивной последовательностью событий и дидактическими схемами, забывая об афоризме древних: *"Post hoc, non est propter hoc* – после этого – не значит – вследствие этого". В концепции о дисбактериозе немало подобной тенденциозности.

Иллюзии надо отвергать, не уповая на запоздалое разрушение их временем. Впрочем, вспоминая А.С. Пушкина, эта надежда – тоже иллюзия: "К чему бесплодно спорить с веком, обычай – деспот меж людей".

## Практические выводы

1. Не путать понятия "дисбактериоз" и "эндогенная инфекция".
2. Считать анализ на "дисбактериоз" клинически бесполезным.
3. Применять эубиотики на клинической (эмпирической) основе.
4. Отказаться от назначения больным пероральных фагов как средства этиотропной терапии.
5. Задуматься над возможностями и научным обоснованием пероральной биостимуляции.



УДК 579.842.15.04

## Антимикробная резистентность шигелл в Смоленской области в 1998–1999 годах

Л.С. Страчунский\*, О.И. Кречикова\*\*, А.С. Иванов\*,  
М.М. Суворов\*, М.В. Сухорукова\*\*

\* Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии

\*\* Смоленский областной центр Госсанэпиднадзора РФ

Изучалась чувствительность к антимикробным препаратам *Shigella sonnei* и *Shigella flexneri*, выделенных в Смоленской области в целях выработки рекомендаций для оптимизации антимикробной терапии шигеллезов в соответствии с полученными данными. Методом разведения в агаре была определена чувствительность 88 штаммов *S. flexneri* и 69 штаммов *S. sonnei*, выделенных в 1998–1999 гг., к 9 антибактериальным препаратам: ампициллину (AM), ампициллину/сульбактаму (AMS), цефотаксиму (CTX), тетрациклину (TE), хлорамфениколу (CL), налидиксовой кислоте (NLA), норфлоксацину (NOR), ципрофлоксацину (CIP), триметоприму/сульфаметоксазолу (SXT).

Высокая частота резистентности обнаружена как у *S. flexneri*, так и у *S. sonnei* соответственно к SXT (96,6 и 94,2%), TE (97,7 и 92,8%), CL (93,2 и 50,7%), AM (95,5 и 26,1%) и AMS (95,5 и 23,2%).

Не выявлено резистентности к NLA, NOR, CIP и CTX. Выявлена высокая частота полирезистентности (резистентность к 3 и более препаратам): 96,9 и 63,8% для *S. flexneri* и *S. sonnei* соответственно; 87,5% *S. flexneri* штаммов характеризовались AM/AMS/CL/TE/SXT фенотипом резистентности, у 37,7% штаммов *S. sonnei* был SXT/CL/TE фенотип.

Установлено, что CL, TE и SXT обладают низкой активностью в отношении представителей рода *Shigella* и не рекомендуются для эмпирической терапии шигеллезов в Смоленской области. Хинолоны и цефалоспорины III поколения сохраняют высокую активность в отношении шигелл и могут быть рекомендованы в качестве препаратов выбора для эмпирической терапии шигеллезов.

**Ключевые слова:** шигеллез, шигеллы, антибиотикорезистентность.

### Antimicrobial Resistance of Shigellae in Smolensk Region during 1998–1999

L.S. Stratshunski\*, O.I. Kretcikova\*\*, A.S. Ivanov\*, M.M. Suvorov\*, M.V. Sukhorukova\*\*

\*Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy

\*\*Smolensk Regional Centres of Sanitary and Epidemiological Surveillance

The purpose of the study – to determine the antimicrobial resistance of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* isolated in Smolensk Region and to develop recommendations for empiric therapy of shigellosis. A total of 88 strains of *S. flexneri* and 69 strains of *S. sonnei* isolated in Smolensk and Smolensk Region during 1998–1999, were tested to 9 antimicrobials: ampicillin (AM), ampicillin/sulbactam (AMS), cefotaxime (CTX), tetracycline (TE), chloramphenicol (CL), nalidixic acid (NLA), nor-

floxacin (NOR), ciprofloxacin (CIP), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) by agar dilution method.

High rates of resistance were found in both *S. flexneri* and *S. sonnei*, to: SXT (96,6 and 94,2% respectively), TE (97,7 and 92,8% respectively), CL (93,2 and 50,7% respectively), AM (95,5% and 26,1% respectively) and AMS (95,5 and 23,2%). No resistance to NLA, NOR, CIP and CTX was detected. High rates of multiresistance (defined as resistance to 3 and more antimicrobials) was found: 96,9 and 63,8% in *S. flexneri* and in *S. sonnei*, respectively. Among *S. flexneri* 87,5% of strains were characterized by the AM/AMS/CL/TE/SXT pheno-

Контактный адрес:  
Иванов Александр Сергеевич  
214019, Смоленск, а/я 5  
Эл. почта: alex@cliph.keytown.com

type of resistance and 37,7% of *S. sonnei* strains had SXT/CL/TE one.

CL, TE and SXT lost his efficacy against *Shigella* spp. and can not be recommended for the empirical therapy of shigellosis in Smolensk Region.

## Введение

Шигеллезы представляют собой группу инфекционных болезней, вызываемых бактериями рода *Shigella* семейства *Enterobacteriaceae*. Эта группа заболеваний является одной из наиболее частых причин госпитализации в инфекционные стационары по поводу диареи.

Ухудшившаяся в последние годы почти повсеместно эпидемиологическая ситуация привела к тому, что после периода относительной стабильности начался рост заболеваемости острой дизентерией в целом по России. Так, в 90-е годы уровень заболеваемости достигал 57–78 случаев на 100 тыс. населения, а по Смоленской области – 70–100 [1]. В то же время в США регистрируется лишь несколько случаев бактериологически подтвержденной острой дизентерии (в среднем 6) на 100 тыс. населения в год [2].

Отмечается рост как числа больных с тяжелыми формами шигеллеза, так и увеличение летальности. В 1990–1995 гг. летальность при шигеллезах в России возросла в 5 раз по сравнению с предыдущим 20-летием и достигла 1% [3].

Благодаря адекватной антимикробной терапии бактериальной дизентерии сокращаются сроки пребывания больного в стационаре, длительность симптомов болезни, степень их выраженности и период бактериовыделения, снижается риск формирования бактерионосительства [4].

Однако шигеллы обладают высокой способностью к приобретению резистентности к антибактериальным препаратам. Уже в 40-е годы XX века появились штаммы, резистентные к сульфаниламидам, в 50-е – к тетрациклину и хлорамфениколу, в 70-е – к ампициллину, в 80-е – к ко-тримоксазолу [5]. С этого времени процесс накопления в бактериальной популяции резистентных штаммов шигелл приобрел стремительный характер, что, вероятно, связано с нерациональным использованием антибактериальных препаратов, включая самолечение и безрецептурную продажу антибиотиков [6].

Проблема антибиотикорезистентности шигелл в России нуждается в дополнительном изучении в связи с недостатком современных достоверных данных по этой проблеме. В отечественной литературе и методических разработках можно встретить спорные рекомендации по широкому использова-

Quinolones and cephalosporins III remain highly active and can serve as drugs of choice for the treatment of shigellosis.

**Key words:** shigellosis, *Shigella*, antimicrobial resistance.

нию сульфаниламидов, цефалоспоринов I поколения и даже аминогликозидов [4, 7].

## Материал и методы

**Исследуемые микроорганизмы** – 157 штаммов (не более одного штамма от одного пациента) *Shigella* spp., полученных и реидентифицированных лабораторией Областного центра Госсанэпиднадзора (ОЦГСЭН) с сентября 1998 по апрель 1999 г. в Смоленске и районных центрах Смоленской области: Вязьме, Гагарине, Десногорске, Ельне, Кардымово, Новодугино, Рославле, Сафоново, Сычевке и Ярцево.

**Определение чувствительности.** Чувствительность определялась к ампициллину, ампициллину/сульбактаму, цефотаксиму, налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину, норфлоксацину, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу, тетрациклину. **Минимальную подавляющую концентрацию** (МПК) определяли методом серийных разведений в катионстабилизированном агаре Мюллера–Хинтона II (BBL) [8]. Результаты интерпретировали в соответствии со стандартами NCCLS [9].

**Контроль качества.** С целью контроля качества определения чувствительности использовали референтные штаммы *E. coli* ATCC 25922 и *E. coli* ATCC 35218.

## Результаты исследования

Из 157 протестированных штаммов 88 (56,1%) были *S. flexneri* и 69 (43,9%) – *S. sonnei*. Подавляющее большинство штаммов *S. flexneri* (94,3%) относились к серологическому варианту 2а и только 5 штаммов (5,7%) – к сероварианту 3а.

Из стационаров Смоленска поступило 63 (40,1%) штамма, Рославля – 25 (15,9%), Вязьмы – 21 (13,4%), Ярцево – 17 (10,8%), Кардымово – 10 (6,4%), из других районов – 21 (13,6%).

Для всех штаммов была определена МПК. Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub>, диапазон МПК, результаты интерпретации определения чувствительности, а также распределение значений МПК указаны в табл. 1 и на рис. 1 соответственно.

Более 95% всех штаммов оказались устойчивыми к тетрациклину и триметоприму/сульфаметоксазолу, несколько меньшее количество (74,5%) – к хлорамфениколу. К ампициллину и ампицилли-

Таблица 1. МПК<sub>50</sub>, МПК<sub>90</sub>, диапазон МПК (мг/л) и частота (%) резистентных штаммов *S. sonnei* и *S. flexneri*

Препарат	<i>S. sonnei</i> , n=69				<i>S. flexneri</i> , n=88				Все штаммы
	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>	Диапазон МПК	R/I, %	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>	Диапазон МПК	R/I, %	R/I, %
Ампициллин	4	4	2–16	26,1/2,9	256	>256	2–256	95,5	65,0/1,3
Ампициллин/сульбактам	2	2	2–4	23,2/8,7	16	128	1–128	95,5/70,5	63,7/43,3
Цефотаксим	0,03	0,06	0,02–0,12	0	0,06	0,12	0,03–0,12	0	0
Налидиксовая кислота	2	4	1–4	0	2	4	1–4	0	0
Норфлоксацин	0,12	0,5	0,06–1	0	0,12	0,12	0,06–1	0	0
Ципрофлоксацин	0,015	0,03	0,008–0,12	0	0,015	0,03	0,004–0,12	0	0
Хлорамфеникол	128	>256	4–256	50,7	128	>256	2–256	93,2	74,5
Тетрациклин	128	>256	1–256	92,8/1,5	128	>256	1–256	97,7/1,1	95,5/1,3
Ко-тримоксазол	128	128	8–128	94,2	128	128	0,25–128	96,6	95,5

ну/сульбактаму были резистентны 65 и 63,7% штаммов соответственно.

Резистентными и умеренно резистентными как к ампициллину, так и к ампициллину/сульбактаму были 95,5% штаммов *S. flexneri*, устойчивыми к триметоприму/сульфаметоксазолу – 96,6%, к хлорамфениколу – 93,2%, к тетрациклину – 97,7%. У *S. sonnei* уровень резистентности к ампициллину и ампициллину/сульбактаму составил 26,1 и 23,2% соответственно.

Все штаммы оказались чувствительными к налидиксовой кислоте, норфлоксацину, ципрофлоксацину и цефотаксиму.

По результатам исследования установлены фенотипы резистентности штаммов микроорганизмов рода *Shigella*, изолированных в Смоленской области (табл. 2).

Как следует из табл. 2, среди штаммов *S. flexneri* наиболее часто встречался фенотип резистентности АМ/АМС/ХСТ/СЛ/ТЕ, в то время как среди *S. sonnei* самыми частыми были ХСТ/СЛ/ТЕ и ХСТ/ТЕ фенотипы.

К 2 и более антибиотикам обладали устойчивостью 96,8% штаммов шигелл, к 3 и более – 82,2%, к 4 и более – 63,7%.

Только один штамм с фенотипом 0 (*S. sonnei*) оказался чувствительным ко всем препаратам.

### Обсуждение результатов

По данным исследования, большинство случаев шигеллеза в Смоленске и Смоленской области вызваны *S. flexneri* 2а и *S. sonnei*. Подобная ситуация наблюдалась и в предыдущие годы [1].

Основной проблемой является высокий уровень резистентности шигелл к антибактериальным препаратам, которые обычно рассматриваются в нашей

Таблица 2. Частота фенотипов резистентности *Shigella* spp., %

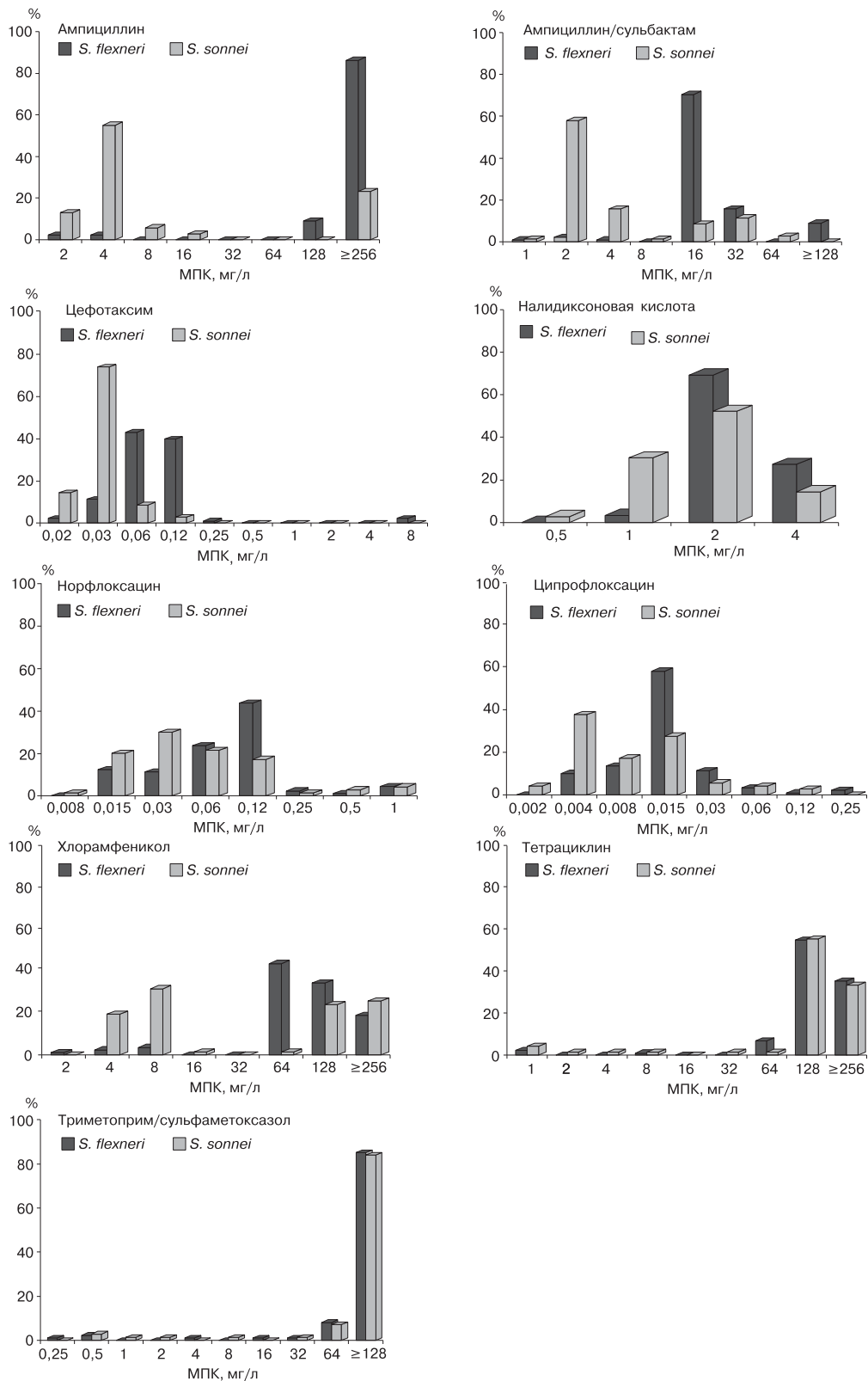
Фенотип	<i>S. sonnei</i> , n=69	<i>S. flexneri</i> , n=88
SXT/CL/TE	37,7	1,1
SXT/TE	30,3	2,4
AM/AMS/SXT/TE	10,1	3,4
AM/AMS/SXT/CL/TE	7,3	87,5
SXT	4,4	1,1
AM/AMS/CL/TE	3,0	3,4
AM/SXT/CL/TE	3,0	0
AM/AMS/TE	1,4	0
AM/AMS/SXT	1,4	0
AM/AMS/SXT/CL	0	1,1
0	1,4	0

АМ – ампициллин; АМС – ампициллин/сульбактам; СР – ципрофлоксацин; ХСТ – ко-тримоксазол; СЛ – хлорамфеникол; NOR – норфлоксацин; NLA – налидиксовая кислота; ТЕ – тетрациклин.

стране как препараты выбора для эмпирической терапии шигеллезов. Причем определяющая роль в состоянии антибиотикорезистентности принадлежит *S. flexneri*, уровень резистентности которой к таким широко применяемым в клинической практике препаратам, как ампициллин, ко-тримоксазол, хлорамфеникол и тетрациклин, приближается к 100%.

Отмечена также низкая активность ампициллина/сульбактама в отношении *S. flexneri*, что может быть объяснено продукцией β-лактамаз типа ОХА или PSE. Однако данное предположение требует подтверждения молекулярными методами исследования.

В целом *S. sonnei* была более чувствительной, чем *S. flexneri*. Однако частота резистентности к ко-тримоксазолу и тетрациклину составила более 90%,



Распределение МПК *S. flexneri* и *S. sonnei* к протестированным антибиотикам

а к хлорамфениколу были устойчивы более половины штаммов данного микроорганизма.

Актуальной проблемой в Смоленской области стала множественная резистентность шигелл. Так, практически все штаммы были устойчивы с высокими значениями МПК одновременно к триметоприму/сульфаметоксазолу, тетрациклину и в меньшей степени к хлорамфениколу, а *S. flexneri* также и к ампициллину, и ампициллину/сульбактаму.

По данным литературы, такая ситуация встречается нечасто [11–14], что еще раз подчеркивает необходимость получения собственных данных по антибиотикорезистентности и необоснованность "слепой" ориентации исключительно на зарубежные данные.

Учитывая высокую частоту резистентности к триметоприму/сульфаметоксазолу, тетрациклину, хлорамфениколу и ампициллину, нельзя согласиться с некоторыми авторами, до сих пор рекомендующими использование этих препаратов для эмпирической терапии шигеллезов, в частности котримоксазола как препарата первого ряда, а ампициллина – второго [15, 16].

Нами подтверждена высокая активность хинолонов как фторированных, так и нефторированных, а также цефалоспоринов III поколения в отноше-

нии шигелл. В связи с тем, что все штаммы были чувствительны к ципрофлоксацину, норфлоксацину и цефотаксиму, именно эти препараты, в первую очередь фторхинолоны, следует рекомендовать в качестве препаратов выбора для эмпирической терапии шигеллезов вместо утративших свою активность "традиционных" препаратов.

Следует заметить, что применение нефторированных хинолонов (налидиксовая, оксолиниевая и пипимедовая кислоты) следует считать неоправданным, так как, несмотря на достаточно хорошую активность в отношении изученных штаммов, они уступают фторхинолонам, а их применение может привести к снижению чувствительности ко всем хинолонам, включая фторированные производные. Исключением является использование налидиксовой кислоты у детей, у которых применение фторхинолонов противопоказано.

Изучение чувствительности шигелл к препаратам группы аминогликозидов в данном исследовании не проводилось ввиду нецелесообразности, так как, несмотря на активность *in vitro*, эти препараты клинически неэффективны [17]. Таким образом, полученные данные дают основание для коррекции сложившейся практики антибактериальной терапии шигеллеза в Смоленской области.

## Литература

1. Информационный бюллетень Смоленского областного Центра ГСЭН. 1998.
2. Lee L. A., Shapiro C. N., Hargrett-Bean N., Tauxe R. V. Hyperendemic shigellosis in the United States: A review of surveillance data for 1967–1988. *J Infect Dis* 1991; 164:894-900.
3. Бродов Л. Е., Ющук Н. Д., Малеев В. В. Диагностика и лечение острых кишечных инфекций. *Эпидемиол и инфекц болезни* 1997; 4:4-6.
4. Покровский В.И., Ющук Н.Д. Бактериальная дизентерия. М.: Медицина; 1994.
5. Canada Communicable Disease Report. 1997 April 15; 23:8.
6. Khalil K., Khan S., Mazhar K., Kaijser B., Lindblom G. Occurrence and susceptibility to antibiotics of Shigella species in stools of hospitalized children with bloody diarrhoea in Pakistan. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58:800-3.
7. Рахманова А.Г., Неверов В.А., Пригожина В.К. Методические рекомендации по лечению острых кишечных инфекций. СПб: АПО; 1995.
8. Isenberg H. D., editor. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 1998.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard – 5th ed. NCCLS Document M7-A4; 2000. p. 20(2).
10. Bratoeva M.P., John J.F. In vitro R-plasmid transfer in a patient with mixed infection of shigella dysentery. *Epidemiol Infect* 1994; 112:247-52.
11. Jensen G., Wandall D., Gaarslev K., Panavas S., Gutschik E. Antibiotic resistance in Shigella and Salmonella in a region of Lithuania. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:872-5.
12. Willke A., Arman D., et al. Resistance of Salmonella and Shigella in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 1999; 9:588-90.
13. Dutta S., Mahapatra T., Dutta P., Mitra U., Dasgupta S. Serotypes and antimicrobial susceptibility patterns of Shigella species isolated from children in Calcutta, India. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17:298-9.
14. Navia M., Capitano L., Ruiz J., Vargas M., Urassa H., Schelleberg D., Gascon J., Vila J. Typing and characterization of mechanisms of resistance of Shigella spp. isolated from feces of children under 5 years of age from Ifakara, Tanzania. *J Clin Microb* 1999; 10:3113-7.
15. Jones R. N., Pfaller M. A., Cormican M. G. Infectious Diseases: Principles and Practice of Antimicrobial Therapy. In: Speight T. M., Holford N. H., editors. Avery's Drug Treatment. 4–th ed. Auckland: Adis International; 1997. p. 1455-514.
16. Kotloff K. L. Shigellosis. In: Burg F. D., Wald E. R., Ingelfinger J. R., Polin R. A., editors. Gellis & Kagan's Current Pediatric Therapy. Philadelphia: Saunders; 1999. p. 49-51.
17. Flores A., Araque M., Vizcaya L. Multiresistant Shigella species isolated from pediatric patients with acute diarrhoeal disease. *Am J Med Sci* 1998; 316:379-84.

УДК [616.98:578]-078

## Лабораторная диагностика вирусных инфекций

Н.Н. Носик, В.М. Стаханова

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва

### Laboratory Diagnosis of Viral Infections

N.N. Nosik, V.M. Stachanova

#### Введение

Расширение возможностей в лечении и профилактике вирусных болезней с использованием противовирусных препаратов, иммуномодуляторов и вакцин с различным механизмом действия нуждается в быстрой и точной лабораторной диагностике. Узкая специфичность некоторых противовирусных препаратов также требует быстрой и высокоспецифичной диагностики инфицирующего агента. Появилась необходимость в количественных методах определения вирусов для мониторинга противовирусной терапии. Помимо установления этиологии заболевания лабораторная диагностика имеет важное значение в организации противоэпидемических мероприятий.

Ранняя диагностика первых случаев эпидемических инфекций позволяет своевременно провести противоэпидемические мероприятия – карантин, госпитализацию, вакцинацию и пр. Реализация программ по ликвидации инфекционных заболеваний, например натуральной оспы, показала, что по мере их выполнения возрастает роль лабораторной диагностики. Существенную роль играет лабораторная диагностика в службе крови и акушерской практике, например, выявление доноров, инфицированных *вирусом иммунодефицита человека* (ВИЧ), вирусом гепатита В (HBV), диагностика краснухи и цитомегаловирусной инфекции у беременных.

#### Диагностические методы

В лабораторной диагностике вирусных инфекций имеются три основных подхода (табл. 1, 2):

Контактный адрес:

Н.Н. Носик

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, РАМН

Тел.: (095) 190-28-43; факс: (095) 190-28-67

Эл. почта: nossik2@glasnet.ru

1) непосредственное исследование материала на наличие вирусного антигена или нуклеиновых кислот;

2) изоляция и идентификация вируса из клинического материала;

3) серологическая диагностика, основанная на установлении значительного прироста вирусных антител в течение болезни.

При любом выбранном подходе к вирусной диагностике одним из важнейших факторов является качество исследуемого материала. Так, например, для прямого анализа образца или для изоляции вируса исследуемый материал должен быть получен в самом начале заболевания, когда возбудитель еще экскретируется в относительно больших количествах и не связан пока антителами, а объем образца должен быть достаточен для проведения прямого исследования. Также важен выбор материала в соответствии с предполагаемым заболеванием, то есть того материала, в котором исходя из патогенеза инфекции вероятность присутствия вируса наибольшая.

Не последнюю роль в успешной диагностике играет среда, в которую берется материал, как он транспортируется и как хранится. Так, носоглоточные или ректальные мазки, содержащее везикул помещают в среду, содержащую белок, предотвращающий быструю потерю инфекционности вируса (если планируется его изоляция), или в соответствующий буфер (если планируется работа с нуклеиновыми кислотами).

#### Прямые методы диагностики клинического материала

Прямые методы – это методы, которые позволяют обнаружить вирус, вирусный антиген или вирусную *нуклеиновую кислоту* (НК) непосредственно в клиническом материале, то есть являются наи-

Таблица 1. Методы диагностики вирусных инфекций\* [10]

Наименование вирусов	Применимость методов					Комментарии
	Культура клеток	Непосредственная детекция вируса или его антигенов			Серологические методы	
		Иммунологические методы (ИФА, РИА)	Микроскопия	Молекулярные методы		
1	2	3	4	5	6	7
Аденовирусы	А	А	Б	В	Б	Культура клеток наиболее информативна для респираторных образцов; ИФА наиболее часто используется при исследовании фекалий; электронная микроскопия используется в соответствующем образом оснащенных лабораториях для исследования фекалий
Арбовирусы	В	Г	В	Б	А	Следует использовать меры предосторожности как при работе с микроорганизмами I-II групп патогенности; электронная микроскопия используется в соответствующем образом оснащенных лабораториях для исследования образцов тканей; серологические методы наиболее широко используются для диагностики и эпидемиологических исследований
Калицивирусы и родственные им вирусы	В	Б	А	Б	В	Культура клеток применима только для астровирусов; иммунологические методы потенциально применимы, но требуют необходимых реактивов; электронная микроскопия используется в соответствующем образом оснащенных лабораториях
Цитомегаловирусы	А	Г	Б	Б	А	Однослойная микрокультура клеток ( <i>shell vial</i> ) может быть использована для быстрой детекции репликации вируса; определение IgM антител - для диагностики первичной инфекции, особенно у новорожденных, IgG антител - для установления восприимчивости к инфекции
Энтеровирусы	А	Г	Г	А	В	Для некоторых штаммов обычные культуры клеток не могут быть использованы; ПЦР является методом выбора для диагностики инфекций центральной нервной системы (ЦНС)
Вирус Эпштейна-Барра	Г	Г	Б	Б	А	<i>In situ</i> методы применимы для диагностики вирус-ассоциированных опухолей; ПЦР может быть использована для диагностики инфекций ЦНС; обычно диагноз устанавливается серологически
Фило- и аренавирусы	Б	В	Б	Б	А	Следует использовать меры предосторожности как при работе с особо опасными инфекциями; электронная микроскопия используется в соответствующем образом оснащенных лабораториях
Вирус гепатита А	В	Б	В	Б	А	Определение IgG и IgM антител наиболее приемлемо в качестве первичного диагностического теста
Вирус гепатита В	Г	А	Б	Б	А	Детекция специфических вирусных антигенов и антител к ним используется для диагностики и мониторинга инфекции
Вирусы гепатитов С и G	Г	Б	Г	Б	А	Серологические методы наиболее широко используются для диагностики и эпидемиологических исследований; молекулярные методы могут быть использованы при наличии соответствующих материалов и оборудования

1	2	3	4	5	6	7
Вирус гепатита D	Г	В	В	В	Б	Диагноз - только при наличии инфекции вирусом гепатита В; исследование биоптата печени может быть необходимо для подтверждения диагноза
Вирус гепатита E	Г	В	Б	В	А	Электронная микроскопия может использоваться в соответствующим образом оснащенных лабораториях; наиболее часто используется серологическая диагностика (обычно в централизованных лабораториях)
Вирус простого герпеса	А	Б	А	Б	Б	Однослойная микрокультура клеток ( <i>shell vial</i> ) может быть использована для быстрой детекции репликации вируса; иммунофлюоресцентная микроскопия используется для детекции вирусных антигенов в кожных элементах; ПЦР является методом выбора для диагностики инфекции ЦНС; серологические методы обычно используются для установления восприимчивости к инфекции
Герпесвирусы 6, 7, 8	В	В	В	Б	В	Значимость культуры клеток варьирует в зависимости от вируса (не применима для 8-го типа); иммунологические методы являются методами выбора, но необщедоступны; микроскопия может использоваться в эпидемиологических целях
Вирус иммунодефицита человека	Б	Б	Г	А	А	Определение антигена р24 используется для ранней диагностики и мониторинга; количественный анализ вирусной РНК является важным для оценки эффективности противовирусной терапии
Вирус папилломы человека	Г	В	Б	А	В	Детекция кондилоцитов и позднего структурного антигена вируса в биоптате используется для диагностики; молекулярные методы могут быть использованы при наличии соответствующих материалов и оборудования
Парвовирусы	Г	В	В	А	А	Молекулярные методы используются при наличии соответствующих реагентов и оборудования; серологические методы используются наиболее широко для диагностики и эпидемиологических исследований, но неприемлемы для пациентов с иммунодефицитными состояниями
Вирус гриппа	А	А	А	В	Б	РИФ и ИФА материала из носа используются для быстрой диагностики; серологические методы обычно используются в целях эпидемиологической диагностики
Вирус кори	Б	В	Б	Б	А	Серологические методы используются для определения иммунного ответа на инфекцию и восприимчивости к инфекции; ПЦР является методом выбора для диагностики инфекции ЦНС
Вирус эпидемического паротита	А	В	Б	Б	А	Иммунофлюоресцентная микроскопия используется для детекции вирусных антигенов в материале из респираторных органов; ПЦР является методом выбора для диагностики инфекции ЦНС; серологические методы используются для оценки иммунного ответа и восприимчивости к инфекции
Вирус парагриппа	А	В	А	В	В	ИФА материала из носа используется для быстрой диагностики



Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Вирус полиомиелита	Г	Г	В	А	Г	<i>In situ</i> ДНК-гибридизация используется для обнаружения вируса в тканях; ПЦР используется для исследования спинномозговой жидкости и крови
Поксвирусы	Б	Г	Б	Б	А	Значение культуры клеток варьирует в зависимости от типа вируса; электронная микроскопия используется в специально оборудованных лабораториях; серологические методы используются наиболее широко, но требуют специальных реагентов и экспертной оценки
Вирус бешенства	Г	Г	Б	В	В	–
Респираторно-синцитиальный вирус	А	А	А	В	В	Иммунофлюоресцентная микроскопия используется для детекции вирусных антигенов в материале из респираторного тракта
Риновирусы	А	В	В	В	Г	Для дифференциации от энтеровирусов в культуре клеток необходим тест на кислотоустойчивость или какой-либо другой специфичный тест
Ротавирусы	Г	А	Б	В	Г	Электронная микроскопия используется в специально оборудованных лабораториях
Вирус краснухи	Б	Г	В	Б	А	Определение IgM антител используется для диагностики первичной инфекции, особенно у новорожденных, IgG антител – для определения восприимчивости к инфекции и сероконверсии (при исследовании парных сывороток крови)
Трансмиссивные возбудители спонгиозной энцефалопатии	Г	Г	В	Г	Г	Экспериментальное заражение животных и другие экспериментальные методы только в специализированных лабораториях
Вирус опоясывающего герпеса	А	Г	А	В	Б	Однослойная микрокультура клеток ( <i>shell vial</i> ) может быть использована для быстрой детекции репликации вируса; РИФ используется для обнаружения вируса в кожных элементах; серологические методы используются для определения восприимчивости к инфекции

\* Культура клеток - культивация вируса непосредственно из клинического материала с использованием культуры клеток (или тканей) и технологий, доступных практически во всех вирусологических лабораториях. Иммунологические методы – детекция вирусных антигенов в клиническом материале с помощью ИФА и РИА. Микроскопия – обнаружение вирусных антигенов или вирусов с помощью световой или электронной микроскопии. Световая микроскопия включает ИФА и другие подобные методы. Электронная микроскопия подразумевает визуализацию вирусов с помощью электронного микроскопа.

более быстрыми (2–24 ч). Однако из-за ряда особенностей возбудителей прямые методы имеют свои ограничения (возможность получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов). Поэтому они часто требуют подтверждения непрямими методами.

**Электронная микроскопия (ЭМ).** С помощью этого метода можно обнаружить собственно вирус. Для успешного определения вируса его концентрация в пробе должна быть примерно  $1 \cdot 10^6$  частиц в 1 мл. Но поскольку концентрация возбудителя, как

правило, в материале от больных незначительна, то поиск вируса затруднен и требует предварительного его осаждения с помощью высокоскоростного центрифугирования с последующим негативным контрастированием. Кроме того, ЭМ не позволяет типировать вирусы, так как у многих из них нет морфологических различий внутри семейства. Например, вирусы простого герпеса, цитомегалии или опоясывающего герпеса морфологически практически неотличимы.

Одним из вариантов ЭМ, используемым в диа-

Таблица 2. Сравнение различных подходов к диагностике вирусных инфекций [1]

Методы	Время	Преимущества	Недостатки
Культура клеток	Дни – недели	Высокая специфичность и чувствительность; возможность дальнейшей работы с выделенным вирусом	Необходимость в специальном оборудовании, длительность
Прямые методы диагностики	Часы – 1 день	Быстрота; применимость для вирусов, которые сложно культивировать	Риск получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов; сложность одновременного проведения большого количества исследований
Серологические	Недели	Определение иммунного ответа на вирус; применимость для вирусов, которые сложно культивировать	Возможность перекрестных реакций; во многих случаях необходимы парные сыворотки крови

гностических целях, является *иммунная электронная микроскопия* (ИЭМ), при которой применяются специфические антитела к вирусам. В результате взаимодействия антител с вирусами образуются комплексы, которые после негативного контрастирования легче обнаруживаются.

ИЭМ несколько более чувствительна, чем ЭМ, и используется в тех случаях, когда вирус не удается культивировать *in vitro*, например при поиске возбудителей вирусных гепатитов [1].

**Реакция иммунофлюоресценции (РИФ).** Метод основан на использовании антител, связанных с красителем, например флюоресцеинизотиоцианатом. РИФ широко применяется для выявления вирусных антигенов в материале больных и для быстрой диагностики.

В практике применяются два варианта РИФ: прямой и непрямой. В первом случае применяются меченные красителем антитела к вирусам, которые наносятся на инфицированные клетки (мазок, культура клеток). Таким образом, реакция протекает одноэтапно. Неудобством метода является необходимость иметь большой набор конъюгированных специфических сывороток ко многим вирусам.

При непрямом варианте РИФ на исследуемый материал наносится специфическая сыворотка, антитела которой связываются с вирусным антигеном, находящимся в материале, а затем наслаивается антивидовая сыворотка к гамма-глобулинам животного, в котором готовилась специфическая иммунная сыворотка, например антикроличья, антилошадиная и т. п. Преимущество непрямого варианта РИФ состоит в потребности лишь одного вида меченых антител.

Метод РИФ широко применяется для быстрой расшифровки этиологии острых респираторных вирусных инфекций при анализе мазков-отпечатков со слизистой оболочки верхних дыхательных путей [2, 3]. Успешное применение РИФ для пря-

мой детекции вируса в клиническом материале возможно лишь в случае содержания в нем достаточно большого числа инфицированных клеток и незначительной контаминации микроорганизмами, которые могут давать неспецифическое свечение.

**Иммуноферментный анализ (ИФА).** Иммуноферментные методы определения вирусных антигенов в принципе сходны с РИФ, но основываются на мечении антител ферментами, а не красителями. Наиболее широко используется пероксидаза хрена и щелочная фосфатаза, применяют также  $\beta$ -галактозидазу и  $\beta$ -лактамазы [4]. Меченые антитела связываются с антигеном, и такой комплекс обнаруживается при добавлении субстрата для фермента, с которым конъюгированы антитела. Конечный продукт реакции может быть в виде нерастворимого осадка, и тогда учет проводится с помощью обычного светового микроскопа, или в виде растворимого продукта, который обычно окрашен (или может флюоресцировать или люминесцировать) и регистрируется инструментально.

Поскольку с помощью ИФА можно измерять растворимые антигены, то не требуется наличия интактных клеток в образце и таким образом могут использоваться различные виды клинического материала.

Другое важное преимущество метода ИФА – возможность количественного определения антигенов, что позволяет применять его для оценки клинического течения болезни и эффективности химиотерапии. ИФА, как и РИФ, может применяться как в прямом, так и в непрямом варианте.

Твердофазный ИФА, дающий растворимый окрашенный продукт реакции, нашел наибольшее распространение. ИФА может быть использован как для определения антигена (тогда на твердую фазу – дно лунки полистиролового планшета – наносятся антитела), так и для определения антител (тогда на твердую фазу наносятся антигены) [5, 6].

Таблица 3. Методы серологической диагностики некоторых вирусных инфекций [1]

Возбудители	Тест	Комментарии
<b>Респираторные инфекции:</b>		
вирусы гриппа А и В	РСК, РТГА	РСК – для стабильного типоспецифичного антигена; РТГА – для штаммоспецифичного антигена
вирус парагриппа	РТГА, РСК, ИФА	Частые перекрестные реакции с другими парамиксовирусами
респираторно-синцитиальный вирус	РСК, ИФА	ИФА является наиболее чувствительным
аденовирусы	РСК, ИФА	Определяется группоспецифичный антиген
<b>Инфекций центральной нервной системы:</b>		
энтеровирусы	РСК, РН, ИФА	Необщедоступно, используется параллельно с выделением вируса
вирус паротита	РТГА, РИФ, ИФА	Частые перекрестные реакции с другими парамиксовирусами
вирус простого герпеса	РСК, РНГА, ИФА, РИФ	Малоинформативно для диагностики инфекции
<b>Гепатита:</b>		
вирус гепатита А	РИА, ИФА	IgM антитела для диагностики
вирус гепатита В	РИА, ИФА	Определение IgM анти-НВс антител; предпочтительнее использовать непосредственное определение вирусных антигенов
<b>Инфекций с преимущественными кожными проявлениями:</b>		
вирус краснухи	РИФ, ИФА, РСК	С целью диагностики или подтверждения наличия иммунитета
вирус опоясывающего герпеса	РСК, РИФ	Только для диагностики инфекции Для подтверждения наличия иммунитета
<b>Других инфекций:</b>		
вирус цитомегалии	РСК, РНГА, ИФА, РИФ	Ограниченное применение (за исключением скрининга донорской крови и органов)
краснуха	ИФА, РИФ	Стандартный подход к диагностике
вирус Эпштейна–Барра	Гетерофильный тест РИФ	Стандартный метод, возможность негативного результата, особенно у детей Для диагностики в проблемных случаях

**Радиоиммунный анализ (РИА).** Метод основан на метке антител радиоизотопами, что обеспечивало высокую чувствительность в определении вирусного антигена. Широкое распространение метод получил в 80-е годы, особенно для определения маркеров HBV и других некультивируемых вирусов. К недостаткам метода относится необходимость работать с радиоактивными веществами и использования дорогостоящего оборудования (гамма-счетчиков).

**Молекулярные методы.** Первоначально классическим методом выявления вирусного генома считался высокоспецифичный метод гибридизации НК, но в настоящее время все шире используется выделение геномов вируса с помощью *полимеразной цепной реакции* (ПЦР).

**Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот.** Метод основан на гибридизации комплементарных нитей ДНК или РНК с образованием дву-

нитевых структур и на выявлении их с помощью метки. Для этой цели используются специальные ДНК- или РНК-зонды, меченные изотопом ( $^{32}\text{P}$ ) или биотином, обнаруживающие комплементарные нити ДНК или РНК. Существуют несколько вариантов метода:

- точечная гибридизация – выделенную и денатурированную НК наносят на фильтры и затем добавляют меченый зонд; индикация результатов – автордиография при использовании  $^{32}\text{P}$  или окраска – при авидин-биотине;

- блот-гибридизация – метод выделения фрагментов НК, нарезанных рестрикционными эндонуклеазами из суммарной ДНК и перенесенных на нитроцеллюлозные фильтры и тестируемые мечеными зондами; используется как подтверждающий тест при ВИЧ инфекции;

- гибридизация *in situ* – позволяет определять НК в инфицированных клетках [7].

**ПЦР** основана на принципе естественной репликации ДНК. Суть метода заключается в многократном повторении циклов синтеза (амплификации) вирусспецифической последовательности ДНК с помощью термостабильной Taq ДНК-полимеразы и двух специфических затравок – так называемых праймеров.

Каждый цикл состоит из трех стадий с различным температурным режимом. В каждом цикле удваивается число копий синтезируемого участка. Вновь синтезированные фрагменты ДНК служат в качестве матрицы для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации, что позволяет за 25–35 циклов наработать достаточное число копий выбранного участка ДНК для ее определения, как правило, с помощью электрофореза в агарозном геле.

Метод высокоспецифичен и очень чувствителен. Он позволяет обнаружить несколько копий вирусной ДНК в исследуемом материале. В последние годы ПЦР находит все более широкое применение для диагностики и мониторинга вирусных инфекций (вирусы гепатитов, герпеса, цитомегалии, папилломы и др.) [8, 9].

Разработан вариант количественной ПЦР, позволяющий определять число копий амплифицированного сайта ДНК. Методика проведения сложна, дорогостояща и пока недостаточно унифицирована для рутинного применения.

**Цитологические методы** в настоящее время имеют ограниченное диагностическое значение, но при ряде инфекций по-прежнему должны применяться. Исследуются материалы аутопсии, биопсии, мазки, которые после соответствующей обработки окрашиваются и анализируются под микроскопом. При цитомегаловирусной инфекции, например, в срезах ткани или в моче обнаруживаются характерные гигантские клетки – “совиный глаз”, при бешенстве – включения в цитоплазме клеток (тельца Бабеша–Негри). В некоторых случаях, например при дифференциальной диагностике хронических гепатитов, имеет значение оценка состояния ткани печени.

### **Непрямые методы диагностики**

**Выделение вирусов** – один из самых старых и трудоемких методов диагностики. Однако и сегодня выделение вируса с последующей идентификацией с помощью одного из современных методов (ИФА с моноклональными антителами или ПЦР) является наиболее достоверным методом диагностики – так называемый “золотой стандарт”.

Для успешного выделения вирусов клинический материал должен быть взят в соответствии с

патогенезом предполагаемого заболевания и в наиболее ранние сроки.

Как правило, берутся:

- при респираторных инфекциях – носоглоточный смыв;
- при энтеровирусных инфекциях – смыв и фекалии (рео-, энтеровирусы);
- при поражениях кожи и слизистых оболочек – соскобы, содержимое пузырьков (герпес, ветряная оспа);
- при экзантемных инфекциях – смывы (корь, краснуха);
- при арбовирусных инфекциях – кровь, спинномозговая жидкость.

Для выделения вирусов используют культуры клеток, лабораторных животных, эмбрионы кур. Процесс длительный, иногда требующий проведения нескольких пассажей, прежде чем вирус будет обнаружен и идентифицирован с помощью одного или нескольких методов – в *реакции нейтрализации* (РН), РИФ, ИФА или ПЦР.

В настоящее время в большинстве случаев выделение вирусов заменено обнаружением вирусспецифических антигенов в инфицированных клеточных культурах с помощью указанных методов. Для этих целей широко применяются моноклональные антитела, особенно к ранним белкам возбудителя в РИФ или ИФА. Такой подход позволяет получить ответ уже через 24–72 ч после инфицирования клеток культуры тканей.

### **Серодиагностика**

Серологическая диагностика, основанная на реакции антиген – антитело, может быть использована для определения как тех, так и других, и играет роль в определении этиологии вирусной инфекции даже при отрицательных результатах выделения вируса.

Успех серологической диагностики зависит от специфичности реакции и соблюдения временных условий взятия крови, необходимых для синтеза организмом антител.

В большинстве случаев используют парные сыворотки крови, взятые с интервалом в 2–3 нед. Положительной реакция считается по крайней мере при 4-кратном нарастании титра антител. Известно, что большинство специфических антител относятся к классам IgG и IgM, которые синтезируются в различное время инфекционного процесса. При этом IgM антитела относятся к ранним, и тесты, используемые для их определения, применяются для ранней диагностики (достаточно исследовать одну сыворотку). Антитела класса IgG синтезируются позже и длительно сохраняются.

Для типирования вирусов применяется РН, при группоспецифической диагностике, например, аденовирусной инфекции, используют *реакцию связывания комплемента* (РСК). Наиболее употребительными являются *реакция торможения гемагглютинации* (РТГА), РСК, РИФ, *реакции пассивной и обратной пассивной гемагглютинации* (РПГА, РОПГА), различные варианты ИФА, практически повсеместно заменившего равный ему по чувствительности РИА.

*РТГА* используется для диагностики заболеваний, вызванных гемагглютинирующими вирусами. Она основана на связывании антителами сыворотки больного добавленного стандартного вируса. Индикатором реакции являются эритроциты, агглютинирующиеся вирусом (формирование характерного “зонтика”) при отсутствии специфических антител и оседающие на дно неагглютинированными при их наличии.

*РСК* является одной из традиционных серологических реакций и используется для диагностики многих вирусных инфекций. В реакции принимают участие две системы: антитела сыворотки больного + стандартный вирус и эритроциты барана + антитела к ним, а также оттитрованный комплемент. При соответствии антител и вируса этот комплекс связывает комплемент и лизис бараньих эритроцитов не происходит (положительная реакция). При отрицательной РСК комплемент способствует лизису эритроцитов. Недостатком метода является его недостаточно высокая чувствительность и трудность стандартизации реагентов.

Для учета значимости РСК также, как и РТГА, необходимо титрование парных сывороток, то есть взятых в начале заболевания и в период реконвалесценции.

*РПГА* – агглютинация сенсibilизированных вирусными антигенами эритроцитов (или полистироловых шариков) в присутствии антител. На эритроцитах могут быть сорбированы любые вирусы, независимо от наличия или отсутствия у них гемагглютинирующей активности. В связи с наличием неспецифических реакций сыворотки исследуются в разведении 1:10 и более.

*РНГА* – агглютинация эритроцитов, сенсibilизированных специфическими антителами в присутствии вирусных антигенов. Наибольшее распространение РОПГА получила при выявлении НВs-антигена как у больных, так и у доноров крови.

*ИФ* метод также, как *ИФА*, применяется для определения антител в сыворотке. Все большее значе-

ние и распространение получает ИФА для диагностических целей. На твердую фазу (дно лунок полистироловых планшет или полистироловые шарики) сорбируется вирусный антиген. При добавлении соответствующих антител, находящихся в сыворотке, происходит их связывание с сорбированными антигенами. Наличие искомым антител обнаруживается с помощью анти-антител (например, человеческих), конъюгированных с ферментом (пероксидазой). Добавление субстрата и реакция субстрат – фермент дают окраску. ИФА может быть использована и для определения антигенов. В этом случае на твердую фазу сорбируются антитела.

**Моноклональные антитела.** Большой прогресс в диагностике вирусных инфекций достигнут в последнее десятилетие, когда с развитием генно-инженерных исследований была разработана система получения моноклональных антител. Тем самым были резко повышены специфичность и чувствительность диагностических методов определения вирусных антигенов. Узкая специфичность моноклонов, представляющих небольшую долю вирусных белков, которые могут не присутствовать в клиническом материале, успешно преодолевается использованием нескольких моноклональных антител к различным вирусным детерминантам.

## Заключение

Количество методов, используемых для диагностики вирусных инфекций, непрерывно растет. Одни уходят в прошлое и имеют в основном историческое значение, другие совершенствуются. Несомненно, что технический прогресс в определении антител, белкового анализа и генодиагностики наряду с расширением наших знаний вирусов и патогенеза вирусных инфекций приведут к появлению новых высокоспецифичных и высокочувствительных методов, удобных для клинического применения.

В настоящее время выпускается большое количество коммерческих сертифицированных тест-систем, в том числе и отечественных, для диагностики наиболее распространенных и социально значимых вирусных инфекций. Государственный реестр содержит более 600 диагностических препаратов. Однако далеко не для всех групп вирусов имеются диагностические тест-системы. Например, из большой группы энтеровирусов (более 80 членов) только для определения вирусов полиомиелита имеются тест-системы, в то же время для диагностики ВИЧ-инфекции выпускается более 15 различных наборов.

## Литература

1. Konen E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger, Washington C.W. Jr., editors. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p. 1177-265.
2. Cherry W.B. Immunofluorescence techniques. In: Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J.Jr., Triant J.P., editors. Manual of clinical microbiology. 3d ed. Washington: D.C. Am Soc Microbiol 1980: 501-8.
3. Gardner P.S., McQuillin J. Rapid Virus diagnosis: application of immunofluorescence. 2nd ed. London: Butterworth; 1980.
4. Averameas S., Ternynck T., Guesdon J.L. Coupling of enzymes to antibodies and antigens. Scand J Immunol 1978;8:7-23.
5. Исаева Е.И., Ровнова З.И., Колобухина Л.В., Алипова Т.А., Меркулова Л.Н., Стаханова В.М. Этиологическая структура заболеваемости гриппом в 1988–1996 гг. Эпидемиол и инфекц бол 1996;3:10-4.
6. Букринская А.Г. Вирусология. М.: Медицина; 1986.
7. Fox J.C., Griffiths P.D., Emery V.C. Quantification of Human Cytomegalovirus DNA using the polymerase chain reaction. J Gen Virol 1992;73:2405-8.
8. Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И., Шипулин Г.А., Кравченко А.В., Серебровская Л.В., Покровский В.В. Полимеразная цепная реакция в диагностике цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов. Вопр вирусол 1998;2:91-5.
9. Walmsley S., Mazzulli T., Krajden M. Long-Term Predictive Value of a Single Cytomegalovirus (CMV) DNA PCR Assay for CMV Disease in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients. J Clin Microbiol 1998;36(1):281-3.
10. Yolken R.H., Lennette D.A., Smith T.F., Waner J.L. Algorithms for detection and identification of viruses. In: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Yolken R.H., editors. Manual of clinical microbiology. 7th ed.; 1999. p.843-6.

УДК 616-091.5-076

## Микробиологическое исследование аутопсийного материала и интерпретация его результатов

М.А. Середкина, О.И. Кречикова, М.В. Сухорукова

*Смоленский областной центр Госсанэпиднадзора*

В обзоре, основанном на литературных данных, рассматриваются проблемы исследования посмертного материала с микробиологической точки зрения. Изложены методические рекомендации по забору материала для микробиологического исследования и принципы интерпретации его результатов, которые, возможно, окажутся полезными и для патологоанатомов.

Обсуждается необходимость выполнения посмертных культуральных исследований с учетом патологоанатомической экспертизы и лабораторного оснащения.

**Ключевые слова:** микробиологическое исследование, аутопсийный материал, посмертные культуры, патологоанатомическая экспертиза, интерпретация результатов.

## Post-mortem Microbiological Analysis and Interpretation of Its Results

M.A. Seredkina, O.I. Kretchikova, M.V. Suchorukhova

*Smolensk Regional Centres of Sanitary and Epidemiological Surveillance*

This review summarises the data given in medical literature and presents an attempt to elucidate the problems of post-mortem specimens analysis from microbiological point of view. It includes general recommendations for specimen collection, processing and interpretation of the microbiology results that may be useful for pathologists as well as

for microbiologists. The necessity of post-mortem microbiological analysis is considered, taking into consideration pathologoanatomic examination and laboratory equipment.

**Key words:** microbiological analysis, post-mortem cultures, autopsy, pathologoanatomic examination, interpretation of results.

### Введение

Несмотря на то что интерес к посмертным культурам возник еще в XIX веке, до сих пор остается много спорных вопросов как в методике культурального исследования посмертного материала, так и в оценке значимости выделяемых микроорганизмов. В нашей стране проблема микробиологического исследования посмертных образцов недостаточно освещается в литературе по медицинской микробиологии. Необходимую информацию по этой теме можно найти (за редким исключением) лишь в специальной литературе по патологической анатомии и судебной медицине. Между тем микробиологическое исследование имеет важное, нередко решающее значение для установления окончательного по-

смертного диагноза при инфекционных заболеваниях.

Трудности интерпретации данных, получаемых при микробиологическом исследовании посмертных образцов, обусловлены рядом факторов. Наиболее важные из них – посмертное распространение микроорганизмов и возможность контаминации образцов. Использование различных методов исследования посмертного материала обуславливает получение переменных результатов и ставит под сомнение значимость выделяемых микроорганизмов. Если они являются результатом посмертного распространения или контаминации, то работа с такими культурами ведет к неоправданной потере времени и средств.

Патологоанатомы иногда сообщают о наличии бактериальных клеток в тканях трупа при отсутствии признаков воспаления. После смерти в тканях и органах создаются условия, благоприятные для размножения различных микроорганизмов. Температура тела после смерти может снижаться медленно, позволяя бактериям формировать микроколонию. Основными факторами, определяющими распространение микроорганизмов, являются питательные вещества и влага, температура, концентрация кислорода, скорость роста и размножения микроорганизмов.

Возможны три пути посмертного распространения микроорганизмов: по поверхности слизистых оболочек, по лимфатическим и кровеносным сосудам, трансмиграция через ткани.

**Прижизненная нестерильность тканей.** Существует мнение, что висцеральные органы человека в норме могут содержать некоторое количество микроорганизмов [1, 2]. Этим можно объяснить достаточно частое обнаружение небольшого числа микробов в биопсийном материале при отсутствии каких-либо признаков инфекционного процесса. Такое предположение может служить альтернативой концепции "агонального" распространения микроорганизмов или предположению о контаминации образца.

В случаях, когда выделяемые микроорганизмы не являются клинически значимыми, дифференциация этих явлений представляется достаточно сложной и не имеет принципиального значения. Проблема наличия прижизненной "микрофлоры" в тканях может иметь важное значение для таких областей медицины, как трансплантология [3].

**Предсмертная бактериемия.** Некоторые авторы утверждают, что в процессе смерти может развиваться "агональная" бактериемия из мест обитания нормальной микрофлоры, связанная со снижением защитных функций макроорганизма [4].

Концепция предсмертного распространения микроорганизмов обсуждается в течение ряда лет. Однако до сих пор в этом вопросе нет единого мнения. Основная проблема заключается в том, чтобы отличить бактериемию, возникающую в последние несколько дней жизни, от той, которая происходит за часы или минуты перед смертью.

При определенных обстоятельствах незадолго до или в процессе смерти возникает бактериемия, вызванная микрофлорой кишечника. Обычно она связана с влиянием таких предрасполагающих факторов, как изъязвление слизистой оболочки кишечника, кишечная непроходимость, нейтропеническая энтеропатия. Большинство патологоанатомов в своей практике наблюдали случаи, когда посмертная

экспертиза осложнялась размножением кишечной микрофлоры во всех органах, результатом которого были выраженный аутолиз и газообразование.

В секционных тканях часто обнаруживаются представители микрофлоры желудочно-кишечного тракта. При внимательном изучении анамнеза таких пациентов часто можно найти упоминание о каком-либо заболевании кишечника. Но этого недостаточно для вывода о наличии прижизненной бактериемии. В одной из последних публикаций [4] приводятся результаты исследования 700 посмертных образцов селезенки, в результате которого было выделено 213 культур. В образцах, взятых у 68 умерших пациентов, был обнаружен рост ассоциации микроорганизмов.

Внимательное изучение всех данных, включая патологоанатомические заключения, в большинстве случаев позволило сделать вывод о предсмертной бактериемии и установить корреляцию с возможными источниками ее возникновения. Наиболее вероятными потенциальными источниками были названы кишечник и респираторный тракт. Как менее значимые были отмечены кожа, печень, желчевыводящие и мочевыводящие пути, кости и сердечно-сосудистая система. Вместе с тем у одного из 68 пациентов в последнюю неделю жизни была выделена гемокультура. Следовательно, остается открытым вопрос, являются ли эти случаи "агональной" или недиагностированной прижизненной бактериемией.

**Посмертное распространение микроорганизмов.** В начале XX века С. Norris и А.М. Parphenheimer [5] показали, что микроорганизмы, обитающие в ротовой полости, после смерти могут быть выделены из легких примерно у 50% пациентов.

Попадание слюны в легкие является одним из наиболее показательных, документально подтвержденных примеров посмертного распространения микроорганизмов и может объяснить присутствие микробов в легких при отсутствии признаков пневмонии. В таких случаях невозможно дифференцировать микроорганизмы, вызвавшие пневмонию, от контаминирующей микрофлоры из верхних дыхательных путей. Это ставит под сомнение этиологическое значение большинства посмертных культур, выделенных из легких. Аналогично микроорганизмы могут распространяться по мочевыводящим путям.

В эксперименте показано, что микроорганизмы могут проникать через неповрежденную стенку кишки человека в течение 12–15 ч после смерти [6]. Н.М. Carpenter и R.M. Wilkins [7], доказавшие распространение микроорганизмов через другие ткани, назвали его "посмертной инвазией".



**Контаминация в ходе аутопсии.** На степень контаминации влияют локализация органа, соблюдение правил забора материала и используемый метод. Источниками контаминации могут быть кишечник, ротовая полость, кожа. Например, как и в случае с прижизненным выделением из крови, обнаружение в секционном материале коагулозонегативных стафилококков и дифтероидов в большинстве случаев рассматривается как результат контаминации микрофлорой кожи [8].

В большинстве случаев контаминация образца происходит при контакте с контаминированной жидкостью, находящейся в полостях и на поверхностях органов. При бактериологическом исследовании контаминированных образцов, как правило, наблюдается полимикробный рост. Подобная контаминация иногда наблюдается и при исследовании крови.

### **Получение образцов для микробиологического исследования**

**Общие положения.** Независимо от используемого метода при получении образцов принципиально важны отбор репрезентативных проб, предотвращение их контаминации и изменения состава микроорганизмов до начала исследования. Необходимость посмертного культивирования в каждом конкретном случае зависит от целей данного исследования, используемых методов и возможностей лаборатории.

При использовании простых и относительно недорогих методов получения образцов с помощью тампона или шприца некоторые авторы рекомендуют забирать материал рутинно у каждого вскрываемого трупа, а решение о целесообразности микробиологического культурального исследования принимать в конце вскрытия [4].

Наиболее приемлемым для микробиологического исследования принято считать отбор материала в течение первых 15 ч после смерти [9]. Материал для культурального исследования лучше забирать в начале вскрытия перед другими манипуляциями. Так, имеются данные о получении хороших результатов при отборе проб крови из сердца путем трансторакальной пункции до вскрытия [4].

В ходе аутопсии жидкость в полостях и поверхности органов быстро контаминируются. Поэтому перед взятием образца для микробиологического исследования поверхность органа необходимо тщательно обработать. Как правило, стерильность достигается прижиганием поверхности органа с помощью раскаленного шпателя.

Наибольшую трудность может представлять забор материала из глубокорасположенных органов,

таких, как почки или селезенка, которые легко контаминируются вследствие постоянного стекания полостных жидкостей. В этом случае часто необходима помощь ассистента, который во время забора образца должен удерживать орган как можно выше в полости тела.

Отобранные образцы должны доставляться в лабораторию в кратчайшие сроки с соблюдением обычных мер предосторожности при транспортировке. Когда задержка доставки неизбежна, должно быть предусмотрено охлаждение, использование транспортной среды или среды для первичного посева.

**Аспирация.** Стандартный метод – получение образцов с использованием иглы или шприца. Для начинающих эта техника может представлять определенные трудности. Забор крови даже иглой большого диаметра часто осложняется отсутствием кровяного давления и наличием тромбов. Аспирационная техника используется для получения образцов из большинства органов, абсцессов, а также спинномозговой жидкости (путем люмбальной, окципитальной или вентрикулярной пункции).

Количественное микробиологическое исследование любого аспирата возможно, если получено достаточное количество материала.

**Использование тампона.** Альтернативным аспирации методом является отбор материала с помощью тампона [4]. При отборе материала из таких органов, как селезенка или печень, рекомендуется предварительно удалить с них соединительнотканную оболочку. При использовании тампона, как правило, трудно определить количество микроорганизмов в исследуемом материале, возможна лишь полуколичественная оценка по интенсивности роста на плотных питательных средах.

**Биопсия тканей.** Образцы тканей получают с помощью нескольких технических приемов. Предлагаемая некоторыми авторами [10] асептическая техника, подобная той, что используется в операционной, является дорогостоящей и не имеет существенного практического значения для рутинного использования в большинстве лабораторий.

Другие исследователи [11] описывают более простую технику получения образцов тканей с помощью стерильных инструментов (ножниц и скальпеля) после прижигания поверхности органа. Для культурального исследования полученный образец ткани гомогенизируют и распределяют по поверхности питательной среды. Дополнительно проводится бактериоскопическое исследование гистологических срезов, приготовленных из предварительно замороженных кусочков тканей, и/или мазков-отпечатков [12]. Это может значительно облег-

чить определение локализации микроорганизмов. Одно из преимуществ тканевой биопсии перед отбором материала с помощью тампона – возможность выполнить более точный количественный анализ.

Некоторые исследователи описывают технику, при которой в лабораторию доставляются более крупные образцы тканей, забранные без соблюдения правил асептики [1]. В этих случаях для микробиологического посева в условиях лаборатории стерильно отбирают материал после прижигания всех поверхностей доставленных образцов.

Иногда характерные клинико-эпидемиологические и патологоанатомические данные указывают на необходимость исследовать образцы специальными методами, такими, как микроскопия нативных или дифференциально окрашенных препаратов для выявления паразитов, культивирование для обнаружения вирусов, микобактерий, грибов, легионелл и микоплазм.

Грибы способны расти на большинстве простых лабораторных сред, но часто требуют длительной инкубации (10 дней и более). Однако предпочтительнее использовать селективные среды, содержащие ингибирующие рост бактерий добавки.

Культуры грибов имеют значение при оценке легочных поражений, особенно у пациентов с иммунодефицитными состояниями. При грибковых поражениях в срезах тканей часто можно обнаружить мицелий. Однако для идентификации возбудителя в большинстве случаев необходимо его выделение и изучение культуральных свойств.

Культивирование микобактерий требует специальных сред, что ведет к увеличению материальных затрат лаборатории. В некоторых случаях это оправданно, так как результаты микробиологического исследования могут иметь важное значение для контроля за инфекцией (выявление контактных лиц и пр.).

Необходимо отметить, что посмертное культивирование позволяет не только идентифицировать микроорганизмы, но также определить фенотип их чувствительности к антимикробным препаратам, что представляется важным, в частности для контроля за внутрибольничными инфекциями.

### **Интерпретация результатов**

**Общие положения.** Важное значение имеет дифференциация клинически значимых микроорганизмов, которые могли играть этиологическую роль в развитии болезни или обусловить смерть пациента, от тех, которые не имеют клинического значения.

При интерпретации результатов культивирования посмертных образцов используют те же крите-

рии, что и для других клинических образцов. Безусловно патогенные микроорганизмы, например сальмонеллы или микобактерии туберкулеза, не являются представителями нормальной микрофлоры человека и чрезвычайно редко контаминируют образцы. Поэтому их присутствие свидетельствует о наличии инфекции. Основные проблемы, как правило, связаны с интерпретацией выделения условно патогенных микроорганизмов.

Трудности часто возникают при сопоставлении результатов культивирования с данными микроскопического исследования окрашенных по Граму гистологических срезов тканей. В срезах тканей грамположительные микроорганизмы обычно видны лучше, чем грамотрицательные. Поскольку срез толще, чем мазок, многие микроорганизмы в нем трудно различимы.

Результаты микробиологического исследования должны быть сопоставлены с эпидемиологическими, клиническими и патологоанатомическими данными, а также с результатами лабораторных исследований, выполненных при жизни пациента.

**Кровь из сердца, периферических сосудов и селезенки.** По данным D.F. Brown и S.F. Perry [13], рост микроорганизмов обнаруживается при посевах прижизненных образцов крови в 0–25% случаев, а при культивировании секционных образцов крови из сердца или селезенки – в 20–69% [4]. Подобные различия могут быть результатом контаминации, "агональной" бактериемии или влияния других факторов.

При посмертном исследовании крови, взятой из сердца или селезенки, одним из основных критериев этиологической значимости является выделение культур тех же микроорганизмов, которые высеивались из периферической крови при жизни пациента.

Так, по данным F.J. Roberts [4], при культуральном исследовании крови из сердца и селезенки, взятой от 100 трупов, культуры получены в 16 из 20 умерших с предполагаемой и бактериологически подтвержденной прижизненной бактериемией. Поэтому в большинстве случаев при посмертном культивировании крови следует ожидать высева тех же микроорганизмов, которые выделяли из крови при жизни пациента.

**Легкие.** Факт выделения культуры из легких часто является трудным для интерпретации. Нередко могут возникать несоответствия результатов культивирования и данных микроскопического исследования. Микроорганизмы, в том числе патогенные, могут проникать в легкие еще при жизни пациента, в частности посредством микроаспирации отделяемого ротоглотки. В связи с этим материал для микробиологического исследования необходимо

забирать только из тех участков легочной ткани, морфологические изменения которых указывают на наличие инфекционного процесса.

При интерпретации результатов посмертного исследования образцов легочной ткани необходимо учитывать также изменение респираторной микрофлоры у госпитализированных пациентов. В одном из исследований было показано, что контаминация ротоглотки энтеробактериями у здоровых негоспитализированных добровольцев отмечалась относительно редко (менее 10%) и была непродолжительной, но при развитии более тяжелых системных заболеваний частота колонизации ротоглотки грам-отрицательными бактериями увеличивалась до 35% при умеренной тяжести клинического течения заболевания и до 75% при критических состояниях [14].

В целом к оценке аутопсийных культур, выделенных из легочной ткани, надо подходить как и при обычном микробиологическом исследовании мокроты [15, 16].

Как и в случае прижизненного исследования, основным критерием качества образца является соотношение числа эпителиальных клеток и полиморфно-ядерных нейтрофилов. Присутствие в мазке, окрашенном по Граму, большого числа нейтрофилов (более 25 в поле зрения при малом увеличении) подтверждает инфекционный процесс в легких и свидетельствует о пригодности образца мокроты для бактериологического исследования. Если материал для посмертного культурального исследования и для гистологических срезов берется из одной и той же области, как и при исследовании мокроты, значимость выделенных культур оценивается в зависимости от наличия воспалительных изменений.

**Другие образцы.** При оценке культур, выделяемых из других висцеральных органов, таких, как печень или почки, могут возникать описанные выше проблемы. Рост микроорганизмов при исследовании этих образцов может быть результатом как инфекции, так и контаминации. Положительный результат посмертного микробиологического исследования печени или почек может быть также следствием бактериемии. В таких случаях следует ожидать роста тех же микроорганизмов при исследовании другого аутопсийного материала, например крови из сердца или селезенки.

### **Значение посмертных культуральных исследований**

Одни авторы сомневаются в значимости посмертных культуральных исследований [17], в то время как другие считают их полезными [3].

Действительно, в большинстве случаев посмертное микробиологическое исследование при относительно высокой его стоимости дает мало новой информации, но иногда именно оно решает вопрос о причине заболевания. Стоимость исследования можно уменьшить при наличии критериев, определяющих необходимость его проведения в каждом конкретном случае, если отбирать материал в начале каждого вскрытия. Но окончательное решение о целесообразности микробиологического исследования следует принимать в ходе патологоанатомической экспертизы, а также при использовании простых методов культивирования, не требующих гомогенизации образцов.

Заинтересованность и готовность патологоанатомов и микробиологов внимательно сопоставлять и обобщать клиническую, лабораторную и патологоанатомическую информацию определяют реальную значимость посмертных культур. Посмертное культуральное исследование может быть ценным в ряде случаев, примеры которых приведены ниже.

**Подтверждение прижизненного диагноза.** Результаты посмертного культивирования могут быть важными как для подтверждения прижизненного диагноза, так и для получения дополнительной полезной информации. Особенно такие исследования оправданны в случаях молниеносной инфекции, при которой смерть наступает до проведения соответствующей микробиологической диагностики.

Клинически значимые микроорганизмы, выделенные при жизни, обычно обнаруживаются и при посмертном культивировании. Культуральное исследование селезенки и крови, взятой из сердца, в большинстве случаев дает возможность установить этиологию пневмонии после смерти пациентов. Выделение при этом клинически значимых микроорганизмов имеет такое же значение, как и полученная при жизни пациента гемокультура.

Результаты посмертного культивирования могут внести ясность при инфекциях сомнительной этиологии, когда от пациента при жизни выделяют нескольких микроорганизмов. Посмертное культивирование может также помочь в определении стадии болезни и оценке эффективности терапии.

**Установление этиологии недиагностированной при жизни инфекции.** Важность посмертного культурального исследования можно проиллюстрировать некоторыми примерами. Так, описана внезапная смерть студента во время игры в футбол [4]. Первоначальные результаты вскрытия не позволили определить причину смерти. При посеве материала из селезенки, взятого тампоном, был выделен менингококк (*Neisseria meningitidis*), хотя при мик-

роскопическом исследовании гистологических срезов отклонений от нормы не выявлено. Только при изучении серийных срезов через блоки коронарной артерии обнаружены области сосудов, содержащие указанный микроорганизм. В данном случае без результата микробиологического исследования диагноз менингококковой инфекции не был бы установлен и, следовательно, не была бы проведена антибиотикопрофилактика у контактных лиц.

В другом примере выделение культуры  $\beta$ -гемолитического стрептококка из селезенки позволило установить, что пациент умер от вторичной бактериемии, развившейся на фоне септического артрита, который при жизни был неправильно диагностирован как острый ревматоидный артрит [4].

У одних больных определенная инфекция подзревает еще при жизни, у других обнаруживается при аутопсии. Так, картина деструкции эндокарда или язвенного поражения сердечных клапанов с большой вероятностью может указывать на наличие инфекционного эндокардита. Наибольшую диагностическую ценность в этом случае будут иметь образцы, взятые для культурального исследования в начале вскрытия. Альтернативный подход – исследование образцов крови, взятых из периферических сосудов в конце посмертной экспертизы.

Необходимость микробиологического исследования возникает, когда в ходе патологоанатомической экспертизы обнаруживаются очаги некротических или воспалительных изменений. Описаны наблюдения, когда при исследовании гистологических срезов была впервые обнаружена полиорганный микобактериальная инфекция. В результате посмертного культивирования образцов селезенки удалось не только выделить и идентифицировать микобактерии, но и определить их чувствительность к антимикробным препаратам.

**Оценка эффективности лечения.** Посмертное культивирование биоптатов селезенки может быть использовано для оценки эффективности лечения прижизненной бактериемии.

В одном исследовании из крови, взятой у 79 пациентов в последние 10 дней их жизни, было изолировано 85 культур [18]. При посмертном исследовании селезенки пациентов, принимавших соответствующие антибиотики в течение 0, менее 2, от 2 до 4 и более 4 дней, были выделены те же микроорганизмы, что и при жизни из образцов крови – в 96, 55, 41 и 35% случаев соответственно. При посмертном исследовании образцов селезенки всех пациентов, не прошедших соответствующую терапию, был выделен по крайней мере один микроорганизм, который изолировали при жизни из периферической крови.

**Научное значение.** Посмертное культивирование используется при научных исследованиях. Однако существуют перспективы практического использования результатов таких исследований. Одной из важных проблем становится появление резистентных к антибиотикам бактерий. Информацию о распространении таких микроорганизмов в лечебных учреждениях можно получить при рутинном культивировании аутопсийного материала, взятого от всех пациентов, из которых многие находились в отделениях интенсивной терапии. В большинстве случаев у них установлены признаки иммунодефицита.

Трансплантация органов – одна из областей медицины, в которой могут оказаться полезными результаты посмертных культуральных исследований [3]. В настоящее время доноров проверяют в основном на наличие вирусной инфекции. Для преодоления бактериальной контаминации трансплантируемых органов обычно рассматривается вопрос о назначении антибиотиков с профилактической целью. Если эти антибиотики неэффективны, может возникнуть необходимость быстрого скрининга донорского органа на присутствие микроорганизмов с множественной антибиотикорезистентностью.

## **Заключение**

Для получения репрезентативных образцов, достоверных результатов и правильной их интерпретации необходимо тесное сотрудничество патологоанатомов и микробиологов. Благодаря этому у микробиологов уменьшится объем лабораторных исследований, связанных с обработкой контаминированных образцов и возможностью получить более полные знания об инфекционных заболеваниях.

Имеется множество варьирующих по сложности методик проведения посмертного культурального исследования. Простые методы исследования доступны для многих лабораторий. При разумном использовании они не должны приводить к большим материальным затратам.

К сожалению, часто необходимость культурального микробиологического исследования становится очевидной только в ходе посмертной экспертизы. Как наиболее эффективный рассматривается подход, при котором образцы крови, взятой из сердца и селезенки, получают в начале каждого вскрытия (путем аспирации или с помощью тампона), а решение о необходимости культурального исследования принимается с учетом результатов патологоанатомической экспертизы.

Результаты культивирования аутопсийного материала интерпретируют подобно результатам

микробиологического исследования прижизненных образцов. Микробиологические данные, полученные при посмертном исследовании, могут иметь решающее значение для установления при-

чины смерти отдельных пациентов, интерпретации особенностей инфекционного процесса, а также дать информацию об эффективности антибиотикотерапии.

## Литература

1. Dolan C.T., Brown A.L.Jr., Ritts R.E.Jr. Microbiological examination of postmortem tissues. *Arch Pathol* 1971;92:206-11.
2. Koneman E.W., Davis M.A. Postmortem bacteriology III. Clinical significance of microorganisms recovered at autopsy. *Am J Clin Pathol* 1974;61:28-40.
3. Du Molin G., Paterson D.G. Clinical relevance of postmortem microbiologic examination, a review. *Hum Pathol* 1985;16:539-48.
4. Roberts F.J. Procurement, interpretation and value of postmortem cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:821-7.
5. Norris C., Pappenheimer A.M. A study of pneumococci and allied organism in human mouths and lungs after death. *J Exp Med* 1905;7:450-72.
6. Kellerman G.D., Waterman N.G., Scharfenberger L.F. Demonstration in vitro of postmortem bacterial transmigration. *Am J Clin Pathol* 1976;66:911-5.
7. Carpenter H.M., Wilkins R.M. Autopsy bacteriology: review of 2033 cases. *Arch Pathol* 1964; 77:73-81.
8. Weinstein M.P. Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology and interpretation of results. *Clin Infect Dis* 1996;23:40-6.
9. Wood S.H., Oldstone M., Schultz R.B. A reevaluation of blood culture as an autopsy procedure. *Am J Clin Pathol* 1965;43:241-7.
10. O'Toole W.F., Hari M.K., Golden A., Retts R.E. Studies of postmortem microbiology using sterile autopsy technique. *Arch Pathol* 1965;80:540-7.
11. De Jongh D.S., Loftis L.W., Green G.S., Shively J.A., Minckler T.M. Postmortem bacteriology: a practical method for routine use. *Am J Clin Pathol* 1968;49:424-8.
12. Fung J.C., Sun T., Kilius I., Gross S. Printcultures for postmortem microbiology. *Ann Clin Lab Sci* 1983;13:83-6.
13. Brown D.F., Perry S.F. Methods used in the United Kingdom for the culture of microorganism from the blood. *J Clin Pathol* 1992;45:468-74.
14. Американское торакальное общество. Госпитальная пневмония у взрослых: диагностика, оценка тяжести заболевания, начальное антимикробное лечение и стратегия профилактики. *Рус мед журн* 1998; 5 (прил).
15. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C.Jr. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. New York: Lippincott-Raven Publishers; 1997;83-4.
16. Гельфанд Б.Р., Гологорский В.А., Белоцерковский Б.З. и др. Нозокомиальная пневмония в отделениях интенсивной терапии. *Анестезиол реаниматол* 1999;3:38-46.
17. Wilson S.J., Wilson M.L., Reller B. Diagnostic utility of postmortem blood culture. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:986-8.
18. Roberts F.J. The association of antimicrobial therapy with postmortem spleen culture in bacteremic patients. *Am J Clin Pathol* 1987;87:770-2.

УДК 615.33.015.3.035:616.61

## Правила дозирования антибиотиков у пациентов с нарушенной функцией почек

Большинство препаратов частично или полностью выделяется через почки. У пациентов с нарушенной функцией почек часто требуется изменять режим дозирования многих антимикробных препаратов. Необходимость коррекции дозы и режима введения определяется функцией почек. Одной из основных функциональных характеристик почек является клубочковая (гломерулярная) фильтрация, которую можно оценить по клиренсу креатинина. В данной статье приведены реко-

мендации по дозированию наиболее часто применяемых антимикробных препаратов в зависимости от клубочковой фильтрации. Также рассматриваются правила дозирования основных антимикробных препаратов при гемо- и перитонеальном диализе.

**Ключевые слова:** антибиотики, антимикробные препараты, почечная недостаточность, функция почек, гемодиализ, перитонеальный диализ.

### Dosage of antibiotics in patients with renal impairment

L.S. Stratchounski, N.N. Sudilovskaja, A.N. Schevelev

*Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy*

Most drugs and their metabolites are partly or completely excreted by kidneys. Thus in patients with renal impairment it is often crucial to modify antibiotic dosage regimens accordingly to the renal function tests. One of the main characteristics is glomerular filtration rate that can be estimated on the base of creatinine clearance. This

article provides the guidelines for dose and regimen adjustment of the most frequently prescribing antibiotics. Principles of antibiotic usage in patients on haemo- and peritoneal dialysis are also discussed.

**Key words:** antimicrobials, renal impairment, renal function, haemodialysis, peritoneal dialysis.

Как известно, большинство антибактериальных препаратов частично или полностью выделяется через почки путем клубочковой фильтрации и канальцевой секреции. У пациентов с нарушенной функцией почек часто требуется изменять режим дозирования (дозу и/или интервал) многих антибактериальных препаратов. Однако это не относится

к таким препаратам, как азитромицин, амфотерицин В, диригтромицин, доксициклин, итраконазол, клиндамицин, оксациллин, рифампицин, хлорамфеникол, цефтриаксон.

Необходимость коррекции дозы и режима введения определяется функцией почек. Одна из основных функциональных характеристик почек – клубочковая (гломерулярная) фильтрация, которую можно оценить по клиренсу креатинина (КК).

Существуют различные способы определения КК исходя из концентрации креатинина в сы-

воротке крови. Разработаны специальные формулы, по которым с учетом массы тела, возраста и пола пациента можно рассчитать КК у взрослых пациентов.

Наиболее известными и фактически общепризнанными являются формулы Кокрофта и Голта (Cockcroft & Gault) [5]. Для расчета КК по формулам Кокрофта и Голта необходимо знать только один биохимический параметр – уровень креатинина в сыворотке крови, определение которого возможно в любой лаборатории. Поскольку в России принято определять креатинин в мкмоль/л,

Контактный адрес:

Страчунский Леонид Соломонович  
214019, Смоленск, а/я 5  
Факс: (0812) 61-1294  
Эл. почта: str@antibiotic.ru

Авторский коллектив:

Л.С. Страчунский, Н.Н. Судилова, А.Н. Шевелев (*Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии*)

Таблица 1. Ориентировочное определение клиренса креатинина [1]

Концентрация креатинина в сыворотке крови		Клиренс креатинина, мл/мин
мг%	мкмоль/л	
<2	<177	>40
2–4	177–354	20–40
4–8	354–707	10–20

Таблица 2. Дозирование аминогликозидных антибиотиков у пациентов с почечной недостаточностью

Традиционный режим введения аминогликозидов [3]				
Препарат	T <sup>1</sup> / <sub>2</sub> (ч), в норме / ПН*	Клиренс креатинина, мл/мин		
		< 50	10–20	> 10
Амикацин	1,4–2,3/ 17–150	60–90% каждые 12 ч	30–70% каждые 12–18 ч	20–30% каждые 24–48 ч
Гентамицин	2–3/20–60	60–90% каждые 12 ч	30–70% каждые 12 ч	20–30% каждые 24–48 ч
Тобрамицин	2–3/20–60	60–90% каждые 12 ч	30–70% каждые 12 ч	20–30% каждые 24–48 ч
Нетилмицин	2–3/35–72	50–90% каждые 12 ч	20–60% каждые 12 ч	10–20% каждые 12 ч
Стрептомицин	2–3/30–80	50% каждые 24 ч	50% каждые 24–72 ч	50% каждые 72–96 ч

Однократное введение аминогликозидов [4]							
КК**, мл/мин	> 80	от 60 до 80	от 40 до 60	от 30 до 40	от 20 до 30	от 10 до 20	< 10
Препарат	Одна доза через 24 ч, мг/кг			Одна доза через 48 ч, мг/кг			
Гентамицин } Тобрамицин }	5,1	4,0	3,5	2,5	4,0	3,0	2,0
Амикацин } Канамицин } Стрептомицин }	15,0	12,0	7,5	4,0	7,5	4,0	3,0
Нетилмицин	6,5	5,0	4,0	2,0	3,0	2,5	2,0

\* ПН – почечная недостаточность, \*\* КК – клиренс креатинина.

приводим адаптированный для нашей страны вариант этих формул:

#### для мужчин

$$КК = \frac{[140 - \text{возраст (лет)}] \times \text{масса тела (кг)}}{\text{Креатинин сыворотки (мкмоль/л)} \times 0,8};$$

#### для женщин

$$КК = \frac{[140 - \text{возраст (лет)}] \times \text{масса тела (кг)}}{\text{Креатинин сыворотки (мкмоль/л)} \times 0,8} \times 0,85.$$

Приведенные формулы применимы для пациентов с нормальной или сниженной массой тела. У пациентов с ожирением КК рассчитывается по тем же формулам, но вместо фактической используется должная масса тела. В повседневной

клинической практике во многих случаях для ориентировочной оценки уровня КК можно использовать данные, представленные в табл. 1.

В педиатрической практике для расчета КК используется другая формула – формула Шварца (Schwarz) [6]:

#### для детей

$$КК = \frac{\text{Длина тела (см)}}{\text{Креатинин сыворотки (мкмоль/л)} \times 11,3} \times k,$$

где  $k$  – возрастной коэффициент пересчета:

- 0,33 – недоношенные новорожденные в возрасте до 2 лет;
- 0,45 – доношенные новорожденные в возрасте до 2 лет;

- 0,55 – дети в возрасте 2–14 лет;
- 0,55 – девочки старше 14 лет;
- 0,70 – мальчики старше 14 лет.

Как известно, всем пациентам при назначении аминогликозидных антибиотиков (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин), обладающих потенциальным ото- и нефротоксическим действием, желательным проводить мониторинг сывороточной концентрации данных препаратов. Поэтому на изменение дозирования и режима введения аминогликозидов у пациентов с почечной недостаточностью необ-

Таблица 3. Дозирование антибиотиков у пациентов с почечной недостаточностью [2]

Препарат	Разовая доза, г	Интервал дозирования, ч			
		Клиренс креатинина, мл/мин			
		>80	80–50	50–10	<10
1	2	3	4	5	6
<b>Пенициллины</b>					
Азлоциллин	2,0–4,0	4–6	4–6	8	12
Амоксициллин	0,25–0,5	8	8	8–12	12–24
Амоксициллин/ клавуланат	0,25–0,5	8	8	12	12–24
Ампициллин	0,5–2,0	4–6	4–6	8	12
Ампициллин/ суль- бактам	0,75–3,0	6–8	6–8	8–12	24
Бензилпенициллин	1–4 млн ЕД	4–6	4–6	4–6	4–6 (0,5–2,0 млн ЕД)
Бензилпенициллин/ новокаиновая соль	0,6–1,2 млн ЕД	12	12	12	12
Мезлоциллин	3,0–4,0	4–6	4–6	8	8 (2,0 г)
Оксациллин	0,5–2,0	4–6	4–6	4–6	4–6
Пиперациллин	3,0–4,0	4–6	4–6	8	12
Пиперациллин/ тазобактам	2,5–4,5	6–8	6–8	8	8–12
Тикарциллин/ клавуланат	3,2–5,2	6–8	6–8	8–12 (3,2 г)	12 (1,6 г)
Феноксиметил- пенициллин	0,25–0,5	6	6	6	6
<b>Пероральные цефалоспорины</b>					
Цефадроксил	0,5–1,0	12–24	12–24	12–24 (0,5 г)	36 (0,5 г)
Цефаклор	0,25–0,5	8	8	8	8
Цефалексин	0,25–1,0	6	6	8–12	24–48
Цефиксим	0,4	24	24	24 (0,3 г)	48
Цефподоксим проксетил	0,1–0,4	12	12	24	24
Цефуроским аксетил	0,125–0,5	12	12	12	24 (0,25 г)
<b>Парентеральные цефалоспорины</b>					
Цефазолин	0,5–2,0	8	8	8–12 (0,5–1,0 г)	12–24 (0,5–1,0 г)
Цефамандол	0,5–2,0	4–8	6	8	12 (0,5–1,0 г)
Цефепим	1,0–2,0	12	12	24	48
Цефокситин	1,0–2,0	6–8	8–12	12–24	12–48 (0,5–1,0 г)
Цефотаксим	0,5–2,0	8–12	8–12	12–24	24
Цефтазидим	1,0–2,0	8–12	8–12	12–24	24–48
Цефтизоксим	1,0–3,0	6–8	8 (0,5–1,5 г)	12 (0,25–1,0 г)	24 (0,5 г)
Цефтриаксон	0,5–2,0	24	24	24	24
Цефуроским	0,75–1,5	8	8	8–12	24 (0,75 г)
<b>Монобактамы</b>					
Азтреонам	1,0–2,0	6	8–12	12–24	24
<b>Карбапенемы</b>					
Имипенем	0,5–1,0	6–8	6–8 (0,5 г)	8–12 (0,5 г)	12 (0,5 г)
Меропенем	0,5–1,0	8	8	12	24



Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
<b>Тетрациклины</b>					
Доксициклин	0,1	12	12	12	12
Миноциклин	0,1	12	12	12	12
Окситетрациклин	0,25–0,5	6	6	Используется доксициклин	
Тетрациклин	0,25–0,5	6	6		
<b>Макролиды</b>					
Азитромицин*	0,5	Без изменений			
Кларитромицин	0,25–0,5	12	12	12-24	24
Рокситромицин	0,15	12	12	12	12
Эритромицин:					
основание	0,25–0,5	6	6	6	6
стеарат	0,25–0,5	6	6	6	6
этилсукцинат	0,4	6	6	6	6
лактобионат	0,5–1,0	6	6	6	6
<b>Линкосамиды</b>					
Клиндамицин	0,15–0,3	6	6	6	6
<b>Фторхинолоны</b>					
Левифлоксацин внутрь	0,25–0,5	24	24	24 (0,25 г)	24 (0,125 г)
Левифлоксацин внутривенно	0,5	24	24	24 (0,25 г)	24 (0,125 г)
Ломефлоксацин	0,4	24	24	24 (0,2)	–
Норфлоксацин	0,4	12	12	24	24
Офлоксацин внутрь	0,2–0,4	12	12	24	24 (0,1–0,2 г)
Офлоксацин внутривенно	0,2–0,4	12	12	24	24 (0,1–0,2 г)
Пефлоксацин	0,8				
Ципрофлоксацин внутрь	0,25–0,75	12	12	12 (0,25 г)	24
Ципрофлоксацин внутривенно	0,2–0,4	12	12	12 (0,25 г)	24
<b>Другие антибиотики</b>					
Ванкомицин	15 мг/кг	12	Дозируется по формуле		
Ко-тримоксазол**	2–5 мг/кг	6-12	18	24	Не применяют
Метронидазол	0,25–0,5	8	8	8	8
Тейкопланин	0,4	24	48	48	72
Фузидиевая кислота	0,5–1,0	8	8	8	8
Хлорамфеникол	0,25–0,75	6	6	6	6
<b>Противогрибковые препараты</b>					
Амфотерицин В	0,03–0,07	24	24	24	24-36
Итраконазол	0,2–0,6	24	24	24	24
Кетоконазол	0,2	12	12	12	12
Миконазол	0,6–0,8	12	12	12	12
Флуконазол	0,2–0,4	24	24	24 (0,2 г)	48 (0,2 г)
Флуцитозин	2,5	6	6	24 (2,5 г)	48 (2,0 г)

1	2	3	4	5	6
<b>Противовирусные препараты</b>					
Ремантадин	0,1	12	12	12	24 (0,1)
Ацикловир	5–10 мг/кг	8	8	12 (5–7,5 мг/кг)	24 (5–7,5 мг/кг)
Валацикловир	1,0	8	8	12–24	24 (0,5 г)
Ганцикловир	5 мг/кг	12	12–24	24 (3 мг/кг)	24 (1,5 мг/кг)
Зидовудин	0,2	8	8	8	12 (0,1 г)
Индинавир	0,8	8		Нет данных	
Ламивудин	0,15	12	12	24 (0,1–0,15 г)	24 (0,025–0,05 г)
Невирапин	0,2–0,4	24		Нет данных	
Нельфинавир	0,75	8		«	
Ритонавир	0,6	12		«	
Сангвинавир	0,6	8		«	
Ставудин	0,03–0,04	12	12	12 (0,015–0,02 г)	24 (0,015–0,02 г)
Фамцикловир	0,5	8	8	12–48 (0,25–0,5 г)	48 (0,25 г)
Фоскарнет	60 мг/кг	8	8–12	12 (30 мг/кг)	24 (30 мг/кг)
Цидофовир	5 мг/кг	7 дней	7 дней	7 дней (0,5–2,0 мг/кг)	7 дней (0,5 мг/кг)

\* Азитромицин назначается обычно трехдневным курсом по 500 мг 1 раз в сутки.

\*\* Ко-тримоксазол дозируется по триметоприму.

Таблица 4. Дозирование антибиотиков при диализе [2]

Препарат	Доза после гемодиализа, г	Доза во время перитонеального диализа, г	Интервал дозирования во время перитонеального диализа, ч
1	2	3	4
<b>Пенициллины</b>			
Азлоциллин	2,0–4,0	2,0–4,0	–
Амоксициллин	0,25–0,5	0,25	12
Амоксициллин/клавуланат	0,25	0,25	12
Ампициллин	0,5–2,0	0,25–0,5	12
Ампициллин/сульбактам	3,0	–	–
Бензилпенициллин	0,5 млн ЕД	0,5 млн ЕД	6
Мезлоциллин	2,0–3,0	3,0	12
Оксациллин	0,5–2,0	0,5–2,0	–
Пиперациллин	1,0	3,0	8
Пиперациллин/тазобактам	2,5	2,5	8
Тикарциллин/клавуланат	3,2	3,2	12
Феноксиметилпенициллин	0,25	–	–
<b>Оральные цефалоспорины</b>			
Цефаклор	0,25–0,5	–	–
Цефадроксил	0,5–1,0	–	–
Цефалексин	0,25–1,0	–	–
Цефиксим		Не применяется	
Цефподоксим-проксетил	0,1–0,4	–	–

Продолжение табл. 4

1	2	3	4
Цефуроксим-аксетил	0,25–0,5	–	–
<b>Парентеральные цефалоспорины</b>			
Цефамандол	0,5–1,0	–	–
Цефазолин	0,5–1,0	0,5	12
Цефепим	1,0–2,0	1,0–2,0	48
Цефотаксим	0,5–2,0	–	–
Цефокситин	1,0–2,0	–	–
Цефтазидим	1,0	0,5	24
Цефтизоксим	1,0–2,0	3,0	48
Цефтриаксон	0,5–2,0	0,5–2,0	24
Цефуроксим	0,75	–	–
<b>Монобактамы</b>			
Азтреонам	1,0	1,0	24
<b>Карбапенемы</b>			
Имипенем	1,0	–	–
Меропенем	1,0	–	–
<b>Аминогликозиды, мг/кг</b>			
Амикацин	2,5–75	2,5	24
Гентамицин	1,0–1,7	1 мг на 2 л диализата	–
Нетилмицин	2,0	–	–
Стрептомицин	7,5	–	–
Тобрамицин	1,0	1 мг на 2 л диализата	–
<b>Тетрациклины</b>			
Доксициклин	0,1	0,1	–
Миноциклин	0,1	0,1	0,1
<b>Макролиды</b>			
Азитромицин	0,5	0,5	–
Рокситромицин	0,15	0,15	–
Эритромицин:			
основание	0,25–0,5	0,25–0,5	–
стеарат	0,25–0,5	0,25–0,5	–
этилсукцинат	0,4	0,4	–
лактобионат	0,5–1,0	0,5–1,0	–
<b>Линкосамиды</b>			
Клиндамицин	0,15–0,3	0,15–0,3	–
<b>Фторхинолоны</b>			
Левифлоксацин внутрь	0,125	0,125	24
Левифлоксацин внутривенно	0,125	0,125	24
Офлоксацин внутрь	0,1	0,1	24
Офлоксацин внутривенно	0,1	0,1	24
Ципрофлоксацин внутрь	0,25	0,5	6
Ципрофлоксацин внутривенно	0,20	50 мг на 1л диализата	6
<b>Другие антибиотики</b>			
Ванкомицин	1,0 в неделю	0,5–1,0 в неделю	–

1	2	3	4
Тейкопланин	0,8, а затем 0,4 в неделю	20 мг на 1л диализата	–
Ко-тримоксазол	2–5 мг/кг	2–5 мг/кг	48
Метронидазол	0,25–0,5	0,25–0,5	–
Хлорамфеникол	0,25–0,75	0,25–0,75	–
<b>Противогрибковые препараты</b>			
Амфотерицин В	0,03–0,07	–	–
Интраконазол	0,2–0,6	0,2–0,6	–
Кетоконазол	0,2	0,2	–
Миконазол	0,6–0,8	0,6–0,8	–
Флуконазол	0,2	–	–
Флуцитозин	2,5	–	–
<b>Противовирусные препараты</b>			
Ацикловир	5–10 мг/кг	–	–
Зидовудин	0,1	0,1	12

ходимо обратить особое внимание. Следует отметить, что в большинстве случаев аминогликозиды рекомендуется вводить 1 раз в сутки (табл. 2).

Так как различные препараты могут иметь различные пути элиминации, то не представляется возможным создать единые правила дозирования антибиотиков при почечной недостаточности. Так, например, ко-тримоксазол не следует использовать при тяжелой почечной недостаточности (КК <15 мл/мин), при КК >15 мл/мин назначается  $1/2$  суточной дозы; фармакокинетические параметры офлоксацина и левофлоксацина значительно изменя-

ются при нарушенной функции почек (период полувыведения увеличивается в 4–5 раз), в то время как грепафлоксацин выделяется преимущественно через желудочно-кишечный тракт и режим его дозирования у пациентов с почечной недостаточностью не изменяется. Рекомендации по дозированию антибиотиков в зависимости от функции почек приведены в табл. 3.

#### **Дозирование антибиотиков при гемодиализе и перитонеальном диализе**

При антибактериальной терапии у пациентов, находящихся на гемо- или перитонеальном диа-

лизе, предпочтение следует отдавать препаратам с низкой способностью к кумуляции. Так как большинство антибиотиков выводится из организма при диализе, то, как правило, их следует назначать в конце данной процедуры (не удаляются при диализе клиндамицин, фузидиевая кислота, ванкомицин).

Необходимо обращать внимание на то, что при диализе в редких случаях антибиотики могут частично возвращаться обратно в плазму, что зависит от свойств диализующих мембран. Рекомендации по дозированию антибиотиков при проведении диализа приведены в табл. 4.

#### **Литература**

1. Amsden G.W., Schentag J.J. Tables of antimicrobial agent pharmacology. In: Mandell G.L., Bennet J.E., Dolin R., eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000. p.566-89.
2. Kampf D. Dosierungstabellen bei Niereninsuffizienz. In: Heizmann, W.R., Trautmann, M., Marre, R.,

- eds. Antiinfektiose Chemotherapie. Stuttgart: WVG;1996. p.443-53.
3. Gilbert D.N., Moellering R.C., Sande M.A. Dosage of antimicrobial drugs in adult patients with renal impairment. In: The Sanford Guide to Antimicrobial Chemotherapy. 28th ed. Vienna: Antimicrobial Therapy Inc.; 1999. p.117-21.
4. Bartlett J.G. In: Bartlett J.C., editor Pocket Book of Infectious Disease Therapy. Baltimore: Williams &

- Wilkins; 1997. p.60-77.
5. Cockcroft D.W., Gault M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nefron 1976;16:31-41.
6. Schwartz G.J., Haycock G.B., Edalman C.M., Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. Pediatrics 1976;58:259-63.

УДК 579.843.94.083.18

## Выделение, идентификация и определение чувствительности к антибиотикам *Haemophilus influenzae*\*

В методических рекомендациях приведены общие сведения об одном из основных возбудителей внебольничных бактериальных инфекций – *Haemophilus influenzae* (гемофильной палочке). Подробно обсуждаются забор клиниче-

ского материала, селективные и неселективные питательные среды для выделения, морфологические и фенотипические подходы к идентификации. Рассмотрены преимущества и недостатки различных методов определения чувствительности

*Haemophilus influenzae* к современным антимикробным препаратам, приведены критерии интерпретации полученных результатов на основе международных рекомендаций (NCCLS). Для врачей-микробиологов, эпидемиологов, лаборантов.

### Isolation, identification and antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*\*

These guidelines are focused on the one of the most frequent bacterial pathogen causing community-acquired infections – *Haemophilus influenzae*. Collection of clinical specimens, selective and non-selective

media for isolation, morphological and phenotypic approaches to identification are described in details. Advantages and disadvantages of different susceptibility testing methods are highlighted. Criteria for interpretation of

results based on international guidelines (NCCLS) are presented. These guidelines are designed for microbiologists, epidemiologists, and laboratory assistants.

### Род *Haemophilus*

Род *Haemophilus* относится к семейству *Pasteurellaceae*, которое также включает роды *Pasteurella* и *Actinobacillus*. Гемофилы представляют собой мелкие (1-3 мкм) полиморфные неподвижные неспорообразующие грам(-) палочки. Они являются факультативными анаэробами. Их культивирование требует наличия в питательных средах X и/или V факторов роста.

X фактор представляет собой группу термостабильных тетра-

пиррольных соединений, входящих в состав железосодержащих пигментов (например, гемин, гематин). Виды, нуждающиеся в X факторе, не способны синтезировать протопорфирин из δ-аминолевулиновой кислоты, что используется в качестве одного из идентификационных тестов.

Большинство видов гемофил также нуждается в термолабильном V факторе – *никотинамидадениндинуклеотиде* (НАД, кофермент I) или *никотинамидадениндинуклеотидфосфа-*

*те* (НАДФ, кофермент II), который участвует в окислительно-восстановительных реакциях.

X и V факторы присутствуют в крови (отсюда название рода *Haemophilus* – “любящие кровь”). Однако в нативной бараньей и человеческой крови находятся ферменты (НАДазы), разрушающие V фактор. Поэтому V-зависимые виды гемофил плохо или совсем не растут на *кровяном агаре* (КА), приготовленном на основе бараньей или человеческой крови.

Авторский коллектив:

Т.М. Богданович, О.У. Стецюк, О.И. Кречикова (*НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии*), Л.Г. Боронина (*Уральская государственная медицинская академия*), Л.К. Катосова (*Научный центр здоровья детей РАМН*), М.Е. Фаустова (*Институт пульмонологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова*).

Под редакцией Л.С. Страчунского (*НИИ антимикробной терапии Смоленской государственной медицинской академии*)

\*Рекомендованы Межрегиональной ассоциацией по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), Научно-исследовательским институтом антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии.

Таблица 1. Виды рода *Haemophilus*, выделенные у человека и животных

Выделенные виды	
у человека	у животных
<i>H. influenzae</i>	<i>H. parasuis</i> (свиньи)
<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. paragallinarum</i> (домашние птицы)
<i>H. haemolyticus</i>	<i>H. paracuniculus</i> (кролики)
<i>H. parahaemolyticus</i>	<i>H. haemoglobinophilus</i> (собаки)
<i>H. aphrophilus</i>	<i>H. felis</i> (кошки)
<i>H. paraphrophilus</i>	
<i>H. paraphrohaemolyticus</i>	
<i>H. segnis</i>	
<i>H. ducreyi</i>	

Потребность бактерий в X и V факторах является важным критерием для внутривидовой идентификации *Haemophilus* spp. К настоящему времени известно 9 видов гемофил, вызывающих инфекции у человека (табл. 1) [1].

Основным возбудителем заболеваний у человека является *H. influenzae* – гемофильная палочка. Некоторые штаммы *H. influenzae* имеют полисахаридную капсулу и могут быть подразделены на 6 серовариантов в зависимости от антигенных свойств капсулы: a, b, c, d, e, f [2].

Наличие капсулы имеет большое клиническое значение, так как она является основным фактором вирулентности. Большинство инвазивных инфекций вызывается штаммами *H. influenzae* типа b (Hib). Капсула Hib состоит из полирибозилрибитолфосфата (ПРФ), то есть содержит в качестве мономера пентозу (рибозу) в отличие от других типов, содержащих гексозу, что, вероятно, и определяет более высокую вирулентность. Бескапсульные штаммы обозначаются как нетипируемые.

#### Клиническое значение и эпидемиология инфекций, вызываемых *Haemophilus influenzae*

*H. influenzae* впервые была идентифицирована как патоген

Р. Кохом (R. Koch) в 1883 г., который описывал грамотрицательные мелкие палочки в гное от больных конъюнктивитом. В 1892 г. Р. Пфейффер (R. Pfeiffer) выделил *H. influenzae* в чистых культурах из мокроты больных гриппом (influenza). Несмотря на то, что позднее была установлена вирусная этиология гриппа, за бактериями сохранилось первоначальное видовое название.

*H. influenzae* является патогеном исключительно человека. Инфицирование происходит воздушно-капельным путем или при контакте с контаминированным материалом. Гемофильные палочки, преимущественно нетипируемые штаммы, часто входят в состав нормальной микрофлоры слизистых оболочек верхних дыхательных путей (ВДП) у здоровых взрослых и детей.

Частота назофарингеального носительства у взрослых варьирует в широких пределах, достигая в некоторых случаях 75% [3]. В США до внедрения конъюгированной вакцины штаммы Hib обнаруживались в носоглотке 3–5% детей. В России частота носительства Hib у детей составляет не более 5%, а нетипируемые формы колонизируют ротоглотку здоровых детей с частотой 35–78% в зависимости от возраста (Катосова Л.К.). Длительное изучение носительства у взрос-

лых здоровых жителей г. Санкт-Петербурга показало, что частота носительства не превышала 10%, увеличивалась только в периоды эпидемий гриппа до 30–40% (Фаустова М.Е.). Нетипируемые штаммы *H. influenzae* часто колонизируют нижние дыхательные пути (НДП) у пациентов, страдающих хроническими obstructивными заболеваниями легких и муковисцидозом.

Колонизация слизистых оболочек нетипируемыми штаммами представляет динамический процесс, в котором “новые” штаммы периодически замещают “старые” [4]. Дети, у которых обнаруживаются нетипируемые штаммы *H. influenzae* на первом году жизни, имеют более высокий риск развития острого среднего отита. Существует прямая связь между колонизацией нетипируемыми штаммами и числом эпизодов среднего отита [5].

*H. influenzae* вызывают большое количество различных инфекций, в том числе угрожающих жизни пациентов. В целом все инфекции, обусловленные гемофильной палочкой, можно подразделить на 2 типа: инвазивные и неинвазивные (табл. 2) [3].

Неинвазивные инфекции возникают в процессе распространения микроорганизмов по слизистой оболочке дыхательных путей. Острый синусит, острый средний отит и обострение хронического бронхита, как правило, являются осложнениями вирусных инфекций, которые снижают местный иммунитет и нарушают мукоцилиарный клиренс.

Большинство неинвазивных инфекций вызывается нетипируемыми штаммами, для которых наличие протеина P2 наружной мембраны является основным фактором вирулентности. В патогенезе пневмонии важную роль играют протеаза, разрушающая IgA1, и цилиотоксин [3].

Таблица 2. Инфекционные болезни, вызываемые *H. influenzae*

Инфекции	Возрастная группа	Штамм
Инвазивные:	90% – дети до 4 лет;	90% – тип b
менингит	10% – дети старшего возраста и взрослые	10% – нетипируемые
эпиглоттит		1% – типы e и f
пневмония		
септический артрит		
остеомиелит		
целлюлит		
бактериемия		
Сепсис	Новорожденные, роженицы	> 90% – нетипируемые
Неинвазивные:	Дети и взрослые	>90% – нетипируемые
средний отит		
синусит		
конъюнктивит		
обострение хронического бронхита		

Инвазивные инфекции, особенно менингит и эпиглоттит, преимущественно вызываются штаммами Nib и имеют гематогенное происхождение. Капсула типа b, состоящая из ПРФ, является наиболее важным фактором вирулентности, так как защищает микроорганизм от фагоцитоза, опсонизации и комплементопосредованного лизиса. Низкая частота развития инвазивных инфекций у детей первых двух месяцев жизни обусловлена наличием материнских антител к ПРФ. С ростом популяции людей, обладающих антителами к ПРФ, уменьшается и частота инвазивных инфекций [6].

Для предотвращения тяжелых, угрожающих жизни инфекций, вызываемых штаммами Nib, разработаны конъюгированные вакцины, отличающиеся высокой безопасностью и иммуногенностью, в том числе у детей младше 18 мес.

В настоящее время конъюгированная Nib вакцина внесена в календарь прививок детей в США, Великобритании, Финляндии и других странах. [7]. Обсуждается возможность включения вакцинации против Nib в

расширенную программу иммунизации ВОЗ.

Учитывая высокую медико-социальную значимость инфекций, обусловленных *H. influenzae*, чрезвычайно важно обеспечить ее своевременную и качественную микробиологическую диагностику.

#### Клинический материал

Для подтверждения этиологии заболевания и определения чувствительности выделенного возбудителя к антимикробным препаратам обязательным является микробиологическое исследование.

В связи с тем, что гемофильная палочка вызывает широкий спектр инфекций, для микробиологического исследования может направляться различный клинический материал. Наибольшую диагностическую ценность представляют исследования стерильных в норме биологических жидкостей: крови, плевральной, перикардальной, синовиальной и спинномозговой жидкости (СМЖ).

Основным условием для доказательств этиологической роли *H. influenzae* в развитии ин-

фекции НДП является предупреждение контаминации клинического материала микрофлорой ВДП. Для этого желательно использовать методики, позволяющие избегать контакта с микрофлорой ВДП (бронхоальвеолярный лаваж, бронхоскопия с “защищенными” щетками).

Забор материала у пациентов с эпиглоттитом (мазок с надгортанника) имеет ограниченную диагностическую значимость и может представлять большую угрозу для жизни пациента (риск развития ларингоспазма). Поэтому это исследование должно проводиться только при наличии условий для оказания экстренной помощи по сохранению проходимости дыхательных путей.

Нецелесообразно микробиологическое исследование назофарингеальных мазков. Даже положительные культуры имеют сомнительную диагностическую ценность в связи с высокой частотой носительства гемофильной палочки здоровыми детьми и взрослыми.

В связи с тем, что гемофильная палочка отличается низкой жизнеспособностью во внешней среде, рекомендуется использовать транспортные среды и немедленно (не позднее 2 ч) доставлять материал в клиническую лабораторию.

#### Питательные среды и условия инкубации при первичном выделении *Haemophilus influenzae*

*H. influenzae* отличается высокой прихотливостью при культивировании на искусственных питательных средах. Обязательным условием для их роста является наличие в среде X и V факторов.

На КА, приготовленном на основе лошадиной или кроличьей крови, гемофильные палочки могут расти в виде мельчайших точечных колоний. Исключение со-

ставляет КА, содержащий нативные бараньи или человеческие эритроциты, в связи с присутствием в них ферментов, инактивирующих V фактор. Поэтому КА не подходит для выделения *H. influenzae*.

Для улучшения выделения *H. influenzae* из клинического материала рекомендуется использовать шоколадный агар или селективный агар для гемофил.

**Шоколадный агар** (см. также приложение 1.1.) готовится добавлением крови к обогащенной агаровой основе, имеющей температуру около 80°C, для того чтобы разрушить эритроциты и высвободить X и V факторы. При этом следует избегать чрезмерного и/или длительного нагревания для предупреждения инактивации термолабильного V фактора. Для улучшения ростовых свойств питательной среды рекомендуется в охлажденный до температуры 45–50°C шоколадный агар добавлять НАД до получения конечной концентрации 15 мкг/мл (см. приложение 4.1.).

Коммерческие готовые чашки с шоколадным агаром (bio-Merieux, BBL) обычно содержат смесь гемина (X фактор) и “коктейль” ростовых факторов, добавленных к основе – гонококковому агару [1, 8].

Гонококковый агар содержит пептон, кукурузный крахмал, моно- и диосновные фосфатные буферы, хлорид натрия и агар. Ростовые факторы включают НАД (V фактор), витамины (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>), цистеин, глутамин и глюкозу.

Ряд компаний предлагает готовые добавки, содержащие перечисленные ростовые факторы: PolyVitex (bioMerieux), IsoVitalex (BBL) и Supplement B (Difco Laboratories).

Недостатком шоколадного агара является невозможность наблюдать гемолитические свой-

ства гемофил, которые позволяют дифференцировать *H. haemolyticus* и *H. parahaemolyticus* от *H. influenzae* и *H. parainfluenzae*.

**Селективный агар для выделения бактерий рода *Haemophilus***. Для селективного выделения гемофил из клинического материала НДП могут быть использованы питательные среды, содержащие бацитрацин. Высокая концентрация этого антибиотика подавляет рост большинства других микроорганизмов, являющихся представителями микрофлоры дыхательных путей (стафилококков, микрококков и стрептококков), что позволяет получить рост гемофильной палочки из сильно контаминированного клинического материала. Помимо готовых коммерческих сред, содержащих антибиотик, в клинических лабораториях возможно приготовление и использование шоколадного агара с бацитрацином в концентрации 300 мкг/мл [1, 8].

Вместо содержащих антибиотик сред при выделении гемофильной палочки из контаминированного материала (например, мокроты) могут быть использованы коммерческие диски с бацитрацином (10 ЕД). Природно устойчивые к бацитрацину гемофилы будут расти вокруг диска.

Предложена селективная среда для выделения и дифференцирования *H. influenzae* и *H. parainfluenzae* (Taylor D.C. и др.). Она состоит из гемин- и НАД-обогащенного сердечно-мозгового агара, сахарозы (10 мг/мл), индикатора – фенолового красного (100 мкг/мл) и бацитрацина (300 мкг/мл). На этой среде колонии *H. parainfluenzae* имеют желтую окраску в связи с их способностью продуцировать кислоту из сахарозы, а колонии *H. influenzae* – бесцветные, так как не ферментируют сахарозу. Недостаток данной среды состоит в

невозможности наблюдать гемолитические свойства гемофил.

**Условия инкубации *H. influenzae***. Оптимальными условиями инкубации *H. influenzae* являются влажная атмосфера с повышенным содержанием CO<sub>2</sub> (5–10%) и температура 35–37°C. Подобные условия могут быть созданы в CO<sub>2</sub>-термостате или при инкубации чашек в эксикаторе с зажженной свечой. В результате горения свечи уменьшается концентрация кислорода и повышается уровень CO<sub>2</sub>, достигая 3%.

### **Выделение *Haemophilus influenzae* из клинического материала**

**Окраска клинического материала по Граму и метиленовым синим.** Предварительный диагноз инфекции, вызванной *H. influenzae*, может быть сделан на основе исследования мазка клинического материала, окрашенного по Граму и/или метиленовым синим.

При окраске по Граму бактерии рода *Haemophilus* выглядят как мелкие, бледно окрашенные грам(–) палочки, иногда формирующие тонкие филаменты. Небольшие размеры, клеточный полиморфизм и недостаточное прокрашивание сафранином могут существенно затруднять обнаружение гемофильной палочки. Поэтому некоторые авторы предлагают наряду с окраской по Граму проводить окраску метиленовым синим. В этом случае микроорганизмы имеют синий цвет на серо-голубом фоне.

Отрицательные результаты микроскопии не исключают возможности гемофильной инфекции, так как в клиническом материале может присутствовать недостаточное количество микроорганизмов (разрешающая способность световой микроскопии составляет 10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> бак-



териальных клеток в 1 мл). Поэтому обязательно культуральное бактериологическое исследование.

**Обнаружение капсульного антигена Н1b.** Для быстрой диагностики инфекций, вызванных *H. influenzae* типа b, разработаны иммунологические методики обнаружения капсульного антигена в СМЖ, крови, плевральной жидкости и моче: *латекс-агглютинация* (ЛА), *коагглютинация со стафилококковым протеином А* (КОА), *встречный иммуноэлектрофорез* (ВИЭФ) и *иммуферментный анализ* (ИФА) [1, 8].

Наибольшее распространение получили ЛА и КОА с образцами СМЖ. Антитела (IgG) против капсульного антигена Н1b наносят на частицы латекса (ЛА) или на стафилококковые клетки (КОА) в качестве “носителя”. При взаимодействии антигена, содержащегося в клиническом материале, со специфическими антителами менее чем через 10 мин образуются видимые хлопья.

Коммерческие ЛА наборы, доступные в нашей стране, включают: Slidex Meningite *H. influenzae* b и Slidex meningite-Kit 5 (bioMerieux), Directigen *H. influenzae* type b Test Kit и Directigen Meningitis Combo Test Kit (BBL) и Pastorex (Meningitis (Sanofi Diagnostics Pasteur).

Тесты проводятся в соответствии с рекомендациями изготовителей с обязательным использованием положительных и отрицательных контролей. Необходимо помнить, что тесты могут быть ложноположительными, если ребенок был недавно привит Н1b вакциной (в течение 21 дня после иммунизации). Кроме того, могут наблюдаться неспецифические ложноположительные результаты при некоторых заболеваниях, не связанных с гемофильной палочкой.

Разрабатываются другие экс-

пресс-тесты для обнаружения *H. influenzae* (как типа b, так и нетипируемых) в клиническом материале (с помощью моноклональных антител, конъюгированных с иммунопероксидазой, радиоактивно меченые ДНК-пробы и др.).

Однако ни одно из перечисленных исследований не может заменить культуральное исследование, которое остается “золотым стандартом” микробиологической диагностики.

**Исследование спинномозговой жидкости.** При поступлении образца СМЖ необходимо безотлагательно начать исследование или хранить материал в термостате при температуре 35–37°C или в крайнем случае при комнатной температуре не более 30 мин. Образцы СМЖ не должны помещаться в холодильник!

Длительное хранение образцов может привести к гибели бактерий и ложноотрицательным результатам (за исключением теста на определение антигенов!).

Для увеличения концентрации микроорганизмов рекомендуется центрифугировать СМЖ (не менее 1 мл образца клинического материала 5–15 мин при 1500–3000 об/мин). Надосадочную жидкость следует асептически перенести в стерильную пробирку, после чего тщательно перемешать полученный осадок с помощью многократного пипетирования.

Исследование СМЖ включает следующие диагностические тесты:

1) окраску отцентрифугированного осадка по Граму и/или метиленовым синим. Для этого на поверхность стерильного предметного стекла наносится капля осадка, после высыхания которой добавляется вторая капля, что позволяет увеличить количество бактериальных клеток в мазке. Не следует распределять

осадок по большой поверхности, так как это уменьшает вероятность обнаружения микроорганизмов, находящихся в материале в небольшом количестве;

2) определение антигена Н1b в надосадочной жидкости. Некоторые авторы считают, что определение антигенов является более чувствительным тестом, чем культуральное исследование у пациентов, получавших антибиототики до забора СМЖ;

3) бактериологическое исследование осадка. Проводится посев нескольких капель осадка СМЖ на поверхность чашек с шоколадным и кровяным агаром, а также в двухфазную или жидкую среду. Чашки инкубируют при температуре 35–37°C в атмосфере с 5–10% CO<sub>2</sub>.

Другие биологические жидкости (синовиальная, перикардальная, плевральная) должны окрашиваться по Граму и исследоваться культурально.

**Исследование крови.** Образцы крови, помещенные во флаконы с двухфазной или жидкой средой, инкубируют в течение 18–24 ч при температуре 35–37°C. Из-за слабого роста гемофильной палочки в жидкой среде может отсутствовать выраженное помутнение среды. Поэтому рекомендуется проводить “слепое” субкультивирование или приготовление и окрашивание мазка через 6–12 ч после начала инкубации из флакона без видимого роста. Предпочтение отдается субкультивированию, так как разрешающая способность световой микроскопии (10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> КОЕ/мл) незначительно превосходит плотность, при которой становится видимым рост во флаконе (10<sup>6</sup>–10<sup>7</sup> КОЕ/мл).

Для субкультивирования асептически забирается несколько капель предварительно тщательно перемешанной среды и распределяется по поверхности

шоколадного агара. Чашки инкубируются при температуре 35–37°C и 5–10% CO<sub>2</sub> в течение 24–48 ч.

После промежуточного субкультивирования следует продолжить инкубирование флаконов. Через 24 ч инкубации независимо от отсутствия или наличия мутности во флаконе следует приготовить мазок.

Результаты микроскопии следует немедленно сообщать лечащему врачу. Если имеется видимое помутнение среды даже при отрицательном мазке или положительный мазок при отсутствии мутности, то следует субкультивировать материал на шоколадном агаре и КА.

**Исследование материалов, содержащих микробные ассоциации (мокрота, материал из среднего уха и пазух носа и т. д.).** Перед посевом полученного клинического материала рекомендуется проводить микроскопическое исследование окрашенных мазков. Это позволяет получить предварительные данные о возможных возбудителях, а также оценить качество материала (мокроты).

Оценка качества мокроты позволяет повысить эффективность микробиологического исследования и снизить расходы лаборатории. Критерием пригодности мокроты для бактериологического исследования является наличие более 25 сегментоядерных лейкоцитов и не более 10 эпителиальных клеток в поле зрения при просмотре не менее 20 полей зрения мазка, окрашенного по Граму (при увеличении × 100).

Для улучшения выделения гемофильной палочки рекомендуется использовать среды, содержащие бацитрацин (300 мкг/мл) или диски с бацитрацином (10 ЕД), или сапонинобацитрациновые диски.

## Идентификация *Haemophilus influenzae*

После инкубации в течение 24 ч колонии *H. influenzae* на шоколадном агаре могут иметь следующие формы:

- капсульные штаммы формируют слизистые, круглые, сочные, сероватого цвета, иррадирующие (дающие радужную окраску) в проходящем свете колонии диаметром до 2 мм. Штаммы с менее выраженной капсулой образуют полупрозрачные, круглые, гладкие, неиррадирующие колонии;

- неинкапсулированные штаммы образуют мелкие, непрозрачные, неиррадирующие колонии с неровными краями.

Для чистой культуры гемофильной палочки характерно наличие специфического “мышиного” запаха.

*H. influenzae* обладают цитохромоксидазной и каталазной активностью (см. приложения 2.1. и 2.2.) и нуждаются в X и V факторах, что является одним из основных качеств, отличающих их от других представителей рода гемофил.

Потребность *H. influenzae* в указанных факторах определяется с помощью полосок или дисков с X и V факторами (см. приложение 2.3.). При их отсутствии можно воспользоваться тестом с сапонином или определением способности к сателлитному росту (метод “кормушек”).

**Тест с сапонином** основан на способности сапонины лизировать эритроциты. Сапонин приводит к высвобождению находящихся в эритроцитах X и V факторов, что обеспечивает рост гемофильной палочки.

Диск с сапонином помещают на поверхность 5% КА, инокулированного испытуемой культурой (суспензией в изотоническом растворе хлорида натрия).

Результаты теста учитывают через 24–48 ч инкубации при температуре 35–37°C и 5–10% CO<sub>2</sub>.

Рост колоний вокруг дисков с сапонином и его отсутствие вне зоны гемолиза служит дифференциальным признаком принадлежности исследуемого микроорганизма к роду *Haemophilus*.

**Тест на способность к сателлитному росту (метод “кормушек”).** Принцип метода “кормушек” аналогичен описанному выше методу дисков с сапонином. Поверхность 5% КА инокулируют суспензией тестируемой культуры в изотоническом растворе хлорида натрия, после чего наносят две параллельные линии гемолитического штамма *S. aureus* (расстояние между линиями – 5–6 мм). После инкубации при температуре 35–37°C в атмосфере с повышенным (5–10%) содержанием CO<sub>2</sub> в течение 18–24 ч рост колоний (в виде валика) в зоне гемолиза, вызванного *S. aureus*, указывает на принадлежность исследуемого микроорганизма к *Haemophilus* spp.

**Определение β-галактозидазы.** Важным диагностическим тестом для идентификации *H. influenzae* является тест на наличие β-галактозидазной активности (см. приложение 2.4.). Гемофильная палочка не обладает этим ферментом. Таким образом, на основании данного теста она может быть дифференцирована от других видов гемофилов, нуждающихся в X и V факторах.

Зависимость гемофилов от факторов роста, а также другие свойства приведены в табл. 3.

**Биотипирование *H. influenzae*.** М. Килиан (M. Kilian), изучавший таксономию рода *Haemophilus*, предложил использовать ряд биохимических тестов для биотипирования *H. influenzae*. На основании тестов на продукцию индола, уреазную и орнитинде-

Таблица 3. Дифференциально-диагностические свойства рода *Haemophilus*

Вид	Потребность		Каталаза	Оксидаза	ONPG	Гемолиз*	Образование кислоты из			
	в X и V факторах	в CO <sub>2</sub>					гл	сх	лз	мн
<i>H. influenzae</i>	X, V	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>H. influenzae</i> биовар <i>aegypticus</i>	X, V	-	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>H. haemolyticus</i>	X, V	-	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>H. parainfluenzae</i>	V	-	v	+	+	-	+	+	-	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	V	-	+	+	v	+	+	+	-	-
<i>H. aphrophilus</i>	h	+	-	-	+	-	+	+	+	+
<i>H. paraphrophilus</i>	V	+	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>H. segnis</i>	V	-	v	-	v	-	w	w	-	-
<i>H. ducreyi</i>	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Примечание:** гл – глюкоза; сх – сахароза; лз – лактоза; мн – манноза; ONPG – тест на  $\beta$ -галактозидазу; h – для первичной изоляции нуждается в гемине; w – слабая реакция; v – признак варьрует.

\* На лошадиной крови

Таблица 4. Биотипирование *H. influenzae*

Биотип	Индол	Уреаза	ОДК*
<i>H. influenzae</i> I	+	+	+
<i>H. influenzae</i> II	+	+	-
<i>H. influenzae</i> III	-	+	-
<i>H. influenzae</i> IV	-	+	+
<i>H. influenzae</i> V	+	-	+
<i>H. influenzae</i> VI	-	-	+
<i>H. influenzae</i> VII	+	-	-
<i>H. influenzae</i> VIII	-	-	-

\* Орнитиндекарбоксилаза.

карбоксилазную активность выделяют 8 биотипов *H. influenzae* (табл. 4).

Биотипирование гемофильной палочки имеет лишь эпидемиологическое значение [1]. Показано, что различные биотипы имеют связь с определенными типами инфекций. Например, по данным ряда исследований, подавляющее количество менингитов вызываются биотипом I (93,1%), тогда как на биотипы II и IV приходится соответственно 4,6 и 2,3%. Большинство штаммов H<sub>ib</sub> принадлежит к биотипу I, а нетипируемые штаммы – к биотипам II и III.

В ряде исследований отмечена также ассоциация биотипов II и III с конъюнктивитом. Биотип IV чаще вызывает инфекции в акушерской и гинекологичес-

кой практике, перинатальные и неонатальные инфекционные заболевания.

**Тест на определение уреазы.** Методика определения уреазной активности описана в приложении 3.1. Приготовленную *ex tempore* смесь реактивов А и Б разливают в узкие пробирки по 0,1 мл и вносят несколько капель густой суспензии исследуемой культуры *H. influenzae* в питательном бульоне. Пробирки помещают в термостат при температуре 35–37°C. Предварительный учет возможен через 30 мин.

При положительной реакции среда приобретает малиново-красное окрашивание, при отрицательной – цвет не меняется. Учет отрицательной реакции возможен только после 24 ч инкубации.

**Тест на определение индолообразования.** Для определения способности бактерий образовывать индол (см. приложение 3.2.) необходимо использовать среды, содержащие триптофан. В пробирку с суточной культурой исследуемого штамма *H. influenzae*, суспензированного в питательном бульоне (шоколадный бульон), помещают индикаторную индольную тест-полоску, пропитанную реактивом, так чтобы она находилась над поверхностью суспензии. Инкубируют при температуре 35–37°C в течение 18–24 ч.

При положительном результате появляется розовое окрашивание тест-полоски.

**Тест на наличие орнитиндекарбоксилазы.** При определении орнитиндекарбоксилазы используются диски с орнитином (СИБ, bioMerieux, BBL). Диск помещают в пробирку с 0,3–0,5 мл физиологического раствора и добавляют несколько капель суточной бульонной культуры *H. influenzae*, после чего заливают стерильным вазелиновым маслом и инкубируют в течение 18–24 ч при температуре 35–37°C.

При положительном результате появляется синее или интенсивное зеленое окрашивание.

### Определение чувствительности *Haemophilus influenzae*

Выбор антибиотиков, которые следует использовать при тестировании *H. influenzae*, зависит от спектра активности, частоты приобретенной антибиотикорезистентности в регионе, локализации и степени тяжести течения инфекционного заболевания и набора антибактериальных препаратов в формуляре учреждения здравоохранения.

Потенциальной активностью в отношении *H. influenzae* обладают следующие антибиотики: аминопенициллины (ампициллин, амоксициллин), уреидопенициллины (пиперациллин), ингибиторозащищенные пенициллины (амоксициллин/клавуланат, ампициллин/сульбактам, пиперациллин/тазобактам, тикарциллин/клавуланат), цефалоспорины II (цефуроксим, цефаклор), III (цефтриаксон, цефотаксим, цефоперазон) и IV (цефепим, цефпиром) поколений, карбапенемы, макролиды (азитромицин, кларитромицин), тетрациклины (тетрациклин, доксициклин), фторхинолоны (ципрофлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин), рифампицин, хлорамфеникол, ко-тримоксазол.

Несмотря на то что пенициллин, аминогликозиды, эритромицин могут проявлять умеренную *in vitro* активность в отношении *H. influenzae*, терапия этими антибиотиками не может привести к микробиологической или клинической эффективности в ходе лечения.

Наиболее значимой с клинической точки зрения является проблема резистентности гемофильной палочки к аминопенициллинам за счет продукции  $\beta$ -лактамаз [9]. Такие микроорганизмы обычно чувствительны к

ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспорином, а для быстрого выявления продукции  $\beta$ -лактамаз достаточно провести тест с нитроцефином.

В последние годы описаны штаммы *H. influenzae*, устойчивость которых к ампициллину связана с изменением мишени действия  $\beta$ -лактамных антибиотиков (пенициллинсвязывающих белков) или снижением проницаемости наружной клеточной стенки [10]. Эти штаммы получили название *бета-лактамазонегативные ампициллинорезистентные* (БЛНАР) и считаются нечувствительными к ингибиторозащищенным пенициллинам и таким цефалоспорином, как цефаклор, цефутоксим, цефиксим, цефтибутен.

По данным зарубежных исследователей, БЛНАР штаммы *H. influenzae* встречаются очень редко (в среднем в 0,2% случаев) и не имеют существенного клинического значения.

В соответствии с международными рекомендациями для выявления ампициллинорезистентности у гемофильной палочки в рутинной лабораторной практике достаточно определения чувствительности к ампициллину диско-диффузионным методом и теста на продукцию  $\beta$ -лактамаз с нитроцефином.

Эти два теста позволяют подразделить штаммы на ампициллиночувствительные,  $\beta$ -лактамазопродуцирующие ампициллинорезистентные (чувствительные к ингибиторозащищенным пенициллинам и цефалоспорином II–IV поколений) и БЛНАР, которые следует расценивать как резистентные к ингибиторозащищенным пенициллинам и некоторым цефалоспорином [11]. Причем тестирование с диском, содержащим ингибиторозащищенные пенициллины, например амоксициллин/клавуланат, не по-

зволяет отличить БЛНАР от ампициллиночувствительных штаммов *H. influenzae*.

Определение чувствительности гемофильной палочки к макролидам (азитромицину, кларитромицину) представляет нерешенную проблему во всем мире, что связано с широким диапазоном получаемых значений и номодальным распределением штаммов в популяции. Поэтому подразделение штаммов на категории чувствительности по данным исследований *in vitro* всегда носит субъективный характер и значительно подвержено влиянию минимальных различий в методике и условиях тестирования [12, 13].

К настоящему времени не получено клинических штаммов *H. influenzae*, устойчивых к цефалоспорином III–IV поколений, карбапенемам и фторхинолоном.

Определение чувствительности гемофильной палочки к антимикробным препаратам представляет сложную задачу. В России основным агаром для определения чувствительности микроорганизмов является среда АГВ. Однако в “Методических указаниях по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков” Министерства здравоохранения СССР (1983) отсутствуют указания на современные антибиотики и не описаны методики определения чувствительности “привередливых” микроорганизмов, в частности *H. influenzae*.

Результаты проспективных сравнительных исследований показали, что для определения чувствительности штаммов гемофильной палочки **нельзя** использовать среду АГВ с добавками и шоколадный агар на основе АГВ.

В настоящее время большинство исследователей при определении чувствительности микро-

организмов к антибиотикам руководствуется стандартами Национального комитета по клиническому лабораторному стандартам США (National Committee on Clinical Laboratory Standards – NCCLS). Вследствие этого основные исследования чувствительности гемофильной палочки к антибиотикам проводятся в соответствии с этими рекомендациями [14, 15, 16].

Согласно рекомендациям NCCLS для определения чувствительности гемофильной палочки необходимо использовать среду НТМ (Haemophilus Test Medium – среда для тестирования гемофил), которая содержит все необходимые для гемофил факторы роста. НТМ представляет собой агар Мюллера–Хинтона с добавлением дрожжевого экстракта и факторов Х и V.

Среда НТМ выпускается компанией “Unipath” в виде НТМ-основы и добавок. Однако ее можно приготовить и в лаборатории на основе агара Мюллера–Хинтона (см. приложение 4.1.)

Учитывая относительно высокую стоимость и недоступность среды НТМ, при ее отсутствии **не следует** определять чувствительность *H. influenzae* на других средах в связи с высокой частотой ошибочных результатов.

**Определение чувствительности диско-диффузионным методом.** Процедура определения чувствительности гемофильной палочки к антибиотикам аналогична тестированию “непривередливых” микроорганизмов и имеет лишь несколько особенностей.

1. Для приготовления инокулюма суспендируют колонии суточной культуры *Haemophilus* spp., выросшей на чашке с шоколадным агаром, в подходящем питательном бульоне (например, бульоне Мюллера–Хинтона) или стерильном физиологическом растворе.

Плотность инокулюма должна соответствовать стандарту мутности 0,5 по МакФарланду ( $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ/мл). Стандарт изготавливают многие фирмы, выпускающие микробиологическую продукцию (bioMerieux, BBL, Remel Diagnostics), но он может быть приготовлен и в лаборатории (см. приложение 4.2.).

Инокуляцию чашек с НТМ агаром необходимо проводить в течение 15 мин после приготовления инокулюма. Для инокуляции используют стерильные ватные тампоны. Тампон погружают в пробирку с суспензией, отжимают избыток инокулюма о стенки пробирки и наносят на поверхность агара штрихами в 3 направлениях под углом  $60^\circ$ , не внося дополнительного количества суспензии.

2. Вследствие больших зон подавления роста гемофильной палочки вокруг дисков с антибиотиками на чашку диаметром 90–100 мм не следует помещать более 4 дисков с антибиотиками.

3. Инокулированные чашки инкубируют при температуре  $35^\circ\text{C}$  в атмосфере с повышенным содержанием  $\text{CO}_2$  (5–10%) в эксикаторе или  $\text{CO}_2$ -инкубаторе в течение 16–18 ч, после чего измеряют полученные зоны подавления роста.

Зона ингибирования роста измеряется с помощью линейки или каллипера. Причем необходимо измерять ее диаметр (не радиус!). Конечной точкой считается расстояние, в зоне которого нет роста микроорганизмов. По величине зоны задержки роста вокруг дисков интерпретируют полученные результаты.

4. Для интерпретации результатов определения чувствительности гемофильной палочки к антибиотикам используют специфические критерии, отличные от критериев интерпретации результатов определения чувствительности “непривередливых” микроорганизмов (табл. 5).

Контроль качества определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводят

**Таблица 5. Критерии интерпретации чувствительности гемофильной палочки диско-диффузионным методом на НТМ агаре (NCCLS, 1999)**

Антибиотик	Диаметр зоны подавления роста, мм		
	Резистентный	Умеренно резистентный	Чувствительный
Ампициллин (10 мкг)	≤8	19–21	≥2
Амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг)	≤9	–	≥0
Меропенем (10 мкг) <i>или</i>	–*	–*	≥0
Имипенем (10 мкг)	–*	–*	≥6
Триметоприм/сульфаметоксазол (1,25/23,75 мкг)	≤0	11–15	≥6
Цефотаксим (30 мкг) <i>или</i>	–	–	≥6
Цефтриаксон (30 мкг), <i>или</i>	–*	–*	≥6
Цефтазидим (30 мкг)	–*	–*	≥6
Хлорамфеникол (30 мкг)	≤5	26–28	≥9
Азитромицин (15 мкг) <i>или</i>	–*	–*	≥2
Кларитромицин (15 мкг)	≤0	11–12	≥3
Тетрациклин (30 мкг)	≤5	26–28	≥9
Ципрофлоксацин (5 мкг)	–*	–*	≥1

\* Резистентные штаммы не выделены.

путем тестирования контрольных штаммов. В качестве контрольных используют штаммы Американской коллекции типовых культур (АТСС), отличающиеся генетической стабильностью и хорошо изученными фенотипическими характеристиками.

Для контроля качества при определении чувствительности гемофил на НТМ агаре используются штаммы *H. influenzae* АТСС 49247 и *E. coli* АТСС 35218 (при тестировании ингибиторозащитных пенициллинов). Методика постановки и учета соответствует методике работы с испытуемым штаммом. Результаты оцениваются по критериям, изложенным в табл. 6.

Каждая серия чашек при постановке чувствительности должна проверяться на их пригодность для роста тестируемых микроорганизмов. Для этого используется контрольный штамм *H. influenzae* АТСС 10211, из суточной культуры которого готовят микробную взвесь, соответствующую по мутности 0,5 по МакФарланду. Из полученной микробной взвеси готовят серию последовательных разведений 1:10. Затем на приготовленные чашки со средой НТМ высевают по 0,1 мл взвеси -5, -6, -7 разведений. При хороших питательных свойствах агара должен отмечаться рост микроорганизмов из -6 и -7 разведений.

### **Определение минимальной подавляющей концентрации**

#### **Метод серийных разведений в бульоне**

##### **Макрометод**

Метод серийных разведений в бульоне (макрометод) позволяет определить МПК без значительных материальных затрат. Тестирование небольшого количества штаммов в рутинной практике целесообразно выполнять макрометодом.

### **Материалы:**

1) стерильный НТМ бульон; можно использовать готовый коммерческий НТМ бульон или приготовленный в лаборатории на основе стерильного бульона Мюллера–Хинтона со стабилизированным катионным составом (по ионам  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ) с добавлением тех же компонентов, что и в НТМ агаре;

2) субстанции антибиотиков с известной активностью;

3) стерильные пробирки размером 13×00 мм или 14×40 мм;

4) стерильные пипетки;

5) дозирующие пипетки со стерильными наконечниками;

6) стандарт мутности 0,5 по МакФарланду.

**Процедура.** Тестирование проводится в объеме 1 мл каждого разведения антибиотика с конечной концентрацией гемофильной палочки примерно  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл.

**Приготовление серийных разведений антибиотика.** Серийные разведения антибиотика готовятся из “стартового” раствора на НТМ бульоне (табл. 7), который затем разливается по 0,5 мл в каждую пробирку. В последующем при внесении тестируемой бульонной культуры *H. influenzae* концентрация антибиотика уменьшается в 2 раза. Количество пробирок определяется необходимым диапазоном разведений антибиотика и увеличивается на две для постановки “отрицательного контроля” и “контроля роста”.

Базовый раствор антибиотика готовится из навески химически чистой субстанции препарата путем растворения ее в рассчитанном количестве растворителя для получения концентрации, превышающей стартовую концентрацию антибиотика в 100 раз (например, 3200 мг/л для ампициллина).

### **Недопустимо использование**

### **лечебных препаратов вместо субстанций!**

Подробно методика приготовления базового раствора изложена в приложении 4.3. Стартовый раствор антибиотика приготавливается путем добавления 0,1 мл базового раствора антибиотика к 9,9 мл НТМ бульона, 0,5 мл которого переносят микропипеткой со стерильным наконечником в первую пробирку, содержащую 0,5 мл бульона. Тщательно перемешивают и новым стерильным наконечником переносят 0,5 мл раствора антибиотика в бульоне во вторую пробирку, содержащую первоначально 0,5 мл бульона.

Эту процедуру повторяют, пока не будет приготовлен весь необходимый ряд разведений. Из последней пробирки 0,5 мл бульона удаляют. Таким образом получается ряд пробирок с растворами антибиотиков в количестве 0,5 мл, концентрация которых отличается в соседних пробирках в 2 раза. Одновременно готовятся ряды серийных разведений антибиотика для тестирования контрольных штаммов гемофильной и кишечной палочек.

### **Приготовление инокулюма.**

Для приготовления инокулюма используют суточную культуру гемофильной палочки на шоколадном агаре. Колонии *H. influenzae* суспендируют в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида до мутности, эквивалентной 0,5 по стандарту МакФарланда.

Последующее разведение этой суспензии в 100 раз готовится на НТМ бульоне, после чего концентрация гемофильной палочки составит примерно  $10^6$  КОЕ/мл. По 0,5 мл инокулюма вносят в каждую пробирку, содержащую по 0,5 мл соответствующего разведения антибиотика, и в 2 пробирки с 0,5 мл НТМ бульона без антибиотика (“отри-

Таблица 6. Допустимые диапазоны значений диаметров зон подавления роста для контрольных штаммов *H. influenzae* ATCC 49247 и *E. coli* ATCC 35218 (NCCLS, 1999)

Антибиотик	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>E. coli</i> ATCC 35218
Ампициллин (10 мкг)	13–21	–
Амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг)	15–23	18–22
Триметоприм/сульфаметоксазол (1,25/23,75 мкг)	24–32	–
Меропенем (10 мкг)	20–28	–
Имипенем (10 мкг)	21–29	–
Цефотаксим (30 мкг)	31–39	–
Цефтриаксон (30 мкг)	31–39	–
Хлорамфеникол (30 мкг)	31–40	–
Азитромицин (15 мкг)	13–21	–
Кларитромицин (15 мкг)	11–17	–
Тетрациклин (30 мкг)	14–22	–
Ципрофлоксацин (5 мкг)	34–42	–

Таблица 7. Тестируемые антибиотики и диапазон разведений

Антибиотик	Диапазон разведений, мг/л	Стартовая концентрация, мг/л
Ампициллин	0,016–16	32
Амоксициллин/клавуланат	0,032/0,016–32/16	64/32
Триметоприм/сульфаметоксазол	0,032/0,608–32/608	64/1216
Меропенем <i>или</i>	0,004–4	8
Имипенем	0,016–16	32
Цефтриаксон <i>или</i> цефотаксим, <i>или</i> цефтазидим	0,008–8	16
Хлорамфеникол	0,064–64	128
Азитромицин <i>или</i>	0,032–32	64
Кларитромицин	0,064–64	128
Тетрациклин	0,064–64	128
Ципрофлоксацин	0,004–4	8

цательный контроль” и “контроль роста”).

Конечная концентрация гемофильной палочки в каждой пробирке достигнет необходимой – примерно  $5 \times 10^5$  КОЕ/мл. Инокулюм должен быть внесен в пробирку с разведениями антибиотика не позднее 30 мин с момента его приготовления.

**Инкубация.** Пробирки с тестируемыми штаммами, кроме пробирки “отрицательный контроль”, инкубируются в обычной атмосфере при температуре 35°C 20–24 ч. Пробирка “отрицательный контроль” помещается в хо-

лодильник (температура 4°C), где хранится до учета результатов.

**Учет результатов.** Для определения наличия роста гемофильной палочки пробирки с посевами просматриваются в проходящем свете. Рост культуры в присутствии антибиотика сравнивается с референтной пробиркой (“отрицательный контроль”), содержащей исходный инокулюм и хранившейся в холодильнике. МПК определяется по наименьшей концентрации антибиотика, которая подавляет видимый рост *H. influenzae*.

### Микрометод

В случае необходимости определения МПК у 8 и более штаммов целесообразно использовать микрометод. Он позволяет тестировать одновременно большое количество штаммов к нескольким антибиотикам.

Тестирование проводится в объеме 0,1 мл (0,05 мл НТМ бульона и 0,05 мл инокулюма), что позволяет значительно сократить количество расходного материала. Методика не имеет отличий от макрометода, за исключением объема, но требует дополнительного оснащения лаборатории многоканальными пипетками, микротитровальными плашками (с круглым или коническим дном) со стерильными крышками, специальным устройством с непрямой подсветкой для учета результатов.

Рост микрофлоры в присутствии антибиотика сравнивается с ростом культуры в ячейке без антибиотика.

Каждая партия тестируемых штаммов сопровождается внутренним контролем с использованием контрольных штаммов *H. influenzae* ATCC 49247 и *E. coli* ATCC 35218.

### Метод Е-тестов

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5×80 мм с нанесенным градиентом концентрации антибиотика (0,002–32, 0,016–256 или 0,063–1024 мг/л в зависимости от препарата). Метод основан на диффузии антибиотиков в агар, что создает градиент концентрации антибиотика в агаре. Зона задержки роста имеет форму эллипса, размеры которого увеличиваются от меньшей концентрации антибиотика на полоске к большей.

### Материалы:

1) НТМ агар, приготовленный в лаборатории, или коммер-

ческие готовые чашки с агаром;

2) полоски Е-тестов с антибиотиками;

3) стерильный бульон Мюллера–Хинтона;

4) стандартные стерильные тампоны;

5) стандарт мутности 0,5 по МакФарланду.

**Процедура** приготовления НТМ агара и нанесения культуры аналогична таковой при диско-диффузионном методе. Поверхность микробного газона должна быть сухой, для чего Е-тесты наносят не ранее, чем через 15 мин от момента нанесения инокулюма. Полоски Е-тестов помещаются на поверхность агара пластиковой поверхностью с отметками градиента концентраций кверху. На чашку диаметром 90 мм наносят не более 2 полосок. Посевы инкубируют в течение 20–24 ч при температуре 35°C в атмосфере с повышенным содержанием CO<sub>2</sub>.

**Учет результатов.** Результаты следует учитывать только при наличии сплошного плотного газона культуры. Если рост слабый, необходимо продлить инкубацию. В случае “разреженного” роста газона тестирование нужно повторить, проверив качество агара и инокулюма. Результаты учитываются в отраженном свете и/или под лупой, чтобы хорошо рассмотреть край роста. Учитывается зона **полного** подавления роста. Величина МПК определяется тем значением концентрации, на уровне которой эллипс пересекается со шкалой полоски.

**Интерпретация.** Метод Е-тестов определяет МПК исходя из непрерывного градиента концентраций, включая значения между двукратными разведениями. Для определения категории чувствительности полученные значения следует округлять до ближайших значений двукратных разведений. Например:

1) для чувствительных штаммов значения МПК ампициллина  $\leq$  мг/л; методом Е-тестов получена МПК 0,064 мг/мл, результат интерпретируется как чувствительный;

2) МПК умеренно резистентных штаммов – 2 мг/л; методом Е-тестов определена МПК 1,5 мг/л, результат интерпретируется как умеренно резистентный.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности к некоторым антибиотикам методом разведений и Е-тестов приведены в табл. 8.

**Контроль качества.** Используются штаммы *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766 (при тестировании карбапенемов) и *E. coli* ATCC 35218 (при тестировании ингибиторозащищенных пенициллинов). Методика постановки и учета соответствует методике работы с испытуемым штаммом. Результаты интерпретируются по приведенным ниже критериям (табл. 9).

#### **Тест на определение продукции $\beta$ -лактамаз**

$\beta$ -Лактамазы – ферменты, разрушающие  $\beta$ -лактамные анти-

биотики. Продукция  $\beta$ -лактамаз является основным механизмом устойчивости к аминопеницилинам и некоторым цефалоспорином у штаммов *H. influenzae*. Разработано несколько методов определения продукции  $\beta$ -лактамаз. Наиболее распространенный – хромогенный метод с использованием дисков с нитроцефином.

Принцип метода основан на том, что  $\beta$ -лактамазы гидролизуют аминокислотную связь в  $\beta$ -лактамном кольце нитроцефина, в результате чего происходит видимое невооруженным глазом изменение цвета.

#### **Материалы:**

- 1) диски с цефиназой (BBL);
- 2) стерильная дистиллированная вода;
- 3) стеклянные предметные стекла или чашки Петри;
- 4) стерильные пипетки;
- 5) стерильные деревянные палочки-апликаторы или петли.

#### **Процедура:**

- 1) поместить необходимое количество дисков на чистое предметное стекло или на чашку Петри;
- 2) смочить каждый диск 1 каплей стерильной дистиллированной воды;

Таблица 8. Критерии интерпретации чувствительности *H. influenzae* методом разведений и Е-тестов (NCCLS, 2000)

Антибиотик	МПК, мг/л		
	Резистентный	Умеренно резистентный	Чувствительный
Ампициллин	$\leq$	2	$\leq$
Амоксициллин/клавуланат	$\leq/2$	–	$\leq/1$
Триметоприм/сульфаметоксазол	$\leq$	1	$\leq/5$
Цефтриаксон <i>или</i> цефотаксим, <i>или</i> цефтазидим	–*	–*	$\leq$
Меропенем <i>или</i>	–*	–*	$\leq/5$
Имипенем	–*	–*	$\leq$
Хлорамфеникол	$\leq$	4	$\leq$
Азитромицин <i>или</i>	–	–*	$\leq$
Кларитромицин	$\leq 2$	16	$\leq$
Тетрациклин	$\leq$	4	$\leq$
Ципрофлоксацин	–*	–*	$\leq$

\* Резистентных штаммов не выделено.



Таблица 9. Допустимые диапазоны значений МПК для контрольных штаммов (NCCLS, 2000)

Антибиотик	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>H. influenzae</i> ATCC 49766	<i>E. coli</i> ATCC 35218
Ампициллин	2–8	–	–
Амоксициллин/клавуланат	2/1–16/8	–	4/2–16/8
Триметоприм/сульфаметоксазол	0,03–0,25	–	–
Меропенем	–	0,03–0,12	–
Имипенем	–	0,25–1	–
Хлорамфеникол	0,25–1	–	–
Цефотаксим	0,12–0,5	–	–
Цефтриаксон	0,06–0,25	–	–
Азитромицин	1–4	–	–
Кларитромицин	4–16	–	–
Тетрациклин	4–32	–	–
Ципрофлоксацин	0,004–0,03	–	–

3) с помощью стерильной петли или палочки-апликатора нанести несколько хорошо изолированных, морфологически сходных колоний на поверхность диска; следует использовать чистую суточную культуру на шоколадном агаре;

4) наблюдать изменение цвета; положительные результаты появляются в течение 15 с – 5 мин; при отсутствии изменения цвета в течение 5 мин тест считается отрицательным.

**Интерпретация теста:** поло-

*жительный* – образование красного окрашивания диска в месте нанесения культуры исследуемого микроорганизма, *отрицательный* – отсутствие изменения цвета.

**Контроль качества:** положительный контроль – *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, отрицательный контроль – *Haemophilus influenzae* ATCC 10211.

**Примечание.** “Рабочие” контрольные штаммы следует хранить на косяках с триптиказосоевым (*S. aureus*) и шоколадным агаром (*H. influenzae*) при температуре 2–8°C до 1 мес. Перед тестированием следует субкультивировать штаммы на чашке с КА и шоколадным агаром. Контроль качества следует проводить ежедневно и при тестировании каждого нового лота дисков.

## Приложение 1

### 1.1. Шоколадный агар для выделения и идентификации *H. influenzae*

**Состав:** 2% мясопептонный агар (МПА), 10% крови и 5% дрожжевого экстракта от объема МПА, pH 7,4–7,6.

**Приготовление.** К охлажденному до температуры 75°C МПА асептически добавляют половину необходимого объема крови, тщательно перемешивают и нагревают в течение 3–5 мин на водяной бане при температуре 80°C, непрерывно помешивая. Затем остужают при комнатной температуре до 75°C, добавляют

вторую часть крови и снова нагревают в течение 3–5 мин, непрерывно помешивая. Остужают при комнатной температуре до 45–50°C и добавляют дрожжевой экстракт. Агар тщательно взбалтывают и разливают по пробиркам и/или чашкам Петри.

Готовую питательную среду хранят в холодильнике, избегая высушивания, не более 2 нед.

### 1.2. Шоколадный бульон

Основа – питательный бульон (pH 7,4–7,6). Приготовление аналогично приготовлению шоколадного агара.

**Пример:** на 180 мл питательного бульона добавляют 18 мл крови (9 мл эритроцитной массы и 9 мл сыворотки крупного рогатого скота) и 9 мл дрожжевого экстракта.

### 1.3. Двухфазная среда для посева крови и спинномозговой жидкости

**Приготовление.** Твердая фаза – шоколадный агар, разлитый и скошенный в стерильных флаконах в условиях бокса. Жидкая фаза – шоколадный бульон, асептически добавленный во флаконы с застывшим скошенным шоколадным агаром.

## Приложение 2

### 2.1. Тест на продукцию цитохромоксидазы

Цитохромоксидаза является железосодержащим гемопroteinом, участвующим в аэробной

дыхательной цепи передачи электронов кислороду с формированием воды.

В данном тесте используются определенные красители, такие,

как *p*-фенилендиамина дигидрохлорид, которые замещают кислород как искусственные акцепторы электронов. В присутствии цитохромоксидазы и кисло-

рода эти бесцветные вещества подвергаются оксидации и образуют индофенол синий.

#### Реагенты и материалы

А. Тетраметил-*p*-фенилендиамина дигидрохлорид, 1% (реагент Ковача).

Б. Диметил-*p*-фенилендиамина дигидрохлорид, 1% (реактив Гордона и МакЛеода).

В. Коммерческие диски (bio-Merieux, BBL, Difco).

**Контроль качества:** положительный контроль – агаровая культура *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), отрицательный контроль – агаровая культура *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Контроль качества следует проводить перед использованием каждого нового лота реактивов и каждый день.

#### Методы

А. П р я м о й метод. Нанести 1 каплю реактива на тестируемую колонию. Изменение цвета (темно-лиловый или фиолетовый) указывает на наличие цитохромоксидазы.

Б. Н е п р я м о й метод с использованием бумажных полосок или дисков. Поместить в чашку Петри полоску фильтровальной бумаги и добавить 1–2 капли реактива либо поместить в чашку Петри коммерческие полоски или диски, пропитанные реактивом, и смочить дистиллированной водой. Тетраметильный дериват *p*-фенилендиамина лучше хранится и отличается большей чувствительностью для определения цитохромоксидазы, а также менее токсичен, чем диметильный дериват. С помощью деревянной или стеклянной палочки, или платиновой петли нанести на полоски или диски суточную агаровую культуру исследуемого микроорганизма.

Изменение цвета (появление темно-синего или фиолетового окрашивания) регистрируется в течение 10–30 с.

#### Примечание

Не используйте железные или вольфрамовые петли или иглы, так как это может привести к ложноположительным результатам за счет продуктов окисления, образующихся на поверхности металла при стерилизации на огне. Рекомендуется применять платиновые или нихромовые петли. После смачивания импрегнированные полоски и диски должны быть использованы в течение 1 дня.

### 2.2. Тест на способность к продукции каталазы

Каталаза – это фермент, превращающий пероксид водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) в воду и кислород. Химически каталаза является гемопротеином, сходным по структуре с гемоглобином, за исключением того, что содержит трехвалентное железо, а не двухвалентное.

#### Реагенты и материалы

А. 3% раствор перекиси водорода (хранить во флаконе из темного стекла в холодильнике)

Б. Суточная культура тестируемого микроорганизма.

**Контроль качества:** положительный контроль – агаровая культура *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), отрицательный контроль – агаровая культура *Streptococcus pyogenes* (ATCC 12344).

#### Методика

На предметном стекле суточная агаровая культура микроорганизма суспендируется в капле 3% раствора перекиси водорода. Пузырьки различной интенсивности появляются сразу или через 3–5 с.

#### Примечание

Не следует использовать для тестирования культуры старше 24 ч, так как фермент присутствует только в живых микроорганизмах, и может быть получен ложноотрицательный результат. Некоторые микроорганизмы

имеют другие ферменты, разрушающие перекись водорода. Поэтому маленькие пузырьки в большом количестве, появляющиеся через 20–30 с, не рассматриваются как положительный тест.

Кроме того, каталаза присутствует в эритроцитах, поэтому может наблюдаться ложноположительный результат при заборе колоний со среды, содержащей кровь.

### 2.3. Идентификация *H. influenzae* с использованием X и V факторов

Потребность гемофил в X и/или V факторах может быть определена при использовании полосок или дисков, импрегнированных X, V и XV факторами. При помещении на поверхность среды дисков с соответствующими факторами они легко диффундируют в питательную среду вокруг дисков. После инкубации потребность оценивается в зависимости от характера роста исследуемого микроорганизма вокруг дисков.

#### Материалы:

1) полоски или диски из фильтровальной бумаги, импрегнированные X и V факторами (BBL, Oxoid);

2) питательная среда, не содержащая X и V факторы (триптиказосоевый агар, сердечно-мозговой агар – brain-heart infusion agar);

3) питательный бульон (brain-heart infusion broth).

**Контроль качества:** *Haemophilus parainfluenzae* – требует V фактор, *Haemophilus influenzae* – требует X и V факторы.

#### Методика

Приготовить легкую суспензию чистой суточной культуры исследуемого микроорганизма в питательном бульоне. Необходимо избегать переноса вместе с колониями геминсодержащей сре-

ды, что может привести к ложным результатам. С помощью стерильного тампона инокулировать поверхность питательной среды приготовленной суспензией. Поместить на поверхность агара диски или полоски, содержащие X, V и XV факторы, на расстояние 2 см друг от друга. Инкубировать 18–24 ч при температуре 35–37°C в атмосфере с 5–10% CO<sub>2</sub>.

Учет характера роста производится визуально. Наличие роста микроорганизма только вокруг дисков с X и XV или V и XV факторами указывает на потребность соответственно в X или V факторе. Рост только вокруг диска с XV факторами характерен для гемофилов, нуждающихся в обоих факторах (например, *H. influenzae*).

#### 2.4. Тест на определение О-нитрофенил-β-D-галактопиранозидазы (ONPG, β-галактозидазы)

Для демонстрации ферментации лактозы в обычных тестах

требуется наличие двух ферментов. Пермеаза обеспечивает проникновение молекул лактозы в бактериальную клетку, а β-галактозидаза непосредственно гидролизует лактозу до галактозы и глюкозы.

У микроорганизмов, которые истинно не ферментируют лактозу, отсутствуют оба фермента. Однако некоторые бактерии могут не иметь пермеаз, но сохранять β-галактозидазу. ONPG (О-нитрофенил-β-D-галактопиранозидазы) – бесцветное вещество, сходное по структуре с лактозой. В присутствии β-галактозидазы ONPG разрушается на галактозу и О-нитрофенол, имеющий желтый цвет. *H. influenzae* в отличие от всех остальных видов рода не имеет β-галактозидазы.

##### Реактивы и материалы

В связи с большими техническими трудностями при изготовлении реактивов рекомендуется использовать готовые коммерческие диски, пропитанные ONPG (СИБ, Н.-Новгород; биоМерье, BBL, Oxoid, Difco).

**Контроль качества:** положительный контроль – агаровая культура *Escherichia coli* (ATCC 25922), отрицательный контроль – агаровая культура *Proteus mirabilis* (ATCC 29245).

Контроль качества следует проводить перед использованием каждого нового лота реактивов и перед тестированием каждого микроорганизма.

##### Методика

Приготовить густую суспензию исследуемого микроорганизма (эквивалентную стандарту мутности 2 по МакФарланду) в 0,5–1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Внести в пробирку таблетку или диск, содержащий ONPG, и инкубировать при температуре 35–37°C. Предварительный учет реакции возможен через 1 ч.

Положительная реакция – появление желтого окрашивания в результате образования О-нитрофенола. Отрицательный результат может быть сообщен только после 24 ч инкубации.

### Приложение 3

#### 3.1. Определение мочевины

Используются 2 реактива.

Реактив А: стерильная дистиллированная вода – 4 мл, этиловый спирт 96% – 2 мл, мочевина – 2 г.

Реактив В: 0,2% раствор фенол-рот – 1 мл, КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> – 0,1 г, К<sub>2</sub>НРО<sub>4</sub> – 0,1 г, NaCl – 0,5 г, дистиллированная вода – 100 мл.

**Приготовление.** Реактив А хранится при температуре 4–10°C

(не автоклавировать!). Реактив В стерилизуют при 1,5 атм. 30 мин. Перед употреблением *ex tempore* смешать 1 часть реактива А и 19 частей реактива В.

#### 3.2. Индикаторные индольные тест-полоски

**Состав:**

- *p*-диметиламидбензальдегид – 3,0–5,0 г;

- этиловый спирт 96% – 50 мл;
- концентрированная Н<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> – 10 мл.

**Приготовление.** Ингредиенты растирают в ступке и перемешивают. Готовым раствором пропитывают фильтровальную бумагу, высушивают и нарезают полосками.

### Приложение 4

#### 4.1. Приготовление НТМ агара

После растворения основы в нее добавляют дрожжевой экстракт до конечной концентрации

5 мг/мл и раствор гематина до конечной концентрации 15 мг/л. Для приготовления основного раствора гематина к 50 г порошка добавляют 100 мл 0,01N NaOH

(0,01 моль/л) и нагревают при тщательном перемешивании до полного растворения.

В подготовленную для автоклавирования среду на 1 л вносят

30 мл основного раствора гематина. После автоклавирования и охлаждения основы на водяной бане до температуры 45–50°C в нее асептически вносят матричный раствор НАД 3 мл на 1 л агара до конечной концентрации 15 мг/л.

Для приготовления матричного раствора 50 мг НАД растворяют в 10 мл дистиллированной воды и стерилизуют фильтрацией через мембранные фильтры с размером пор 0,45 мкм.

При тестировании триметоприма или ко-тримоксазола следует дополнительно асептически добавить 0,2 МЕ/мл тимидинфосфорилазы.

Приготовленный агар разливают в стерильные чашки Петри на ровном, строго горизонтальном рабочем столе. На чашку диаметром 100 мм необходимо 25 мл агара, диаметром 90 мм – 20 мл, для того чтобы толщина агара в чашке была  $4 \pm 0,5$  мм.

Агар застывает при комнатной температуре. Чашки с застывшим агаром необходимо подсушить с приоткрытыми крышками в термостате при температуре 35°C в течение 10–30 мин, чтобы удалить избыток конденсата.

#### 4.2. Приготовление стандарта мутности 0,5 по МакФарланду

*Необходимые материалы:*

- 0,048 М  $\text{BaCl}_2$  (1,175% раствор  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- 0,18 М (0,36 N)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1% раствор).

*Методика приготовления*

1. Добавить 0,5 мл 0,048 М  $\text{BaCl}_2$  (1,175% раствор  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) к 99,5 мл 0,18 М (0,36 N)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1% раствор).

2. В идеале оптическая плотность приготовленного стандарта мутности должна быть проверена с помощью спектрофотометра с

длиной светового пути 1 см и подходящей кюветой для определения поглощения. Поглощение при длине волны 625 нм должно быть 0,08–0,10 для стандарта мутности 0,5 по МакФарланду.

3. Разлить полученную взвесь по 4–6 мл в пробирки с хорошо закручивающимися крышками такого же размера, как и те, что используются для приготовления инокулюма.

4. Плотно закрыть пробирки и хранить их в темном месте при комнатной температуре.

5. Интенсивно взбалтывать приготовленный стандарт мутности непосредственно перед использованием.

6. Стандарт мутности необходимо менять на новый или проверять его оптическую плотность ежемесячно.

#### 4.3. Приготовление базового раствора антибиотика

Базовые растворы готовятся из химически чистых коммерческих субстанций с известной активностью.

#### Нельзя использовать соответствующие лечебные препараты!

При расчетах следует учитывать наличие в субстанции балластной части, которая в некоторых солях антибиотиков составляет значительную долю. Активность субстанции, как правило, указана на упаковке и выражается либо в процентном содержании действующего вещества, либо в миллиграммах действующего вещества на 1 г субстанции.

Во втором случае для того чтобы вычислить процентное содержание активного вещества, необходимо значение активности, выраженное в мг/г, разделить на 10. Если активность субстанции не указана на упаковке, ее условно принимают за 100%.

Например, необходимо приготовить серийные разведения ам-

пициллина в диапазоне от 16 до 0,016 мг/л. Объем базового раствора – примерно 50 мл.

$$m_{\text{теор.}} = \frac{C_{\text{макс. (мкг/мл)}} \times V_{\text{осн. (мл)}}}{500 \times A (\%)},$$

где  $m_{\text{теор.}}$  – теоретическая масса навески с учетом активности субстанции,  $V_{\text{осн.}}$  – объем базового раствора,  $A$  – активность субстанции, выраженная в процентах.

$$m_{\text{теор.}} = 16 \text{ (мг/л)} \times 50 \text{ (мл)} / 500 \times 100 = 0,016 \text{ (г)}.$$

Как правило, абсолютно точно взвесить необходимое количество антибиотика не удастся. Чтобы получить в таком случае базовый раствор необходимой концентрации, следует варьировать объемом растворителя. Этот объем рассчитывают по формуле:

$$V_{\text{практ. (мл)}} = \frac{M_{\text{практ. (г)}} \times V_{\text{теор. (мл)}}}{m_{\text{теор. (г)}}},$$

где  $V_{\text{практ.}}$  – практический объем растворителя,  $V_{\text{теор.}}$  – теоретический объем растворителя,  $m_{\text{практ.}}$  – практическая масса навески,  $m_{\text{теор.}}$  – теоретическая масса навески.

$$V_{\text{практ.}} = 0,01654 \text{ (г)} \times 50 \text{ мл} / 0,016 \text{ (г)} \times 51,7 \text{ (мл)}.$$

Рекомендуемые растворители и разбавители субстанций антибиотиков приведены в табл. 10.

Приготовленный базовый раствор разливается в стерильных условиях небольшими объемами (для тестирования 1, 2, 3 ... N штаммов) и хранится при отрицательной температуре  $\leq 20^\circ\text{C}$  в среднем в течение 6 нед.

Не следует хранить готовые базовые растворы в холодильниках с автоматической системой оттаивания, так как повторное размораживание и замораживание приводит к разрушению антибиотика. По этой же причине нельзя хранить размороженный базовый раствор.

Таблица 10. Растворители субстанций антибиотиков

Субстанция	Растворитель	Разбавитель
Ампициллин	Фосфатный буфер, рН=8,0, 0,1 М	Фосфатный буфер, рН=6,0, 0,1 М
Амоксициллин	Фосфатный буфер, рН=8,0, 0,1 М	Фосфатный буфер, рН=6,0, 0,1 М
Триметоприм	0,05 N молочная кислота или соляная кислота, 10% от необходимо объема (или 1,0 мл 0,1 М NaOH на каждые 10 мг субстанции)	Вода (стабилен при температуре 4°C, может нуждаться в нагревании)
Сульфаметоксазол	1/2 объема – горячая вода и минимальное количество 2,5 М NaOH для растворения (или 1,0 мл 0,1 М NaOH на каждые 10 мг субстанции)	Вода
Цефотаксим или Цефтриаксон, или Цефтазидим	Вода	Вода
Меропенем	Вода	Вода
Хлорамфеникол	Этанол или метанол	Вода
Азитромицин или Кларитромицин	Этанол или метанол	Вода
Тетрациклин	Вода	Вода

### Литература

1. Haemophilus. In : Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., Winn W.C., editors. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott: Philadelphia;1997. p. 363-94.
2. Pittman M. Variation and type specificity in the bacterial species *Haemophilus influenzae*. J Exp Med 1931; 53:471-92.
3. Kiehn T.E., Verhoef J. *Haemophilus* spp. In: Armstrong D., Cohen J., editors. Infectious diseases. Harcourt Publishers Ltd; 1999. p. 8-20.7-20.11.
4. Spinola S.M., Peacock J., Denny F.W., et al. Epidemiology of colonization with nontypable *Haemophilus influenzae* in children: A longitudinal study. J infect Dis 1986; 154:100-9.
5. Harabuchi Y., Faden H., Yamanaoka N., et al. Nasopharyngeal colonization with nontypeable *Haemophilus influenzae* and recurrent otitis media. J Infect Dis 1994; 170: 862-6.
6. Murphy T.F. Haemophilus. In: Gorbach S.L., Bartlett J.G., Blacklow N.R., editors. Infectious Diseases. 2nd ed. W.B. Saunders Company; 1998. p. 1845-58.
7. Orenstein W., Wharton M., Bart K.J., Hinman A.R. Immunization. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., editors. Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Churchill Livingstone; 2000. p. 3213-4.
8. Campos J.M. *Haemophilus* spp. In: Murrey P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.M., editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM Press; 1999. p. 604-13.
9. Felmingham D., Washington J. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial respiratory tract pathogens – findings of the Alexander project 1992-1996. J Chemother 1999; 11:5-21.
10. Jacoby G.A. Prevalence and resistance mechanisms of common bacterial respiratory pathogens. Clin Infect Dis 1994;18:951-7.
11. Fuchs P.C., Barry A.L. Interpretative criteria for susceptibilities of *Haemophilus influenzae* to ampicillin, amoxicillin and amoxicillin/clavulanate. J Clin Microbiol 1994; 32:2846-50.
12. Crokaert F., Aoun M., Duchateau V. Are macrolides active against *Haemophilus influenzae*? Are the in vitro tests reliable? Proceedings of the 35th ICAAC, San Francisco, 1995.
13. Acar J. Resistance patterns of *Haemophilus influenzae*. J Chemother 1999; 11:44-50.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; ninth informational supplement. NCCLS Document M100-S9 1999;19(1).
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard. 5th ed. NCCLS Document M7-A5 2000;20(2).
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; tenth informational supplement. NCCLS Document M100-S10(M7) 2000.
17. Leitch C., Boonlayangoor S.  $\beta$ -Lactamase test. In: Isenberg H.D. Clinical microbiology procedures handbook. ASM; 1992. p. 5.3.1.

УДК 579.882.04

## Насколько актуальна резистентность *Chlamydia trachomatis* к антибиотикам?

Г.Л. Риджуей

Отделение клинической микробиологии, Лондонский университетский госпитальный колледж

### Antimicrobial Resistance of *Chlamydia trachomatis*

G.L. Ridgway

The University College London Hospitals, Department of Clinical Microbiology

Во время моего визита в Москву меня очень заинтересовали данные по поводу необычайно высокой резистентности хламидий к антибиотикам в России.

Единственными антибиотиками, к которым *in vitro* была зарегистрирована резистентность *C. trachomatis*, являются рифампицин и некоторые фторхинолоны. Селекция рифампицинорезистентных штаммов в лаборатории происходит достаточно легко, тогда как получить штаммы, резистентные к хинолонам, сложно. Мне известны лишь две лаборатории, имеющие такие штаммы: моя лаборатория (неопубликованные данные) и одна лаборатория в Бордо (Bebear et al. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2304-11). Клиническая значимость этих штаммов неизвестна, так как не было ни одного сообщения о появлении резистентности во время лечения.

Что касается тетрациклинов и макролидов, то описан случай клинической и микробиологической резистентности, однако это не имеет существенного значения. На сегодняшний день я не располагаю объективными данными о появлении штаммов *C. trachomatis*, которые были бы резистентны к тетрациклинам или макролидам. Длительное время мы пытались вызвать у *C. trachomatis* резистентность к данным препаратам в лабораторных условиях, но безрезультатно.

К данной проблеме имеют отношение следующие публикации:

1. Lefevre et al. *Sexually Transmitted Dis* 1998; 25:350-2.
2. Jones et al. *J Infect Dis* 1990; 162:1309-15.
3. Mourad et al. *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 18:696-8.

Следует отметить, что наиболее вероятной причиной появления "ложной" резистентности в клинической практике является использование некультуральных методов для контроля эффективности терапии. Хламидийные антигены и ДНК (при отсутствии жизнеспособных микроорганизмов) персистируют в половых путях до 3 нед. Поэтому иммуоферментные, иммуофлюоресцентные методы, полимеразная и лигазная цепные реакции не являются достоверными в этот период, так как они регистрируют даже нежизнеспособные микроорганизмы, что ведет к получению ложноположительного результата.

Другая проблема состоит в том, что клиническая эффективность для хламидийной генитальной инфекции ниже, чем микробиологическая эрадикация. При этом клиническое выздоровление составляет 80%, а микробиологическое – более 95%. Это никоим образом не связано с резистентностью хламидий.

В общем антибиотикорезистентность *C. trachomatis* не является большой клинической проблемой.

Мне было бы крайне интересно получить данные о резистентности хламидий в России. Являются ли они лабораторно подтвержденными или только результатом интерпретации клинического течения инфекции? Я полагаю, что второй вариант более вероятен, если только российские штаммы существенно не отличаются по резистентности от хламидий во всем остальном мире.

Контактный адрес:

G.L. Ridgway, MD, MRCP, FRCPath  
The University College London Hospitals,  
Department of Clinical Microbiology,  
Grafton Way, London WC1E 6DB, UK  
Fax: +44-(0)171-388-8514  
Tel.: +44-(0)171-380-9913

14 февраля 2000 г.