

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:**

ООО «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-2001», 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:**

smac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала  
находится в Интернете  
на веб-сайтах  
<http://www.antibiotic.ru>  
<http://www.microbiology.ru/smac>

Присланные в редакцию статьи  
рецензируются

Ответственность за достоверность  
рекламных публикаций несут  
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал  
обязательна

## **Содержание**

А.М. Егоров, Ю.О. Сазыкин, В.П. Иванов – Развитие антимикробной химиотерапии и новые парадигмы .....98

### **Болезни и возбудители**

Дж. Нге, С. Гупта – *Clamidia pneumoniae* и атеросклероз: совпадение или закономерная связь? .....104

### **Антибиотикорезистентность**

Г.К. Решедько – Механизмы резистентности к аминогликозидам у нозокомиальных грамотрицательных бактерий в России: результаты многоцентрового исследования .....111

Д.Дж. Дикема, А.Б. Бруггеманн, Г.В. Доэри – Использование антибактериальных препаратов и антибиотикорезистентность у *Streptococcus pneumoniae* .....126

### **Политика применения антибиотиков**

И.К. Гиссенс – Оценка качества антимикробной химиотерапии .....133

С.Н. Козлов, С.А. Рачина, Н.П. Домникова,  
О.И. Карпов, В.Б. Кузин, И.В. Лещенко, Р.Я. Лихачева,  
С.В. Недогода, Л.С. Страчунский – Фармакотерапия обострения хронического бронхита в амбулаторной практике: результаты фармакоэпидемиологического исследования .....148

### **Лабораторная диагностика**

К.Х. Энглер, Д. Норн, Р.С. Козлов, И. Сельга, Т.Г. Глушкевич, М. Там, Р.С. Джорж, А. Эфстратиоу – Быстрые фенотипические методы определения дифтерийного токсина у клинических штаммов коринебактерий .....156

### **Методические рекомендации для клиницистов**

Ю.В. Лобзин, С.Б. Якушин, С.М. Захаренко – Практические рекомендации по ведению пациентов с инфекционной диареей .....163

### **Методические рекомендации для микробиологов**

М.В. Эйдельштейн – Выявление  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов .....183

### **Опыт работы**

А.С. Анкирская, В.В. Муравьева – Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища .....190

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

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

**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  
Гриневиц 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. Moscow

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

**Editors:**  
Zubkov M.N. Moscow  
Kozlov R.S. Smolensk  
Lobzin Yu.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

A.M. Egorov, J.O. Sazikin, V.P. Ivanov – Evolution of Antimicrobial  
Chemotherapy and New Paradigm .....98

### Diseases and Pathogens

J. Ngeh, S. Gupta – *C. pneumoniae* and Atherosclerosis:  
Causal or Coincidental Link? .....104

### Antimicrobial Resistance

G.K. Rechedko – Mechanisms of Resistance to Aminoglycosides  
in Gram-negative Nosocomial Bacteria in Russia: Results  
of Multicenter Study .....111

D.J. Diekema, A.B. Brueggemann, G.V. Doern – Antimicrobial Drug Use  
and Changes in Resistance in *Streptococcus pneumoniae* .....126

### Antibiotic Policy

I.C. Gyssens – Quality Measures of Antimicrobial Drug Use .....133

S.N. Kozlov, S.A. Ratchina,  
N.P. Domnikova, O.I. Karpov, V.B. Kuzin, I.V. Leschenko,  
R.J. Likhatchova, S.V. Nedogoda, L.S. Stratchounski – Therapy  
of Exacerbation of Chronic Bronchitis in Ambulatory Practice:  
the Results of the Pharmacoepidemiological Study .....148

### Laboratory Diagnostics

K.H. Engler, D. Norn, R.S. Kozlov, I. Selga, T.G. Glushkevich,  
M. Tam, R.C. George, A. Efstratiou – Rapid Phenotypic Methods  
for the Detection of Diphtheria Toxin Amongst Clinical Isolates  
of *Corynebacteria* .....156

### Guideline for Clinicians

Yu.V. Lobzin, S.B. Yakushin, S.M. Zakharenko – Practice Guidelines  
for the Management of Infectious Diarrhea .....163

### Guideline for Microbiologists

M.V. Edelstein – Detection of Extended Spectrum  $\beta$ -lactamases  
by Phenotypic Methods in Gram-negative Bacteria .....183

### Personal Experience

A.S. Ankirskaya, V.V. Muravyeva – Microbiological Diagnosis  
of Opportunistic Vaginal Infections .....190

УДК 615.281.07

## Развитие антимикробной химиотерапии и новые парадигмы

А.М. Егоров, Ю.О. Сазыкин, В.П. Иванов

Государственный научный центр антибиотиков, Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

### Evolution of Antimicrobial Chemotherapy and New Paradigm

A.M. Egorov, J.O. Sazikin, V.P. Ivanov

National Research Centre of Antibiotics, Moscow, Russia, I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow, Russia

Развитие химиотерапии на строго научной основе стало возможным, естественно, только после работ Л. Пастера, то есть выявления объекта, на который должны воздействовать антимикробные агенты. Совершенно закономерно также, что периоду химиотерапии предшествовал период асептики и антисептики.

Возникновение антимикробной химиотерапии датируется довольно точно – первыми годами XX века и связано, как известно, с работами П. Эрлиха и его школы. Суть не в знаменитом препарате 606 (сальварсан) из ряда арсенобензолов, которого давно уже нет в фармакопеех мира. Восторженно встреченный, этот препарат сохранил свою объективную ценность, но постепенно был вытеснен из практики сначала неосальварсаном, полученным самим Эрлихом, а затем другими препаратами. Суть состоит в сформулированных Эрлихом тезисах, которые в течение 100 лет выглядели незыблемыми и лишь сейчас подвергаются осторожному пересмотру, причем с оговорками.

Как известно, Эрлих сформулировал ряд тезисов, которые сразу же приобрели значение парадигм, то есть воспринятых всем научным сообществом «образцов», или моделей решения проблемы, дающих реальный прообраз действительности. Смена парадигм по мере углубления знаний возможна, но она равносильна научной революции в конкретной области.

Основополагающие тезисы Эрлиха хорошо известны. Их анализ показывает, что Эрлих ставил во главу угла химиотерапевтический индекс антимикробного препарата [1]. В переводе, сделанном в 1910 г., стиль которого стал уже несколько архаичным для нашего времени, это выглядит так: «Хемотерапия ставит себе задачу найти такие вещества, которые при большом влиянии на паразитов принесли бы возможно менее вреда организму». И далее: «Средство в практику не выйдет, если взаимоотношение между ядовитостью и лечебной дозировкой неблагоприятно». Отсюда представление об идеальной по избирательности магической пуле, переходившее из учебника в учебник (*магическая пуля Эрлиха*).

За первую треть XX века после знаменитых препаратов Эрлиха арсенал антимикробной химиотерапии пополнился фактически только сульфаниламидами. Начиная же с 40-х годов наступило непрерывное внедрение в практику природных, синтетических и полусинтетических веществ разнообразной химической структуры с исключительно высокой биологической активностью. Последнее обстоятельство обусловило интерес к механизму их действия и на клеточном уровне, и на уровне суммарных биохимических процессов и, наконец, на молекулярном уровне.

Можно утверждать, что почти полвека решение задачи целенаправленного создания новых производных антимикробных агентов ставилось в зависимости от построения правильной модели взаимодействия прототипа с внутриклеточной мишенью. При этом мишень в микробной клетке подразумевалась как единственная (*парадигма избирательности*).

---

Контактный адрес:  
Алексей Михайлович Егоров  
113105, Москва, Нагатинская ул., За, ГНЦА  
Факс: (095) 111-42-38

Ограниченность такого представления без учета хронобиологических закономерностей и закономерностей транспорта антибиотика в клетку, понятия промежуточных (временных) мишеней, без знания субклеточной и молекулярной топографии всей клетки стала ясна к середине 60-х годов.

Сложность организации клетки даже у прокариот позволяет утверждать, что абсолютизировать избирательность нельзя. Примером этому могут служить хотя бы три широко применяемых группы антимикробных агентов –  $\beta$ -лактамы, хинолоны и аминогликозиды.

$\beta$ -Лактамы и хинолоны имеют более одной мишени в микробной клетке (разные пенициллинсвязывающие белки, или же ДНК-гираза и ДНК-топоизомераза IV).

Аминогликозиды, в частности стрептомицин, также многозначны в своем взаимодействии с микрорганом:

- реагирование с 30S рибосомной субъединицей на стадии инициации белкового синтеза ведет к прекращению синтеза белка;
- реагирование с 30S рибосомной субъединицей на стадии элонгации полипептидной цепи ведет к синтезу «летальных» белков;
- взаимодействие с *oriC* локусом предотвращает репликацию ДНК.

К этому следует прибавить, что, реагируя с ионами магния внешней мембраны, стрептомицин «самопрототирует» свое проникновение в клетку. Наконец, он же вызывает частичную деструкцию цитоплазматической мембраны. Любая молекулярная модель «вне клетки», например модель взаимодействия стрептомицина с рибосомой, не сможет исчерпывающе объяснить механизм антимикробного эффекта этого антибиотика.

Обращают на себя внимание недавние (вторая половина 90-х годов) исследования в области макролидных препаратов. Оказалось, что рокситромицин, кларитромицин и азитромицин, по-видимому, обладают положительным эффектом при лечении атеросклероза, артритов и астмы – болезней неинфекционной природы, согласно мнению, господствовавшему многие десятилетия.

В настоящее время ведутся дискуссии об этиологическом значении в этих заболеваниях внутриклеточно локализованных бактерий, в частности хламидий. По мнению ряда авторов, именно в этом следует искать причину эффективности данных антибиотиков.

Однако существует и иная точка зрения: эффективность макролидов объясняется коррекцией ими «чрезмерных» воспалительных реакций, обусловленных полиморфноядерными нейтрофилами и мо-

ноцитами, поскольку указанные макролиды обнаруживаются в высоких концентрациях в фагоцитах [2].

Таким образом, можно говорить о смене парадигм или в патологии, или в химиотерапии. Положительным качеством определенных антибиотических структур оказывается именно отсутствие строгой избирательности действия. Следует также отметить, что не обладающий прямым действием на опухоли кларитромицин в последние годы обратил на себя внимание как противоопухолевый препарат. Его механизм действия реализуется, по-видимому, на уровне интерлейкинов [2, 3].

Вообще можно указать, что с 90-х годов прошлого века не прекращаются систематические попытки сочетать в одной низкомолекулярной структуре два качества – *антибактериальную* и *иммуномодулирующую* активность. Пока наиболее удачным результатом такого целенаправленного поиска считается цефодизим. На основе цефалоспориновой структуры получен лекарственный препарат, действующий (на клеточном уровне) на две мишени – бактерию и фагоцит и обладающий антибактериальным и иммуностимулирующим эффектом [2, 4].

Предлагается ретроспективный анализ огромного перечня антибиотиков с целью выявления среди них фармакологически активных веществ или способных стать прототипом для веществ такого рода, которые могут быть получены путем химической модификации. Конечно, при этом не ставится, как всегда, обязательная задача сохранения антимикробной активности.

Так, например, ведутся поиски производных эритромицина и циклоспорина А, обладающих, соответственно, мотиноподобным действием (стимуляция перистальтики кишечника) и способностью возвращать фенотип резистентной опухолевой клетки к чувствительному. При этом декларируется (как желательная) потеря антибактериальной или иммуносупрессорной активности, присущей прототипам.

Воззрения Эрлиха были единственно правильными на том уровне знаний, который был доступен в начале XX века. Смена парадигм в химиотерапии обуславливается сейчас достижениями фундаментальных наук, приведшими к гораздо более глубокому пониманию взаимодействия лекарства с патогеном в инфицированном организме. Многого ожидается также от *комбинаторной химии*, *геномики* и *протеомики* (протеом – полный набор или совокупность белков в клетке).

Комбинаторная химия конструирует новые структуры, используя «принцип подобия» – из фрагментов, биологическая активность которых «в том или ином направлении» была уже доказана.

Необходимость анализа количественной корреляции структурно-функциональных отношений не требует доказательств.

Есть приемы для повышения эффективности работы по созданию ряда веществ с запланированным многообразием. Однако изменение функции веществ в одном случае, например, при взаимодействии с конечной мишенью, еще не означает решения вопроса о создании лекарства. Требуется учет взаимодействия с промежуточными мишенями и т. д.

Ретроспективный анализ работ по созданию рационального молекулярного дизайна, например фторхинолонов, создает впечатление глубокого систематического предвидения результатов экспериментов. В реальности систематического продвижения на пути от налидиксовой кислоты к современным фторхинолонам не было, во всяком случае применительно к созданию принципиально новых рядов.

В последние годы ведется все более оживленная дискуссия о возможностях, которые открываются перед химиотерапией за счет использования геномики и протеомики. Осуществлено полное секвенирование генома многих патогенных бактерий. Международные базы данных, располагающие особенно подробными сведениями о геномах так называемых «модельных» микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и др.), а также о геноме эукариот низших и высших, в состоянии быстро давать информацию из области структурной, сравнительной и метаболической геномики [5, 6]. Это позволяет идентифицировать у патогенов гены, включенные в известные метаболические процессы, дифференцировать гены с еще неизвестными функциями.

Аmplификация интересующего исследователя гена с помощью полимеразной цепной реакции, использование в последующем систем транскрипции и трансляции позволяют выявить кодируемый им продукт и установить его функцию на уровне фенотипа. Таким образом, создается возможность проверки активности рядов как синтетических, так и природных веществ в качестве ингибиторов функций конкретных генов, точнее – кодируемых ими продуктов. Иными словами, отбор и изучение новых антимикробных агентов идет не от организма к гену, а от гена к организму в соответствии с введенным сейчас в литературу термином «обратная генетика».

Успехи геномики (и генной инженерии) позволяют выявлять гены, необходимые патогену при его размножении только в инфицированном организме и вести затем поиск ингибиторов функций их продуктов. Так, с недавнего времени получила извест-

ность система «*In Vivo Expression Technology*» (IVET), используемая для отбора генов вирулентности (*ivi* гены) [7, 8].

Геном исследуемого патогена фрагментируется с помощью набора рестриктаз: в отдельных фрагментах оказываются или *ivi* гены, или «жизненно важные» гены. Последние необходимы клетке для ее роста и *in vivo*, и *in vitro*.

Ингибиторы их функций могут быть выявлены и на искусственной питательной среде, то есть известными путями. Гены же вирулентности, мало изученные вообще, представляют, как мишени для химиотерапевтического агента, особый интерес, поскольку патоген, потерявший вирулентность, будет быстро уничтожаться защитными силами организма.

Система IVET, основанная на захвате промотора тех генов, которые экспрессируются только *in vivo*, позволила обнаружить, например, у сальмонеллы примерно 1% таких генов. Системы обнаружения *ivi* генов, основанные на разных подходах, разрабатываются в разных лабораториях. В число генов вирулентности входят не только гены, кодирующие образование адгезинов, инвазинов и т. п., но и гены, позволяющие микроорганизму переносить дефицит необходимых веществ в макроорганизме, например, гены системы транспорта железа, реутилизации пуринов.

Несомненно, что на парадигмах современной химиотерапии, а точнее – химиотерапии ближайшего будущего должно сказаться развитие протеомики [9, 10, 11].

Протеомика в обязательном сочетании с молекулярной биологией, геномикой и белковой химией знаменует качественно новое углубление знаний во всех областях биологии, в том числе и микробиологии. Как правило, в статьях, посвященных вопросам протеомики, подчеркивается, что ее развитие становится возможным. Более того, оно неизбежно именно в «постгеномную» эру.

Если геномика основана на дифференциации каждого гена из их совокупности в геноме и его характеристике в разных аспектах с использованием баз данных, то протеомика – на дифференциации и характеристике клеточных белков также с использованием баз данных.

Протеомика, говоря с некоторой долей условности, ближе к познанию фенотипа клетки, выращиваемой в конкретных условиях или находящейся под воздействием тех или иных стрессовых факторов. Обнаружение гена само по себе еще не означает, что он экспрессируется в любом случае, то есть что его продукт должен приниматься во внимание всегда. В то же время обнаружение кодируемого ге-

ном продукта и определение его количества, как правило, должно учитываться при характеристике свойств клетки.

Стандартный анализ протеома начинается с извлечения растворимых белков и их разделения и визуализации методом двумерного электрофореза в геле. Индивидуальный белок после предварительной обработки анализируется методами масс-спектрометрии или другими методами (капиллярная жидкостная хроматография). Идентификация белков осуществляется с использованием опять-таки соответствующих баз данных.

Такая методология позволяет уловить ответ клетки по качественным и количественным изменениям белковой экспрессии на всевозможные внешние воздействия, включая реакцию на добавленный антибиотик, на факторы иммунитета; улавливаются также по характеру белковой экспрессии изменения, ведущие к патогенности, антибиотикорезистентности и т. д.

Одна из важных задач протеомики – контроль за посттрансляционными модификациями белков. С помощью баз данных привлеченные к себе внимание белки классифицируются по функциям, внутриклеточной локализации и другим показателям, характеризующим их роль.

Техника двумерного электрофореза требует, однако, в ряде случаев усовершенствования. Например, ведется поиск особых приемов для улучшения идентификации гидрофобных (связанных с мембранными структурами) белков.

Актуальным является уменьшение трудоемкости анализа совокупности белков микробной клетки, поскольку в ней насчитывается несколько тысяч индивидуальных белков. Тем не менее уже достигнута идентификация в одном эксперименте около 2000 белков.

В последнее время стала развиваться количественная протеомика, позволяющая количественно сопоставлять экспрессию отдельных белков. В целом протеомика не только дополняет геномику, ее направление, которое получило название «метаболической» или «функциональной», но и является этапом (не последним) приближения к пониманию клетки как единой динамичной совокупности макромолекулярных структур.

Возможно, что в будущем предстоит терминологическое оформление и «постпротеомной» эры, когда предметом внимания окажется состав и количественное соотношение (на данный момент ростового цикла) всех низкомолекулярных метаболитов – продуктов ферментативных реакций. Учитывая, что реалии химиотерапии очень часто базируются на препаратах, являющихся аналогами ферментных

субстратов, можно также ожидать принципиально нового вклада в химиотерапию будущего.

Интересно отметить, что основополагающие факторы, касающиеся механизма действия пенициллина, как потом оказалось, применимые и к другим  $\beta$ -лактамным антибиотикам, были получены более чем за треть века до формирования протеомики именно в соответствии с методологией этой, неизвестной тогда, научной дисциплины. В тот период, когда было установлено, что пенициллин, являясь ингибитором D-аланинтранспептидазы, прекращает образование пептидогликана клеточной стенки у бактерий, и когда внимание сосредоточилось на пенициллине как аналоге субстрата в активном центре этого фермента, совершенно неожиданно возник новый, как будто бы излишний, термин – «пенициллинсвязывающие белки».

Методами электрофореза (в сочетании с радиоизотопными) была показана необходимость учета топографии всей микробной клетки при установлении механизма действия  $\beta$ -лактамов. Множественность D-аланинтранспептидаз, одинаковых по каталитической функции, но не по молекулярной массе и другим физико-химическим свойствам, отвечающих за завершение синтеза пептидогликана на полюсах клетки, или при формировании клеточной перегородки, или при удлинении палочковидных форм, оказалась крайне важной. Они обладали неодинаковым сродством к разным  $\beta$ -лактамам. В конечном счете это сыграло определяющую роль в том, что  $\beta$ -лактамы стали наибольшей по разнообразию и значимости группой антибиотиков.

Роль протеомики в химиотерапии в будущем может быть связана с решением многих проблем, стоящих перед наукой. В качестве примера следует указать на назревшую необходимость изучения методами протеомики клеток *Helicobacter pylori* при микроэволюции этого патогена в инфицированном организме [12].

Известно, что культура *H. pylori* при стрессовой ситуации *in vivo* дифференцируется как бы на две субпопуляции – одна часть клеток гибнет и лизируется, другая же часть адаптируется и поглощает ДНК, освободившуюся из лизировавшихся клеток. Предполагается, что общий сигнал для популяции – «quorum santis» – обеспечивает выживание культуры в трудных условиях за счет обогащения генома компетентных клеток. Однако для того чтобы подтвердить биологическое значение этого явления требуется изучить экспрессию поглощенных генов, используя методы протеомики, в частности количественной.

Широкое использование подходов со стороны не только геномики, но и протеомики необходимо

для выяснения причин современной эпидемии туберкулеза. Это относится как к характеристике протеома клеток микобактерий, например, доказательство реальности компенсаторных мутаций и изучение их фенотипического выражения, так и к проблеме гетерогенности человеческой популяции в отношении восприимчивости к туберкулезу [13].

Число таких приложений методологии протеомики непосредственно к решению задач химиотерапии велико. Целесообразно тем не менее упомянуть о протеомике применительно к биогенезу вторичных метаболитов с антибиотическими свойствами у актиномицетов. Проблема экспрессии «молчащих» генов, включенных в биогенез антибиотических структур, может быть очень важна для пополнения перечня природных химиотерапевтических веществ.

Напрашивается возможность сопоставления генов, экспрессия которых играет роль в приспособлении патогенного микроорганизма к действию неблагоприятных факторов *in vivo*, и в приспособлении почвенного микроорганизма к меняющейся внешней среде.

Проблема становится, таким образом, общебиологической. Прикладные же цели здесь разные: поиск генов, то есть их белковых продуктов как новых мишеней для химиотерапевтических веществ, и поиск генов, то есть кодируемых ими ферментов, включенных в биогенез еще не описанных химиотерапевтических агентов.

Как следует из всего изложенного, ведущую роль в каждом новом направлении, от которого ожидается прогресс антимикробной химиотерапии, играют не микробиологи. В одном случае – это химики-органики и биоорганики, в другом – генетики, в частности генные инженеры, в третьем – специалисты по белковой химии и биохимии. Используя методологию комбинаторной химии, геномики и протеомики, они с полным основанием указывают на реальность новых подходов к получению антимикробных агентов.

И все же самая блестящая разработка теоретических основ этих подходов еще не означает непосредственного вклада в практику. Последний может задержаться из-за недостаточного внимания к особенностям микробной клетки в целом и особенностям конкретного патологического процесса.

Образно говоря, намерения фундаментальных наук декларированы, а мощь их методологии продемонстрирована. Настала очередь существенного

практического вклада в решение актуальных проблем химиотерапии.

Как своего рода образец для сравнения поисковых стратегий, разделенных полувековым периодом, и в связи с недавно отмеченным 50-летним «юбилеем цефалоспоринов» небезынтересно вернуться к истории открытия цефалоспорина С [14, 15]. Она является примером самоотверженного труда без далекоидущих теоретических построений: в то же время цефалоспорины четырех поколений являются полусинтетическими вариантами этого цефалоспорина. Его открытие – цепь случайностей и счастливого выбора правильного направления исследований.

Ошибочная в целом концепция самоочищения морской воды за счет антибиотиков, образуемых морскими микроорганизмами, в сочетании с отсутствием заболеваний брюшным тифом у купающихся вблизи места сброса сточных вод привели к обнаружению в Сардинии гриба – продуцента цефалоспорина С.

Этот антибиотик малоактивен вообще и совершенно неактивен против возбудителя брюшного тифа. Образовывался он в малых количествах и был к тому же «замаскирован» присутствием антибиотических тритерпеновых структур (уже известных к тому времени) и пенициллина N. Он был выделен как случайно обнаруженная микропримесь в препаратах пенициллина N. Его ценность сама по себе отсутствовала, и понадобилось проявить интуицию и энтузиазм, чтобы изучать эту структуру.

Как вспоминал многие годы спустя один из авторов препарата Э. Абрахам, только чудо могло решать все новые и новые проблемы, с которыми сталкивались на пути к цефалоспорином (не зная, что со временем цефалоспорины составят не менее половины применяемых в клинике антимикробных антибиотиков). Здесь же Э. Абрахам отдал должное правильной организации прикладной науки: «Успех – в интуиции, терпеливости и готовности идти на риск фармацевтических компаний» [14].

Действительно, первоначальное финансирование университетских исследований (в Оксфорде) было дополнено после подтверждения ценности препарата непосредственным участием на поздних стадиях его разработки лабораторий фирмы «Lilly».

Создание принципиально новых лекарственных препаратов инновационными путями в XXI веке будет, несомненно, наиболее успешным при интернационализации исследований.



## Литература

1. Сазыкин Ю.О. П. Эрлих и начало современной анти-микробной химиотерапии. Антибиотики и химиотер 1999; 44(12):5-14.
2. Labro M.T. Antibacterial agents – phagocytes: new concepts for old in immunomodulation. Int J Antimicrob Agent 1998; 10:11-21.
3. Mikasa K. Sawaki M., Kita E., et al. Significant survival benefit of clarithromycin threatment for patients with unrespectable lung cancer. Proceedings of the 4th International conference on the macrolides, azalides, streptogramins and ketolides. Barcelona, Spain; 1998. 40, 4.05.
4. Labro M.T. Experimental evaluation of antibiotics as immunomodulators. J Chemother 1994; 6 (Suppl.5):10-4.
5. Егоров А.М., Сазыкин Ю.О. Антимикробные агенты в будущем. Вклад геномики в их создание. Антибиотики и химиотер 1999; 44(12):5-14.
6. Moir D.T. , Shaw K.J., Hare R.S., Vovis G.F. Gemomics and antimicrobial drug discovery. Antimicrob Agent Chemother 1999; 43:439-46.
7. Heithott D.M., Conner C.P., Hanna P.C., et al. Simultaneous identification of bacterial virulence genes by in vivo gene expression, PNAS USA 1997; 94:934-9.
8. Mahan M.T., Tobias T.W., Stauch T.M. Antibiotic – based selection of the bacterial genes that are specifically induced during infection of a host. PNAS USA 1995; 92:669-73.
9. Cordwell S., Noawens A., Verrills N., et al. The microbial proteome database – an automated laboratory. Catalogue for monitoring protein expression in bacteria. Electrophoresis 1999; 20:3580-8.
10. Mann M. Quantitative proteomics? Nat Biotechnol 1999; 17:954-5.
11. Washburn M.P., Yates J.R. Analysis of the microbial proteome. Current Opinion Microbiol 2000; 3:292-7.
12. Lorenz M.G., Wackernagel W. Bacterial genes transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbiol Rev 1994; 61:627-32.
13. Davies J. Antibiotic resistance in mycobacteria In: Genetics and tuberculosis. John Wiley and Sons; 1998. p. 195-205.
14. Abraham E.P. Reflections on the development of the cephalosporins. Giorn Ital Chimioter 1970; 17:4-12.
15. Hamilton-Miller J.M.T. Sir Edward Abraham's contribution to the development of the cephalosporins: a reassessment. Int J Antimicrob Agent 2000; 15:179-84.

УДК 616.13-004.6-022:579.861.2

## ***Clamydия pneumoniae* и атеросклероз: совпадение или закономерная связь?**

**Установление природы этой связи требует объединения усилий и привлечения метаанализа проводимых клинических испытаний**

Дж. Нге<sup>1</sup>, С. Гупта<sup>2</sup><sup>1</sup>Отделение геронтологии госпиталя Випс Кросс, Лондон, Великобритания<sup>2</sup>Отделение кардиологии госпиталя Випс Кросс и госпиталя Св. Варфоломея, Лондон, Великобритания

Переведена и печатается с согласия авторов и редакции журнала «ASM News» 2000; 66:732-7.

## ***Clamydия pneumoniae* and Atherosclerosis: Causal or Coincidental Link?**

**Concerted efforts, perhaps involving meta-analysis of ongoing clinical trials, are needed to establish the nature of that link**

Joseph Ngeh<sup>1</sup>, Sandeep Gupta<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Medicine for Elderly People, Whipps Cross Hospital, London, United Kingdom<sup>2</sup>Department of Cardiology, Whipps Cross and St. Bartholomew's Hospitals, London, United Kingdom

Translated and reprinted with permission from «ASM News» 2000; 66:732-7.

Клинические проявления атеросклероза весьма разнообразны. Они могут быть представлены, в частности, *ишемической болезнью сердца* (ИБС), поражением церебральных и почечных сосудов и сосудов конечностей. Во всем мире ИБС является самым распространенным заболеванием, а инсульт занимает третье по частоте место среди причин смерти. Атеросклероз вносит существенный вклад в общий уровень заболеваемости и летальности, а также требует больших экономических затрат на лечение различных его форм и осложнений. Такие традиционные факторы риска, как артериальная гипертензия, курение, гиперлипидемия и сахарный диабет, не могут до конца объяснить высокую частоту и широкую распространенность данного заболевания. В последние годы большое внимание уделяется поиску недостающих звеньев и новых факторов риска в патогенезе атеросклероза.

Несмотря на то что многие специалисты не признают инфекционную природу атеросклероза, некоторые исследователи все же высказывают мнение о том, что в основе данного заболевания лежит воспалительный процесс. На протяжении более

100 лет на роль возможного связующего звена между воспалением и процессами атерогенеза (атеротромбоза) предлагались различные специфические микробные агенты, в том числе *Bacillus typhosus* (*Salmonella typhi*), стрептококки, вирус Коксаки В, *Mycoplasma gallisepticum*, аденовирус, вирус болезни Марека, цитомегаловирус, *Chlamydия pneumoniae* (ныне *Chlamydophila*), *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma fermentans*, *Coxiella burnetii*. Из перечисленных микроорганизмов наибольший интерес вызывают цитомегаловирус, *H. pylori*, а с недавних пор – *C. pneumoniae*, при этом значительный акцент делается на *C. pneumoniae*.

### ***C. pneumoniae* – недавно открытый возбудитель. Краткая характеристика**

*C. pneumoniae* – грамотрицательная облигатная внутриклеточная бактерия. Впервые выделена в 1965 г. на Тайване. В 1986 г. установлена роль данного микроорганизма в качестве возбудителя острых респираторных инфекций, в связи с чем она получила сокращенное название TWAR – *Taiwan acute respiratory*. В 1989 г. *C. pneumoniae* выделена в

отдельный вид рода *Chlamydia*, уже включавшего двух сходных возбудителей заболеваний у человека: *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia psittaci*.

*C. pneumoniae* может существовать в 3 формах: в виде *элементарного тельца* (ЭТ), *ретикулярного тельца* (РТ) и *персистирующего тельца* (ПТ).

ЭТ является инфицирующей формой, которая, попадая через дыхательные пути, может внедряться в эндотелиальные клетки и моноциты организма хозяина. После проникновения в клетку хозяина путем фагоцитоза ЭТ внутри увеличенных вакуолей, так называемых «включений», в процессе бинарного деления превращается в неинфекционное РТ. Затем РТ, как правило, снова трансформируются в ЭТ, которые высвобождаются из клетки путем ее лизиса, начиная тем самым новый жизненный цикл.

Однако ЭТ могут трансформироваться в метаболически неактивную форму, называемую ПТ, и в таком «дремлющем» состоянии иногда на протяжении долгого времени находиться внутри клетки. ПТ нечувствительны к воздействиям иммунной системы и антибиотиков.

Инфекция, вызванная *C. pneumoniae*, распространена во всем мире и имеет широкий спектр клинических проявлений, главным образом со стороны верхних дыхательных путей. В промышленно развитых странах ее эпидемии наблюдаются 1 раз в 4–7 лет. Вследствие этого от 50 до 70% людей среднего возраста имеют антитела к хламидиям. В типичных случаях на протяжении всей жизни человек инфицируется *C. pneumoniae* от 2 до 3 раз.

### **Доказательства участия *C. pneumoniae* в развитии атеросклероза**

Для подтверждения участия *C. pneumoniae* в развитии атеросклероза используют данные различных исследований, включая сероэпидемиологические, патогистологические, молекулярно-биологические и иммунологические, моделирование на животных и исследования по применению антибиотиков. Большинство этих исследований сфокусировано на ИБС и в значительно меньшей степени – на изучении цереброваскулярных заболеваний.

Начиная с 1988 г. во всем мире было проведено более 30 эпидемиологических исследований, результаты которых указывают на наличие корреляции между уровнем серологических маркеров хламидийной инфекции (иммуноглобулинов, иммунных комплексов) и развитием атеросклеротического поражения сосудов. Например, по данным Pekka Saikku (Национальный институт здоровья, Оулу, Финляндия), наблюдается отчетливая взаимосвязь между высоким уровнем серологических маркеров хламидийной инфекции и развитием ИБС.

Кроме того, согласно данным Martin Wimmer (Городская больница München-Harlaching, Мюнхен, Германия), эти же маркеры связаны и с развитием цереброваскулярных заболеваний.

В большинстве случаев исследователи проводили контролируемые сероэпидемиологические исследования, результаты которых даже с учетом статистических поправок на влияние сопутствующих традиционных факторов риска свидетельствовали о том, что при повышении уровня серологических маркеров *C. pneumoniae* риск развития атеросклероза увеличивается как минимум в 2 раза.

Первое проспективное исследование, продемонстрировавшее отчетливую взаимосвязь между уровнем IgA к *C. pneumoniae* и риском смерти в результате заболеваний сердца, было представлено в 1999 г. David Strachan (Университетский госпиталь Св. Георгия, Лондон, Великобритания). Однако результаты ряда эпидемиологических исследований не подтверждают наличия подобной связи между серологическими маркерами хламидийной инфекции и развитием ИБС.

Несмотря на использование почти во всех исследованиях метода *микрoиммунофлюоресценции* (МИФ), считающегося «золотым стандартом» серологических исследований на хламидии, для правильной интерпретации полученных данных нужен опытный специалист, профессионально владеющий техникой микроскопии. По этой причине определение хламидий с помощью МИФ носит выраженный субъективный характер, что в ряде случаев позволяет усомниться в воспроизводимости получаемых результатов.

До настоящего времени в качестве диагностически значимого критерия использовались различные значения титра антител, что затрудняло непосредственное сравнение результатов разных исследований. Традиционно считается, что присутствие в сыворотке больного антихламидийных антител классов А, G или M, как правило, свидетельствует о наличии соответственно рецидивирующей/персистирующей, хронической/ранее перенесенной или острой хламидийной инфекции. Однако истинная роль каждого из этих классов иммуноглобулинов как диагностических маркеров наличия инфекции пока остается спорной.

Имеются сообщения о том, что чувствительность и специфичность *иммуноферментного анализа* (ИФА) составляют 90% по сравнению с таковыми при применении МИФ. При этом ИФА менее трудоемок по сравнению с проведением МИФ, а интерпретация данных менее субъективна. Однако надежность и воспроизводимость этого метода нуждаются в дальнейшем изучении.

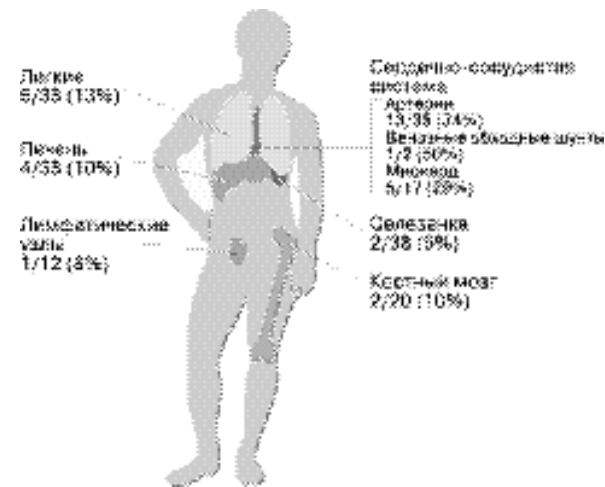
## Результаты, полученные при патогистологических исследованиях

В 1992 г. Allan Shor (факультет патологии Витватерсрандского университета, Южная Африка) при исследовании аутопсийного материала с помощью *электронной микроскопии* (ЭМС) обнаружил *C. pneumoniae* в пораженных атеросклерозом участках коронарных сосудов.

В последующем более чем в 25 исследованиях патогистологического материала подтвердилось, что различные маркеры *C. pneumoniae*, в том числе ДНК, специфичные белки и ЭТ, могут быть найдены в образцах различных типов артерий, включая венечные, сонные, бедренные, подколенные, аорту, а также в обтурированных шунтах сосудов.

Результаты подобных исследований зависят от выбранного метода, используемого для обнаружения *C. pneumoniae*: *иммуноцитохимический метод* (ИЦХМ), *полимеразная цепная реакция* (ПЦР) и ЭМС. Частота обнаружения *C. pneumoniae* в участках атероматозного поражения сосудов составляет около 50%, а в сосудах, не пораженных атеросклеротическим процессом, – 5%. В нескольких случаях из образцов атеросклеротически измененных сосудов были выделены жизнеспособные хламидии.

Доказательства присутствия *C. pneumoniae* были также обнаружены в легких, печени, селезенке, костном мозге, лимфатических узлах и в гранулематозной ткани. В связи с этим сторонники гипотезы «безвредного присутствия» утверждают, что *C. pneumoniae* может пассивно попадать в различные органы и



Частота обнаружения *C. pneumoniae* методом ПЦР или иммуноцитохимическим методом в образцах тканей, полученных при 38 аутопсиях. Данные выражены как соотношение числа положительных результатов к числу исследованных образцов

ткани сердечно-сосудистой системы. Например, в циркулирующих моноцитах они могут переноситься из дыхательных путей в атероматозно измененные участки сосудов и находиться в них в неактивном состоянии, не играя никакой этиологической роли в процессах атерогенеза и атеротромбоза.

Тем не менее в 1997 г. Liza Jackson et al. (медицинский факультет Вашингтонского университета, Сиэтл, Вашингтон) сообщили о том, что при исследовании тканей, полученных при 38 вскрытиях трупов, в различных органах и тканях сердечно-сосудистой системы *C. pneumoniae* обнаруживалась в 29–50% случаев, тогда как в других тканях – всего в 5–13%. Хламидии были найдены также в 3 (9%) из 33 исследованных образцов гранулематозной ткани. Указанные обстоятельства дали основание заключить, что, несмотря на преимущественную локализацию *C. pneumoniae* в пораженных отделах сердечно-сосудистой системы, это не доказывает ее роли в качестве повреждающего фактора, а высокая частота присутствия данного микроорганизма в органах и тканях этой системы не подтверждает гипотезу «безвредного присутствия» (см. рисунок).

Проведение анализа получаемых результатов осложняется отсутствием четкого соответствия между данными ЭМС, ИЦХМ и ПЦР, а также тем, что результаты, полученные любым из этих методов, трудно сравнить с результатами серологических исследований. Иными словами, должна быть разработана стандартизированная патогистологическая методика.

## Доказательства связи *C. pneumoniae* и атеросклероза, полученные молекулярно-биологическими исследованиями и моделированием на животных

В 30-х годах прошлого века R.L. Venson связал стрептококковую инфекцию с развитием атеросклероза у кроликов, а в конце 70-х годов С.Г. Fabricant сообщил о существовании подобной связи у цыплят, инфицированных вирусом герпеса. Недавно I.W. Fong (Госпиталь Св. Михаила, Торонто, Онтарио, Канада) установил, что у некоторых кроликов, инфицированных *C. pneumoniae*, развивается не только пневмония, но и формируются липидные полосы и повреждения аорты, соответствующие III стадии атеросклероза.

Применение антибиотиков может препятствовать развитию атеросклеротического поражения сосудов у определенных видов животных. Например, Joseph Muhlestein (лечебно-диагностическая клиника Университета штата Юта, Солт-Лейк-Сити, Юта, США) провел эксперимент, в котором кроликам, получавшим богатую холестерином пищу,

повторно ингалировали взвесь *C. pneumoniae* или физиологический раствор. Затем их рандомизировали на 2 группы: одна из них получала в течение 7 нед азитромицин, другая являлась контрольной. В результате у кроликов, получавших антибиотик, уплотнение аорты было выражено меньше по сравнению с животными, не получавшими этот препарат.

В то же время, согласно данным Не Ну (Манитобский университет, Виннипег, Манитоба, Канада), чтобы *C. pneumoniae* могла ускорить развитие атеросклероза, у грызунов должен быть повышенным уровень холестерина в сыворотке крови.

Таким образом, хламидии проявляют свои атерогенные свойства только у трансгенных мышей, имеющих высокий уровень холестерина в крови. Более того, такой эффект не наблюдается при инфицировании мышей *C. trachomatis* и характерен только для *C. pneumoniae*.

Бактериальный эндотоксин и выделяющийся фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) могут снижать образование оксида азота и простаглицина, что, в свою очередь, приводит к повреждению эндотелия сосудов и к образованию тромбов.

Поврежденный эндотелий имеет тенденцию абсорбировать и подвергать окислению липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), которые также обладают токсическим действием на эндотелий. В последующем в поврежденный эндотелий мигрируют моноциты, которые захватывают окисленные ЛПНП, образуя так называемые «пенистые клетки».

Выделяемые «пенистыми клетками» окисленные ЛПНП и цитотоксические ферменты способствуют выбросу дополнительных медиаторов воспаления и факторов роста, которые вызывают пролиферацию соединительной ткани в гладкомышечном слое стенки сосудов, формируя таким образом атеросклеротические бляшки.

По данным Murat Kalayoglu и Gerald Byrne (медицинский факультет Университета штата Висконсин, Мэдисон), липополисахарид клеточной стенки *C. pneumoniae* обладает способностью индуцировать превращение макрофагов в «пенистые клетки». В 1999 г. Kalayoglu et al. сообщили о том, что хламидийный протеин HSP60 активирует процесс внутриклеточного окисления ЛПНП.

HSP60 представляет собой высокостабильный стрессовый белок, обладающий широким спектром свойств. Он образуется в клетках при неблагоприятных условиях, таких, как лихорадка, острые и хронические инфекции, и помогает клеткам справляться с этими состояниями.

Более того, согласно исследованиям Amir Col

(клиника Брайема и Вумена, медицинский факультет Гарвардского университета, Бостон, Массачусетс), и хламидийный, и человеческий HSP60 содержатся в макрофагах атеросклеротических бляшек. Оба вида HSP60 активируют вырабатываемые макрофагами ФНО- $\alpha$  и цитоплазматические металлопротеиназы, которые способны нарушать структуру соединительной ткани и разрушать атеросклеротические бляшки.

Таким образом, хламидийные протеины HSP60 могут способствовать развитию процессов атерогенеза и атеротромбоза двумя способами: в качестве антигенов или межклеточных сигналов, активирующих макрофаги.

*C. pneumoniae* может также активировать процесс атерогенеза посредством вызываемых ею системных эффектов. Например, хламидии могут стимулировать продукцию белков острой фазы воспаления, таких, как фибриноген, представляющий собой хорошо известный фактор риска заболеваний сердечно-сосудистой системы, С-реактивный белок – объективный предиктор поражений сердца и сосудов, и неоптерин, являющийся воспалительным маркером.

Хроническая хламидийная инфекция может приводить к развитию гиперкоагуляции, способствующей тромбообразованию путем активации продукции моноцитами таких прокоагулянтов, как тромбопластин, а также путем регулирующих влияний на синтез других воспалительных маркеров – поверхностных рецепторов моноцитов CD11b/CD11c, увеличением общего количества лейкоцитов и стимуляцией экспрессии молекул адгезии VCAM-1/ICAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1/intercellular adhesion molecule-1*).

### **Результаты исследований по применению антибиотиков, связывающие *C. pneumoniae* с заболеваниями сердца**

По данным Enrique Gurfinkel (Институт Фавалоро, Буэнос-Айрес, Аргентина) и S. Gupta et al., как минимум 2 пилотных клинических исследования указывают на то, что короткие курсы лечения антихламидийными антибиотиками отчетливо снижают частоту развития ИБС, тогда как другие исследования опровергают эти данные.

В некоторых исследованиях по применению антибиотиков установлено, что макролиды обладают как противовоспалительной активностью, так и способностью тормозить рост атероматозных бляшек. Эта особенность препаратов данной группы затрудняет установление истинных механизмов участия хламидий в атерогенезе.

Из других антибиотиков, обладающих антихла-

мидийной активностью, препараты группы тетрациклина подавляют активность цитоплазматических металлопротеиназ макрофагов и таким образом могут тормозить рост атеросклеротических бляшек.

Чтобы установить, оправданно ли применение антибиотиков в целях возможной профилактики и лечения атеросклероза и, если оправданно, то каковы оптимальные дозы и продолжительность такого лечения, несомненно, требуется проведение широкомасштабных рандомизированных плацебоконтролируемых проспективных исследований.

В 1997 г. S. Gupta et al. провели пилотное рандомизированное плацебоконтролируемое исследование на небольшой группе пациентов, в анамнезе у которых зарегистрирован инфаркт миокарда. Повышение титра антихламидийных антител сочеталось с повышенной частотой патологических изменений со стороны сердечно-сосудистой системы, регистрировавшихся в течение 18 мес наблюдения.

Однако у пациентов с высоким титром антихламидийных антител (IgG  $\geq$  64), получавших азитромицин (по 500 мг один раз в сутки в течение 3 дней, 1 или 2 курса), частота развития сердечных приступов была почти такой же, как и в группе «серонегативных» пациентов: усредненное соотношение – 0,9 (0,2–4,6, *p* статистически незначимо). Для сравнения: у пациентов с повышенным титром антихламидийных антител, не рандомизированных или получавших плацебо, в последующем риск развития нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы был в 4 раза выше.

По данным E. Gurfinkel, в одном из пилотных исследований, в котором в качестве антибиотика использовался рокситромицин, было подтверждено, что препараты данной группы способны значительно снижать частоту поражений сердечно-сосудистой системы.

Данное исследование – «Рокситромицин в лечении ишемических синдромов» (ROXIS) – было рандомизированным и плацебоконтролируемым. В исследование включили 205 пациентов с нестабильной стенокардией или интрамуральным инфарктом миокарда. За 31-дневный период наблюдения в группе пациентов, получавших рокситромицин, общая частота таких нарушений, как инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, а также случаев смерти, связанных с заболеванием сердца, была значительно меньше по сравнению с таковой в контрольной группе и составила 2 против 9 ( $p=0,03$ ,  $P$  (с поправками) = 0,06).

В другом подобном исследовании, как сообщает Christoph Meier (Бостонская совместная программа по контролю за применением антибиотиков,

Медицинский центр Бостонского университета, Бостон, Массачусетс), в группе, насчитывавшей 3315 пациентов с впервые возникшей стенокардией, частота потребления антибиотиков группы тетрациклина и хинолонов в течение 3 лет, предшествовавших заболеванию, оказалась значительно ниже, чем в группе людей того же пола и возраста, но не страдавших заболеваниями сердца.

Однако в исследовании Jeffrey Anderson (клиника Университета штата Юта, Солт-Лейк-Сити) применение азитромицина не предотвращало развития приступов стенокардии. Несмотря на это, оказалось, что при лечении инфекции, вызванной *S. pneumoniae*, антибиотики все же дают определенный эффект, проявляющийся через 6 мес от начала лечения и основанный на снижении уровней таких воспалительных маркеров, как С-реактивный белок, интерлейкин-1, интерлейкин-6 и ФНО- $\alpha$ .

В настоящее время проводится несколько исследований по применению антибиотиков у пациентов с атеросклерозом, о результатах которых пока не сообщается. К ним относятся «Еженедельный прием зитромакса у пациентов с атеросклерозом» (WIZARD), «Возможности азитромицина в снижении риска развития сердечно-сосудистых заболеваний» (MARBLE), «Применение антибиотиков у жителей южного берега Темзы при инфаркте миокарда и стенокардии» (STAMINA), «Хорватское исследование по применению азитромицина при атеросклерозе» (CROATS), «Азитромицин и заболевания коронарных сосудов» (ACES).

В другие исследования по применению антибиотиков включены пациенты с атеросклерозом сосудов нижних конечностей и аневризмой брюшного отдела аорты.

### **Воспалительный ответ – ключ к пониманию роли *S. pneumoniae* в развитии атеросклероза**

Многие исследователи в настоящее время рассматривают атеросклероз как воспалительное заболевание. Идея о том, что микроорганизмы могут вызывать воспалительные или иммунообусловленные «неинфекционные» заболевания, не является новой. Подтверждением этому служит широкий круг примеров – от роли *H. pylori* при язвенной болезни и вируса Эпштейна–Барра при назофарингеальной карциноме до менее изученного значения *Tropheryma whipplei* в развитии болезни Уиппла и роли микобактерий при болезни Крона и саркоидозе.

Таким же образом инфекция может являться связующим звеном между воспалительным процессом и развитием атеросклероза.

Более сложным представляется вопрос: можно

**Постулаты Коха об инфекционных болезнях: *Chlamydia pneumoniae* при атеросклерозе в сравнении с *Helicobacter pylori* при язвенной болезни**

Постулат Коха	<i>C. pneumoniae</i> и атеросклероз	<i>H. pylori</i> и язвенная болезнь
Микроорганизм всегда присутствует в пораженной ткани	Не всегда	Не всегда
Из пораженной ткани может быть выделен жизнеспособный возбудитель	Да (не всегда)	Да (не всегда)
Инокуляция микроорганизма в организм чувствительного животного приводит к развитию болезни	Да	Да
Микроорганизм может быть найден в поврежденной ткани зараженного животного	Да	Да

ли называть атеросклероз инфекционным заболеванием, которое вызывается *C. pneumoniae*? В данном случае проблема состоит в том, что *C. pneumoniae* не всегда обнаруживается в тканях, пораженных атеросклеротическим процессом. Неудачи, связанные с обнаружением данного микроорганизма в тканях, могут быть обусловлены недостаточной чувствительностью имеющихся методов определения, низкой концентрацией *C. pneumoniae* в поврежденной ткани или быстрым исчезновением возбудителя.

И тем не менее *C. pneumoniae* локализуется преимущественно в пораженных атеросклерозом тканях сосудов. Иногда (но не во всех случаях) из атеромы могут быть выделены жизнеспособные хламидии. Это тоже может быть связано с несовершенством методов выделения, недостаточным количеством возбудителя в тканях или его низкой метаболической активностью. Так как хламидии способны персистировать в клетках макроорганизма в покое, то эрадикационная антибактериальная терапия возбудителя при этих условиях может оказаться неэффективной.

В экспериментах на животных в отношении *C. pneumoniae* были успешно подтверждены 2 из 4 постулатов Коха. Однако следует отметить, что относительно *H. pylori* и ее роли в развитии язвенной болезни подтверждены также еще не все из этих постулатов (см. таблицу).

При проведении экспериментов на трансгенных животных оказалось, что хламидийная инфекция взаимодействует с другими факторами риска сер-

дечно-сосудистых заболеваний, такими, как гиперлипидемия и сахарный диабет.

*C. pneumoniae* связана и с такими хорошо известными факторами риска развития атеросклероза, как курение, артериальная гипертензия, возраст и мужской пол. Из этого следует, что пожилой возраст и высокая распространенность курения среди мужчин могут явиться предрасполагающими факторами развития рецидивирующей хламидийной инфекции дыхательных путей.

Установление точного характера взаимодействия *C. pneumoniae* с этими факторами риска требует дальнейших исследований.

У лиц пожилого возраста атеросклероз остается серьезной проблемой. Очевидно, что насущной задачей здравоохранения и профилактической медицины является необходимость доказательства или опровержения роли такого фактора риска, как хламидийная инфекция. В случае если развитие сердечно-сосудистых заболеваний окажется связанным с влиянием *C. pneumoniae* на процесс воспаления, то их профилактика облегчится.

Однако в настоящее время недостаточно доказательств подобной связи. Возможно, метаанализ результатов многочисленных широкомасштабных исследований по применению антибиотиков и новых программ вакцинации сможет дать более точные ответы на эти вопросы. А до тех пор, пока не исключена возможность неоправданного применения антибиотиков, подобные лекарственные препараты не должны использоваться для лечения атеросклероза.

### Дополнительная литература

- Gupta S. Chronic infection in the aetiology of atherosclerosis – focus on *Chlamydia pneumoniae* [The John French Memorial Lecture]. *Atherosclerosis* 1999;143:1-6.
- Gupta S., Camm A.J. Chronic infection, Chlamydia and coronary heart disease. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 1999.
- Gupta S., Camm A.J. Is there an infective aetiology to atherosclerosis? *Drugs Aging* 1998;13:1-7.
- Gupta S., Kaski J.C. Chlamydia and coronary heart disease: an inflammatory idea? *Acute Coron Synd* 1999;2:42-8.
- Gurfinkel E., Bozovich G. *Chlamydia pneumoniae*: inflam-

- mation and instability of the atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 1998;140(Suppl.1):S31-5.
6. Lindholt J.S., Fasting H., Henneberg E.W., Ostergaard L. A review of *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Eur J Vas Endovas Surg* 1999;17:283-9.
  7. Muhlestein J.B. Bacterial infections and atherosclerosis. *J Invest Med* 1998;46:396-402.
  8. Nieto F.J. Infections and atherosclerosis: new clues from old hypothesis? *Am J Epidemiol* 1998;148:937-48.
  9. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
  10. Schussheim A.E., Fuster V. Antibiotics for myocardial infarction? A possible role of infection in atherogenesis and acute coronary syndromes. *Drugs* 1999;57:283-91.
  11. Taylor-Robinson D., Thomas B.J. *Chlamydia pneumoniae* in arteries; the facts, their interpretation, and future studies. *J Clin Pathol* 1998;51:793-7.
  12. Wong Y.-K., Gallagher P.J., Ward M.E. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Heart* 1999;81:232-8.



УДК 579.84.044:577.182

## Механизмы резистентности к аминогликозидам у нозокомиальных грамотрицательных бактерий в России: результаты многоцентрового исследования

Г.К. Решедько

НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Смоленск, Россия

Исследовались механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в 4 российских стационарах. Основным механизмом устойчивости являлась продукция аминогликозидомодифицирующих ферментов. Выявлены отличия в фенотипах резистентности к аминогликозидам. В *Смоленской областной клинической больнице* основными фенотипами устойчивости были гентамицин-тобрамицин [54,4% – фермент ANT(2'')] и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин [36,1% – фермент AAC(3)-V или комбинация ANT(2'')+AAC(3)-Ia]. В *Краснодарской краевой клинической больнице* преобладали те же фенотипы устойчивости к аминогликозидам. В *Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ* (Москва) наряду с фенотипами резистентности гентамицин-тобрамицин (29,2%) и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин (36,6%) выявлена перекрестная резистентность к аминогликозидам II и III поколений: фенотип устойчивости гентамицин-амикацин-

исепамицин [комбинация ферментов APH(3')-VI+AAC(3)-I] – у 4,9% штаммов, фенотип гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин [комбинация ферментов APH(3')-VI+ANT(2'')] – у 9,8%, фенотип гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин [комбинация ферментов AAC(6')-I+ANT(2'')] – у 4,9%. В *Главном военном клиническом госпитале (ГВКГ) им. Н.Н. Бурденко* (Москва) выявлены следующие фенотипы резистентности: гентамицин-тобрамицин [продукция ANT(2'')] – 20,4%, гентамицин-тобрамицин-нетилмицин [AAC(3)-V или комбинация ANT(2'')+AAC(6')-I] – 24,1%, гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин-исепамицин [комбинация APH(3')-VI+AAC(3)-V или APH(3')-VI+ANT(2'')+AAC(6')-I] – 12,9%, гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин [комбинация APH(3')-VI+ANT(2'')] – 25,9%, амикацин-исепамицин [фермент APH(3')-VI] – 11,1%.

**Ключевые слова:** аминогликозиды, нозокомиальные инфекции, эпидемиология, антибиотикорезистентность.

## Mechanisms of Resistance to Aminoglycosides in Gram-negative Nosocomial Bacteria in Russia: Results of Multicenter Study

G.K. Rechedko

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

The mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram-negative nosocomial

pathogens isolated in four Russian hospitals were studied. The most common and almost exclusive mechanism of aminoglycoside resistance was production of aminoglycoside-modifying enzymes. Various phenotypes of resistance were found. In *Smolensk Regional Hospital* the most common phenotype of resistance was gentamicin-

Контактный адрес:

Галина Константиновна Решедько

214019, Смоленск, а/я 5

Факс: (0812) 61-12-94

Эл. почта: galina@antibiotic.ru

tobramycin (54,4%, due to ANT(2'') enzyme) and gentamicin-tobramycin-netilmycin (36,1% – AAC(3)-V or combination of ANT(2'')+AAC(3)-Ia enzymes). The same phenotypes were predominant in *Krasnodar Regional Hospital*. In *Central Clinical Hospital (Moscow)* in addition to gentamicin-tobramycin (29,2%) and gentamicin-tobramycin-netilmycin (36,6%) phenotypes the cross-resistance to 2nd and 3rd aminoglycoside generations has been found: gentamicin-amikacin-isebamycin phenotype of resistance [due to combination of APH(3')-VI+AAC(3)-I enzymes] – in 4,9% of strains, gentamicin-tobramycin-amikacin-isebamycin phenotype [due to combination of APH(3')-VI+ANT(2'')] – in 9,8%, gentamicin-tobramycin-netilmycin-amikacin phenotype [due to combina-

tion of AAC(6')-I+ANT(2'') enzymes] – in 4,9%. In *Main Military Clinical Hospital (Moscow)* the following resistance phenotypes were detected: gentamicin-tobramycin [production of ANT(2'') enzyme] – 20,4%, gentamicin-tobramycin-netilmycin [AAC(3)-V or combination of ANT(2'')+AAC(6')-I enzymes] – 24,1%, gentamicin-tobramycin-netilmycin-amikacin-isebamycin [due to combination of APH(3')-VI+AAC(3)-V or APH(3')-VI+ANT(2'')+AAC(6')-I enzymes] – 12,9%, gentamicin-tobramycin-amikacin-isebamycin [due to combination of APH(3')-VI+ANT(2'') enzymes] – 25,9%, amikacin-isebamycin [APH(3')-VI enzyme] – 11,1%.

**Key words:** aminoglycosides, nosocomial infections, epidemiology, antimicrobial resistance.

## Введение

Наблюдаемый в последние годы рост частоты нозокомиальных инфекций [1] выдвигает повышенные требования к антибактериальной терапии. Основным фактором, ограничивающим эффективность антибиотиков, является формирование и распространение устойчивой микрофлоры. Несмотря на повышение роли грамположительных микроорганизмов в этиологии нозокомиальных инфекций, аэробные грамотрицательные патогены по-прежнему являются доминирующими в стационарах лечебно-профилактических учреждений России [2, 3].

Самым распространенным подходом к терапии грамотрицательных инфекций является назначение комбинации  $\beta$ -лактамов антибиотиков и аминогликозидов, прежде всего II и III поколений (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин) [4]. Однако с каждым годом возрастает число случаев неудач терапии нозокомиальных инфекций, вызванных штаммами, устойчивыми к действию этих антибиотиков [5–9].

Наиболее эффективный путь преодоления резистентности микроорганизмов – создание новых препаратов [10]. Однако реализация такого подхода требует определенного времени и значительных материальных затрат. Более реальный путь борьбы с резистентностью – формирование разумной политики применения антибиотиков, основанной на данных об общих и локальных тенденциях распространения детерминант антибиотикорезистентности [11, 12, 13].

Для антибиотиков в целом и аминогликозидов в частности характерна выраженная зависимость распространения детерминант резистентности от локальных особенностей использования препара-

тов [14, 15]. Рутинная оценка чувствительности к антибиотикам, проводимая в бактериологических лабораториях, не позволяет надежно прогнозировать тенденции распространения устойчивости к аминогликозидам и соответственно осуществлять перспективное планирование выбора антибиотиков [16, 17]. Поэтому большое значение имеет изучение механизмов резистентности к аминогликозидам у клинических изолятов [18, 19].

Основным механизмом устойчивости микроорганизмов к аминогликозидам является модификация молекулы антибиотика бактериальными *аминогликозидомодифицирующими ферментами* (АГМФ). Фосфорилированные, ацетилованные или аденилированные аминогликозиды не способны эффективно связываться с бактериальными рибосомами и нарушать синтез белка, а следовательно, и жизнедеятельность микробной клетки [20, 21, 22].

Механизмы устойчивости изучаются во многих странах [23, 24, 25]. Институт Schering-Plough (США) организовал исследование резистентности к аминогликозидам в 13 странах и представил их в суммарном обзоре. Результаты исследований показали, что штаммы, продуцирующие АГМФ, широко распространены в клиниках многих стран мира.

Так, например, в Греции преобладают ферменты, модифицирующие нетилмицин и амикацин, в Германии – гентамицин и тобрамицин, а в странах Латинской Америки ферменты, модифицирующие гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин, встречаются с одинаковой частотой [26]. В России имеются только отдельные сообщения о механизмах резистентности к аминогликозидам у клинических изолятов [27].

## Материал и методы исследования

В исследование были включены пациенты с зоокомиальными инфекциями, находившиеся на лечении в многопрофильных стационарах – *Смоленской областной клинической больницы (СОКБ), Главном военном клиническом госпитале (ГВКГ) им. Н.Н. Бурденко (Москва), Центральной клинической больницы (ЦКБ) при Управлении делами Президента РФ (Москва) и Краснодарской краевой клинической больницы (КККБ)*. Пациенты лечились в отделениях с интенсивным использованием антибактериальных препаратов: во взрослом и детском реанимационных отделениях, отделениях хирургической инфекции и торакальной хирургии, ожоговом и урологическом отделениях.

Отделяемое из ран доставляли в лабораторию в транспортных системах Culturette II и Mini-Tip Culturette (BBL, США), кровь – во флаконах Hemoline (bioMerieux, Франция), мокроту и мочу – в стерильных контейнерах (Sarstedt, Германия). Посев клинического материала проводили на селективные среды МакКонки и Эндо (BBL, США).

Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием систем API20E и API20NE (bioMerieux, Франция), определение чувствительности микроорганизмов – согласно рекомендациям Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS) диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона с помощью дисков с антибиотиками (BBL, США), а также полосок E-тест (AB Biodisk, Швеция) на агаре PDM ASM II (AB Biodisk, Швеция) [28, 29].

Полученные результаты интерпретировали в соответствии с критериями NCCLS [28, 29]. Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием контрольных штаммов из Американской коллекции типовых культур (ATCC) *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Для дальнейшего исследования отбирали штаммы, резистентные к одному или более аминогликозидному антибиотику: канамицину, гентамицину и амикацину.

Для определения типов АГМФ использовали фенотипический метод, основанный на соответствии профиля резистентности исследуемого микроорганизма субстратной специфичности вырабатываемого фермента. Для этого использовали диски с 12 аминогликозидами: фортимицином (Fm, 100 мкг/диск), 6'-этилнетилмицином (6Nt, 100 мкг), 2'-этилнетилмицином (2Nt, 100 мкг), 5-ОН-эписизомицином (5Ss, 10 мкг), апрамицином (Am, 100 мкг), исепамицином (Im, 30 мкг), амикацином (30 мкг), гентамицином (10 мкг), тобрамицином

(10 мкг), неомицином (30 мкг), нетилмицином (Nt, 30 мкг) и канамицином (30 мкг).

Диски с фортимицином, 6'-этилнетилмицином, 2'-этилнетилмицином, 5-ОН-эписизомицином, апрамицином были предоставлены профессором G. Miller (Schering Corp., Bloomfield, N.J., США). Диски с исепамицином, амикацином, гентамицином, тобрамицин, неомицином, нетилмицином и канамицином были коммерческого изготовления (BBL, США).

Дополнительно для изучения типов продуцируемых штаммами аминогликозидфосфотрансфераз с помощью метода разведения в агаре определяли *минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) ливидомицина (Lm) и бутирозина (Bt) для тестируемых возбудителей. Типы АГМФ определяли по методике G. Miller (США) [30].

Принцип определения изложен в табл. 1.

Несколько не применяемых в практике аминогликозидов (2'-этилнетилмицин и 6'-этилнетилмицин) были включены для того чтобы точно определить различные механизмы резистентности, обусловленной продукцией ферментов AAC(2'), AAC(6'), AAC(3)-V и ANT(2''), поскольку эти антибиотики имеют 2'- и 6'-аминогруппы соответственно инвертированно по сравнению с нетилмицином (табл. 2).

5-Эписизомицин был включен для отличия между ANT(2'') и AAC(3)-III – ферментов, которые оба инактивируют гентамицин, тобрамицин и канамицин. В результате инверсии гидроксильной группы в положении 5 второго кольца 5-эписизомицин является плохим субстратом для ANT(2'')-I, но инактивируется ацетилтрансферазой AAC(3)-III (табл. 3). К тому же 5-эписизомицин является плохим субстратом для AAC(2'), AAC(3)-I, AAC(3)-VI, но может быть использован для выявления продукции AAC(3)-V и AAC(6')-I и AAC(6')-II.

Фортимицин и апрамицин использовались для выявления нарушения проницаемости наружной клеточной мембраны или для определения ферментов, которые могут модифицировать фортимицин или апрамицин (табл. 4).

Важный принцип определения АГМФ (с использованием метода AGRP) – исследование не абсолютной, а изменения относительной активности ко всем 12 аминогликозидам.

Для подтверждения результатов, полученных фенотипическим методом, а также возможного выявления резистентности, связанной с изменением мишени действия аминогликозидов (рибосомальной РНК), была проведена ДНК–ДНК гибридизация на фильтрах Nep фирмы “Du Pont” (США) по методу T. Gootz et al. Для получения радиоактивно-

Таблица 1. Определение типов аминогликозидомодифицирующих ферментов на основании субстратной специфичности\*

Аминогликозид	Тип фермента							
	ANT (2'')	AAC (6')-I	AAC (3)-I	AAC (3)-Ia	AAC (3)-V	APH (3')-I	APH (3')-II	APH (3')-VI
Гентамицин	+	±	+	+	+	-	-	-
Тобрамицин	+	+	-	-	+	-	-	-
Амикацин	-	+	-	-	-	-	-	+
Нетилмицин	-	+	-	+	+	-	-	-
Изапамицин	-	±	-	-	-	-	-	+
2'-Этилнетилмицин	-	+	-	+	+	-	-	-
6'-Этилнетилмицин	-	-	-	+	+	-	-	-
Фортимицин	-	-	+	-	-	-	-	-
Апрамицин	-	-	-	-	-	-	-	-
5-ОН-Эписизомицин	-	+	-	-	-	-	-	-
Канамицин	+	-	-	-	-	+	+	+
Неомицин	-	-	-	-	-	+	+	±
Ливидомицин	-	-	-	-	-	+	-	-
Бутирозин	-	-	-	-	-	-	+	-

\* Плюс (+) – является субстратом для фермента, минус (-) – не является субстратом, плюс-минус (±) – признак не постоянен.

меченных зондов использовали 0,2–0,4 мкг ДНК фрагментов, ник-трансляционный набор «Amersham» (Великобритания) и дезокси-[ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ЦТФ отечественного производства, а в качестве ДНК-зондов – внутренние фрагменты генов, кодирующих следующие АГМФ: ANT(2''), AAC(3)-V, APH(3')-I (полученные в лаборатории ГНЦА).

Все исследованные штаммы были параллельно тестированы с помощью метода ДНК–ДНК гибридизации в Институте Schering-Plough (США) с использованием зондов ANT-2''-a, AAC-3-I, AAC-3-Va, AAC-3-Vb, AAC-2'-Ia, AAC-6'-Ib, AAC-6'-Ic, APH-3'-I, APH-3'-II, APH-3'-VI, ANT-4'-II, ANT-3'', ANT-4'-I, APH-2''+6', APH-3'-III, AAC-3-IV, AAC-6'-Ia, ANT-6-Ia, AAC-3-Ib, AAC-6'-IIb, AAC-6'-If, r-RNA.

### Результаты исследования

Всего в исследование было включено 569 пациентов с нозокомиальными инфекциями, из них в СОКБ – 289, в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко – 93, в ЦКБ – 95, в КККБ – 92. Уровень резистентности выделенных грамотрицательных бактерий к гентамицину в СОКБ составил в 1993 г. 74%, в 1994 г. – 77%, в 1995 г. – 71%. В КККБ устойчивость к гентамицину в 1995 г. составила 69%. В ЦКБ частота резистентности к гентамицину составила в 1995 г. 58%, к амикацину – 10%. В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко частота резистентности у госпитальных аэробных грамотрицательных штаммов к гентамицину составила 46%, к амикацину – 29%.

### Смоленская областная клиническая больница

Для исследования механизмов резистентности грамотрицательных бактерий, выделенных в СОКБ, были отобраны 158 штаммов. Из них 101 – представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* – 6, *Enterobacter* spp. – 11, *Klebsiella pneumoniae* – 50, *Proteus mirabilis* – 34), 21 штамм *Acinetobacter* spp. и 36 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.

Из всех исследованных штаммов 155 (98,1%) были устойчивы к гентамицину в результате продукции различных АГМФ. Наиболее распространенными ферментами явились ANT(2'') и AAC(3)-V, которые были определены у 90,5% исследованных штаммов: у 54,4 и 36,1% соответственно. Нуклеотидилтрансфераза ANT(2'') обуславливала перекрестную резистентность к гентамицину и тобрамицину. В результате продукции ацетилтрансферазы AAC(3)-V штаммы обладали перекрестной устойчивостью к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину, а также к полусинтетическим производным нетилмицина – к 2'-этилнетилмицину и 6'-этилнетилмицину.

Резистентность к канамицину, неомицину, мономицину и ливидомицину в результате продукции фермента фосфотрансферазы APH(3')-I отмечена у 113 (71,5%) штаммов, из них 6 изолятов были также резистентны к бутирозиону за счет дополнительной продукции APH (3')-II.

Резистентность к амикацину выявили лишь у

Таблица 2. Отличия некоторых ацетилтрансфераз и ANT(2'') на основании субстратной специфичности

Фермент	Нетилмицин	2'-Этилнетилмицин	6'-Этилнетилмицин
AAC(3)-V	+	+	+
AAC(2')	+	-	+
AAC(6')-I	+	+	-
ANT(2'')	-	-	-

Таблица 3. Отличие ANT(2'') от AAC(3)-III на основании субстратной специфичности

Фермент	Гентамицин	Тобрамицин	Канамицин	5-Эписизомицин
ANT(2'')-I	+	+	+	-
AAC(3)-III	+	+	+	+

Таблица 4. Отличия ацетилтрансфераз AAC(3)-I от AAC(3)-IV по их субстратной специфичности

Механизм резистентности	Фортимицин	Апрамицин
AAC(3)-I	+	-
AAC(3)-IV	-	+
Нарушение проницаемости	+	+

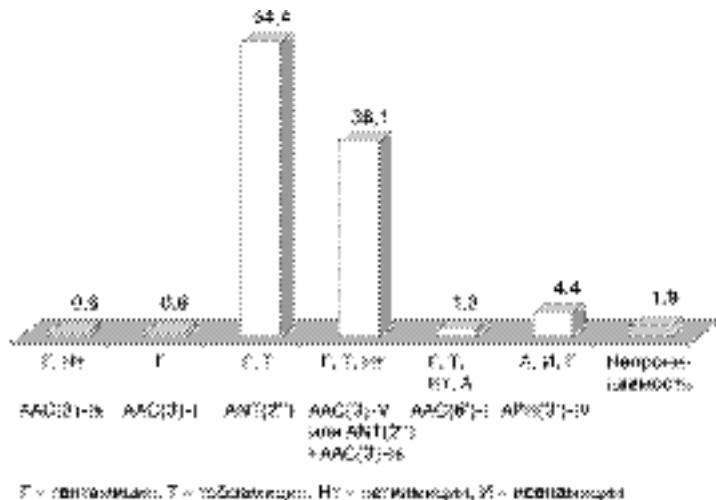


Рис. 1. Частота распространения основных фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Смоленской областной клинической больнице, %

7 (4,4%) тестируемых штаммов, что было обусловлено ферментом APH(3')-VI. Все эти штаммы были также устойчивы к канамицину и исепамицину за счет продукции данного фермента.

Большинство микроорганизмов продуцировало

два фермента, в некоторых случаях – три (в различных комбинациях). Наиболее частыми комбинациями ферментов явились ANT(2'')+APH(3')-I и AAC(3)-V+APH(3')-I. Из 87 штаммов, продуцировавших нуклеотидилтрансферазу ANT(2''), 56 (64,4%) одновременно вырабатывали APH(3')-I. Таким образом, эти микроорганизмы были одновременно устойчивы к канамицину, неомицину, гентамицину и тобрамицину.

Из 55 штаммов, вырабатывавших ацетилтрансферазу AAC(3)-V, 47 (85,5%) одновременно продуцировали фосфотрансферазу APH(3')-I и обладали резистентностью к канамицину, неомицину, гентамицину, тобрамицину, нетилмицину, то есть к большинству аминогликозидов I и II поколений.

Достаточно редкой оказалась комбинация трех ферментов APH(3')-VI+AAC(3)-I+APH(3')-I, которая выявлялась у 7 штаммов и которые в результате были одновременно устойчивы к большинству аминогликозидов всех трех поколений – канамицину, неомицину, гентамицину, амикацину и исепамицину. Остальные комбинации АГМФ встречались у отдельных изолятов.

Как видно из данных рис. 1, основными фенотипами устойчивости у грамотрицательных нозокомиальных возбудителей в СОКБ явились гентамицин-тобрамицин и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин.

Отмечены определенные отличия в типах АГМФ и их комбинаций у различных семейств грамотрицательных бактерий, а также в пределах одного семейства между родами.

*P. aeruginosa*,  $n=36$  (табл. 5). Один штамм был резистентен ко всем аминогликозидам за счет непроницаемости наружной клеточной мембраны, другой штамм обладал устойчивостью к аминогликозидам I поколения – канамицину и неомицину в результате продукции APH(3')-I, но был чувствителен к аминогликозидам II и III поколений – гентамицину, тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину.

Обладали устойчивостью к гентамицину в результате продукции различных ферментов 34 штамма. Из них большая часть, 26 (76,5%), вырабатывала фермент ANT(2'') и характеризовалась од-

Таблица 5. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *P. aeruginosa* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2 <sup>o</sup> )	К, Г, Т	26/36 (72,2)
+ АРН(3')-I	К, Г, Т, Н	15/26 (57,7)
ААС(3)-V	Г, Т, Нт	8/36 (22,2)
+ АРН(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	6/8 (75,0)
АРН(3')-I	К, Н	1/36 (2,8)
Непроницаемость	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/36 (2,8)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

новременной резистентностью к тобрамицину и канамицину, 15 (57,7%) из 26 были также устойчивы к неомицину в результате одновременной продукции АРН(3')-I. Остальные 8 (23,5%) гентамицино-резистентных штаммов были также нечувствительны к тобрамицину, нетилмицину в результате выработки ацетилтрансферазы ААС(3)-V, из них у 6 (75,0%) отмечалась устойчивость к канамицину и неомицину за счет продукции АРН(3')-I.

Таким образом, из 36 исследованных штаммов *P. aeruginosa* 35 (97,2%) обладали перекрестной резистентностью к гентамицину и тобрамицину, причем 1 – в результате непроницаемости, а 34 – за счет выработки АГМФ.

Только один из исследованных штаммов *P. aeruginosa* был резистентен к амикацину и исепамицину, однако не за счет продукции АГМФ, а в результате непроницаемости наружной клеточной мембраны.

***P. mirabilis*, n=34** (табл. 6). Все изученные штаммы были устойчивы к гентамицину. Однако большая часть (79,4%) обладала перекрестной резистентностью к тобрамицину и нетилмицину за счет

Таблица 6. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *P. mirabilis* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2 <sup>o</sup> )	К, Г, Т	6/34 (17,6)
+ АРН(3')-I	К, Г, Т, Н	5/6 (83,3)
ААС(3)-V	Г, Т, Нт	27/34 (79,4)
+ АРН(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	25/27(92,6)
+ АРН(3')-II	К, Г, Т, Нт, Н	6/25 (24,0)
Непроницаемость	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/34 (2,9)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

продукции фермента ААС(3)-V, а 6 изолятов – только к тобрамицину в результате выработки ANT(2<sup>o</sup>). Из 27 штаммов, продуцировавших ацетилтрансферазу ААС(3)-V, 25 (92,6%) были резистентны к канамицину и неомицину за счет дополнительной выработки АРН(3')-I, а 6 – одновременно продуцировали АРН(3')-II. Следует отметить, что в данном исследовании продукцию фосфотрансферазы АРН(3')-II наблюдали только у *Proteus* spp.

Практически все штаммы (5 из 6), резистентные к гентамицину и тобрамицину, оказались также устойчивыми к канамицину и неомицину – выработка АРН(3')-I. Только один штамм был полностью резистентен ко всем амино-гликозидам в результате непроницаемости наружной клеточной стенки. Не выявлено ни одного изолята, вырабатывающего амикациномодифицирующие и исепаминодифицирующие ферменты (табл. 6).

Таким образом, хотя основные фенотипы резистентности у *P. mirabilis* были подобны фенотипам, определенным у *P. aeruginosa*, у бактерий рода *Proteus* гораздо выше был процент штаммов, устойчивых к нетилмицину.

***E. coli*, n=6.** Из 6 штаммов 5 были резистентны к гентамицину и тобрамицину за счет выработки двух типов ферментов – ANT(2<sup>o</sup>) и ААС(3)-V. Причем один из штаммов, продуцировавших ААС(3)-V, вырабатывал также АРН(3')-I и был резистентен к канамицину и неомицину. Один штамм продуцировал ацетилтрансферазу ААС(3)-I – вместе с АРН(3')-I. В результате он был устойчив к гентамицину, канамицину и неомицину, но тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин проявляли к нему хорошую активность.

***K. pneumoniae*, n=50** (табл. 7). Основным ферментом, вырабатываемым *K. pneumoniae*, был ANT(2<sup>o</sup>) – 43 (86%), что приводило к нечувствительности к канамицину, гентамицину и тобрамицину. Больше половины этих бактерий – 27 (62,8%) – были также резистентны и к неомицину – одновременная продукция АРН(3')-I.

Другим значимым механизмом резистентности явилась выработка фермента ААС(3)-V у 8 (16%) штаммов, обусловившая перекрестную устойчивость к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину. Из них 7 штаммов были также нечувствительны к канамицину и неомицину – продукция АРН(3')-I. У одного штамма отмечена довольно редкая комбинация

Таблица 7. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *K. pneumoniae* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2 <sup>o</sup> )	К, Г, Т	43/50 (86,0)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Н	27/43 (62,8)
+ AAC(3)-V	К, Г, Т, Нт	1/43 (2,3)
AAC(3)-V + APH(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	7/50 (14,0)
+ AAC(3)-I	К, Г, Т, Нт, Н	1/7 (14,3)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин.

Таблица 8. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *Enterobacter spp.* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
AAC(3)-V	Г, Т, Нт	9/11 (81,8)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	7/9 (77,8)
+ ANT(2 <sup>o</sup> )	К, Г, Т, Нт, Н	1/9 (11,1)
AAC(6')-I + APH(3')-I + AAC(3)-I	К, Г, Т, Нт, Н, А	2/9 (22,2)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин.

ANT(2<sup>o</sup>) и AAC(3)-V. Резистентность к гентамицину и фортимицину за счет ацетилтрансферазы AAC(3)-I установлена лишь у одного штамма *K. pneumoniae*. Он был также резистентен к тобрамицину, нетилмицину – одновременная продукция AAC(3)-V канамицину и неомицину – выработка APH(3')-I.

*Enterobacter spp.*, *n*=11 (табл. 8). Большинство штаммов *Enterobacter spp.* (81,8%) оказалось нечувствительными к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину в результате выработки ацетилтрансфе-

разы AAC(3)-V. Из них 6 также не были чувствительны к аминогликозидам I поколения – канамицину и неомицину, что обусловлено продукцией APH(3')-I.

Необходимо отметить, что 2 штамма *Enterobacter spp.* продуцировали фермент, который не был характерен для других представителей семейства *Enterobacteriaceae*, – ацетилтрансферазу AAC(6')-I, обуславливающую перекрестную резистентность к тобрамицину, нетилмицину, канамицину и значительно снижающую активность амикацина.

Кроме того, эти штаммы были одновременно устойчивы к гентамицину в результате выработки AAC(3)-I, а также к канамицину и неомицину за счет фосфотрансферазы APH(3')-I.

*Acinetobacter spp.*, *n*=21 (табл. 9). Из 21 штамма *Acinetobacter spp.* 7 (33,3%) были высокорезистентными к амикацину, исепамицину и канамицину за счет продукции фосфотрансферазы APH(3')-VI. Они были устойчивыми к гентамицину в результате продукции AAC(3)-I и к неомицину – благодаря выработке APH(3')-I, а также умеренно резистентными к остальным аминогликозидам за счет снижения проницаемости наружной клеточной мембраны.

Один (4,8%) штамм был нечувствителен ко всем аминогликозидам в результате непроницаемости наружной клеточной мембраны, 11 (52,4%) штаммов – к канамицину, гентамицину и тобрамицину в результате продукции фермента ANT(2<sup>o</sup>), причем 10 (90,9%) из них отличались также устойчивостью к неомицину за счет выработки APH(3')-I, но сохраняли чувствительность к нетилмицину, амикацину и исепацину.

Таблица 9. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *Acinetobacter spp.* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2 <sup>o</sup> )	К, Г, Т	11/21 (52,4%)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Н	9/11 (81,8)
+ AAC(3)-Ia + APH(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	1/11 (9,1)
AAC(3)-V + APH(3')-I	К, Н, Г, Т, Нт	1/21 (4,8)
AAC(3)-I + AAC(3)-Ia + APH(3')-I	К, Н, Г, Нт	1/21 (4,8)
APH(3')-VI + AAC(3)-I + APH(3')-I	А, И, Г, К, Н	7/21 (33,3)
Непроницаемость клеточной оболочки	+ Снижение проницаемости	А, И, Г, К, Н
	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/21 (4,8)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

Таблица 10. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Краснодарской краевой клинической больнице

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2 <sup>o</sup> )		К, Г, Т	28/59 (47,5)
+ APH(3')-I и/или APH(3')-II		К, Н, Г, Т	26/28 (92,9)
+ APH(3')-I	+ AAC(3)-Ia	К, Н, Г, Т, Нт	3/26 (11,5)
		+ AAC(3)-I	1/3
		+ APH(3')-VI	1/3
AAC(3)-V	+ APH(3')-I и/или APH(3')-II	К, Н, Г, Т, Нт	20/59 (33,9)
AAC(3)-I	+ APH(3')-II	К, Н, Г	2/59 (3,4)
AAC(3)-I	+ AAC(3)-Ia	К, Н, Г, Нт	1/59 (1,7)
AAC(3)-IV	+ APH(3')-I	Г, Т, Нт	2/59 (3,4)
AAC(6')-II	+ APH(3')-II	К, Н, Г, Т, Нт	2/59 (3,4)
APH(3')-II		К, Н	4/59 (6,8)

Примечание: К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

Резистентны к канамицину, неомицину, гентамицину, тобрамицину и нетилмицину были 2 штамма: один продуцировал комбинацию ферментов AAC(3)-V и APH(3')-I, второй – комбинацию ферментов AAC(3)-Ia, ANT(2<sup>o</sup>) и APH(3')-I.

### Краснодарская краевая клиническая больница

Всего в КККБ было исследовано 59 устойчивых к аминогликозидам клинических изолятов грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter* spp. – 7, *Alcaligenes faecalis* – 1, *Citrobacter freundii* – 1, *E. coli*

– 1, *Enterobacter* spp. – 2, *K. pneumoniae* – 6, *P. aeruginosa* – 33, *Proteus* spp. – 8.

Как следует из данных табл. 10, основными типами продуцируемых ферментов явились ANT(2<sup>o</sup>) – 47,5% и AAC(3)-V – 33,9%. В результате выработки этих типов ферментов, а также AAC(3)-IV и AAC(6')-II из 59 штаммов 52 (88,1%) обладали перекрестной резистентностью к гентамицину и тобрамицину.

Ацетилтрансферазы AAC(3)-V, AAC(3)-IV и AAC(6')-II обусловили у 24 (40,7%) штаммов одновременную устойчивость к нетилмицину. Большинство (92,3%) гентамицино- и тобрамицинорезистентных штаммов обладали устойчивостью к канамицину и неомицину, так как вырабатывали фосфотрансферазы APH(3')-I и APH(3')-II. Только один штамм (*Acinetobacter* spp.) был резистентен к амикацину и исепамицину в результате продукции APH(3')-VI.

Резистентностью к гентамицину [продукция AAC(3)-I], канамицину и неомицину [выработка APH(3')-II] при сохранении чувствительности к остальным аминогликозидам (тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину) отличались 2 из штамма: у одного отмечалась резистентность гентамицину и нетилмицину [продукция AAC(3)-Ia] и к аминогликозидам I поколения [APH(3')-I] при сохранении чувствительности к тобрамицину, амикацину и исепамицину.

На рис. 2 представлены фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III

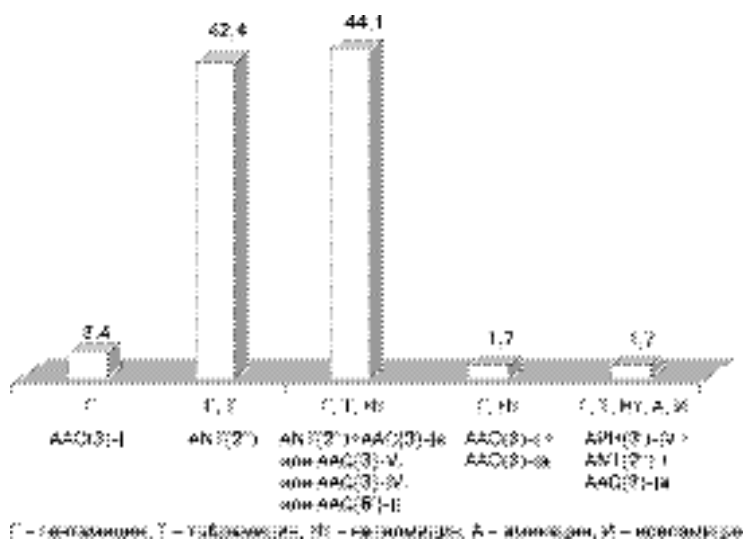


Рис. 2. Частота распространения основных фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Краснодарской краевой клинической больнице, %



поколений, полученные у клинических изолятов в КККБ.

**Центральная клиническая больница  
при Управлении делами Президента РФ  
(Москва)**

Для определения механизмов резистентности был отобран 41 штамм грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter* spp. – 6, *E. coli* – 3, *Enterobacter* spp. – 3, *K. pneumoniae* – 4, *P. aeruginosa* – 19, *P. mirabilis* – 3, *Serratia* spp. – 3.

Как видно из данных табл. 11, основным фенотипом резистентности в ЦКБ оказался гентамицин-тобрамицин-нетилмицин, обусловленный выработкой ацетилтрансферазы AAC(3)-V. Этот фенотип резистентности выявлен у 13 (31,7%) штаммов, причем 11 (84,6%) из них были также устойчивы к канамицину и неомицину за счет продукции фосфотрансфераз APH(3')-I или APH(3')-II, или обеих сразу. Однако один из этих штаммов сохранял чувствительность к неомицину, но был не резистентен к канамицину [ANT(2'').

Резистентностью к гентамицину, тобрамицину и канамицину отличались 12 (29,3%) штаммов, но были чувствительны к нетилмицину, так как вырабатывали аденилтрансферазу ANT(2''), причем 10 из них были также устойчивы к неомицину [продукция APH(3')-I или APH(3')-II]. Эти бактерии оказались чувствительными к амикацину и исепамицину. Один штамм был резистентен только к одному из аминогликозидов II поколения – гентамицину – в результате продукции AAC(3)-I и к аминогликозидам I поколения – канамицину и неоми-

цину – за счет фермента APH(3')-II. При этом он сохранял чувствительность к тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину.

Устойчивость только к аминогликозидам I поколения – канамицину и неомицину – наблюдали у 4 (9,8%) изолятов в результате выработки APH(3')-I. Резистентность к амикацину была выявлена у 8 (19,5%) госпитальных грамотрицательных бактерий, из них 2 штамма *P. aeruginosa* и 4 штамма *Acinetobacter* spp. проявляли устойчивость и к исепамицину [обусловлено фосфотрансферазой APH(3')-VI]. Эти изоляты *P. aeruginosa* отличались также нечувствительностью к гентамицину в результате выработки AAC(3)-I и к канамицину и неомицину за счет продукции APH(3')-II. Однако они сохраняли чувствительность к тобрамицину и нетилмицину.

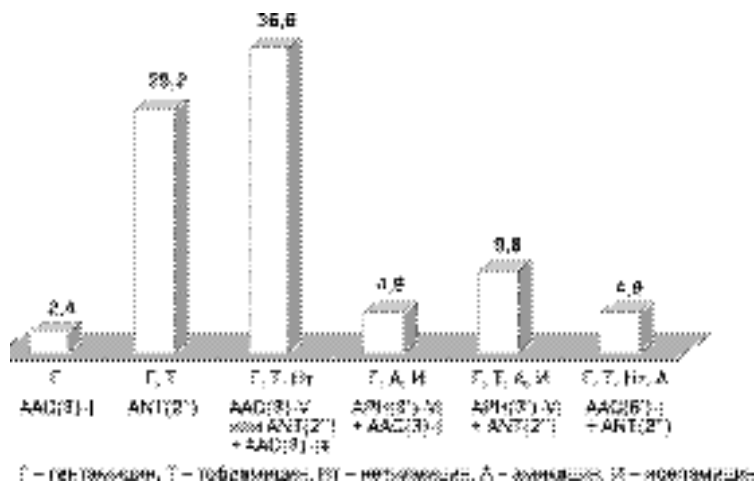
Амикацинорезистентные штаммы *Acinetobacter* spp. характеризовались одновременной устойчивостью ко всем используемым в клинической практике аминогликозидам I и II поколений, так как вырабатывали еще 3 типа модифицирующих ферментов: AAC(3)-Ia, ANT(2'') и APH(3')-I. Остальные 2 штамма сохраняли чувствительность к амикацину и исепамицину, в то же время были устойчивы к гентамицину, тобрамицину, канамицину [ANT(2'')] и нетилмицину [AAC(3)-Ia], а один из них – к неомицину [APH(3')-I].

Резистентные к амикацину 2 изолята *Serratia* spp. сохраняли чувствительность к исепамицину, но были устойчивы к тобрамицину, нетилмицину и канамицину [за счет фермента AAC(6')-I], к гентамицину (ANT(2'')) и к неомицину [APH(3')-I]. Полученные

**Таблица 11. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ**

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов	
AAC(3)-V		Г, Т, Нт	13/41 (31,7)	
	+APH(3')-I или APH(3')-II	К, Г, Т, Нт, Н	9/13 (69,2)	
	+APH(3')-I или APH(3')-II	+ ANT(2'')	2/13 (15,4)	
		+ ANT(2'')	1/13 (7,7)	
ANT(2'')		К, Г, Т	14/41 (34,1)	
	+APH(3')-I или APH(3')-II	К, Н, Г, Т	10/14 (71,4)	
	+ AAC(3)-Ia	К, Г, Нт, Т	1/14 (7,1)	
	+ AAC(3)-Ia	+ APH(3')-I	1/14 (7,1)	
APH(3')-VI	+ AAC(3)-I	+ APH(3')-II	2/41 (4,9)	
	+ AAC(3)-Ia	+ APH(3')-I	+ ANT(2'')	4/41 (9,8)
	+ ANT(2'')	+ APH(3')-I		2/41 (4,9)
AAC(6')-I	+ APH(3')-II	Г, К, Н	1/41 (2,4)	
AAC(3)-I		К, Н	5/41 (12,2)	

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.



**Рис. 3.** Частота распространения фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ, %

в данном стационаре фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III поколений представлены на рис. 3.

#### Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко (Москва)

В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко исследованы 54 резистентных к аминогликозидам штаммов грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter anitratus* – 2, *C. freundii* – 2, *E. coli* – 5, *Enterobacter* spp. – 2, *K. pneumoniae* – 15, *Morganii morganii* – 6, *P. aeruginosa* – 5, *P. mirabilis* – 17.

Основным ферментом, продуцируемым данны-

ми микроорганизмами, явилась модифицирующая амикацин, исепамицин и канамицин фосфотрансфераза APH(3')-VI в различных сочетаниях с ферментами, способными инактивировать аминогликозиды II поколения.

Резистентность к амикацину и исепамицину за счет продукции фермента APH(3')-VI выявлена у 26 (48,1%) исследованных штаммов, из них 14 (53,8%) были устойчивы одновременно к гентамицину и тобрамицину в результате действия аденилилтрансферазы ANI(2''), а 6 (23,1%) – к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину в результате выработки фермента AAC(3)-V.

Резистентность к гентамицину и тобрамицину при сохранении чувствительности к аминогликозидам III поколения выявлена лишь у 24 (44,4%) изолятов, из них у 12 – в результате продукции ANI(2''), у остальных 12 – AAC(3)-V (они также оказались устойчивыми к нетилмицину).

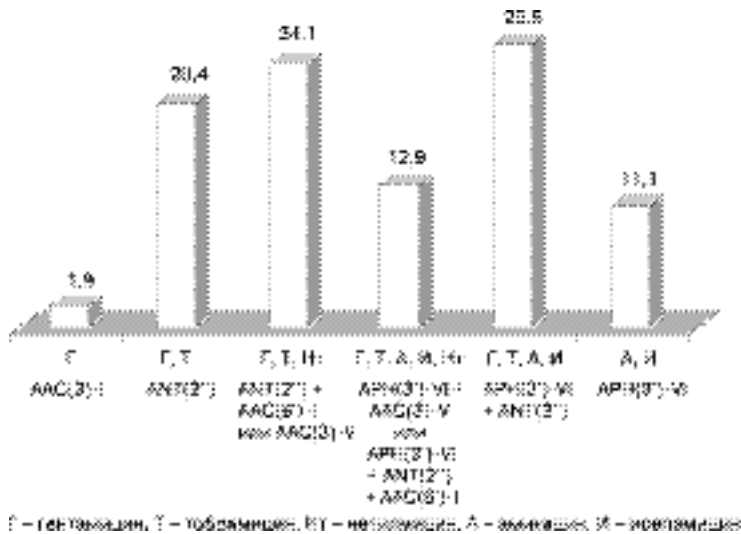
Два штамма были резистентны к аминогликозидам 3 поколения в результате непроницаемости наружной клеточной мембраны: один штамм – только к гентамицину за счет ацетилтрансферазы AAC(3)-I, другой – только к аминогликозидам I поколения, таким, как канамицин и неомицин [продукция APH(3')-I], и был чувствителен ко всем остальным аминогликозидам (табл. 12).

Фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III поколений показаны на рис. 4.

**Таблица 12. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко**

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
APH(3')-VI		К, А, И	26/54 (48,1)
	+ ANI(2'')	К, Г, Т, А, И	14/26 (53,8)
	+ APH(3')-I	К, Н, Г, Т, А, И	7/14 (50,0)
	+ AAC(6')-I	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/14 (7,1)
+AAC(3)-V		К, Г, Т, А, И, Нт, Н	6/26 (23,1)
	+AAC(3)-I +APH(3')-I	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	2/6
AAC(3)-V	+APH(3')-I	К, Н, Г, Т, Нт	12/54 (22,2)
	ANI(2'')	К, Г, Т	12/54 (22,2)
+ AAC(6')-I		К, Г, Т, Нт	1/2
		Г	1/54 (1,9)
AAC(3)-I		К, Н	1/54 (1,9)
APH(3')-I		К, Н, Г, Т, Нт, А, И	2/54 (3,7)
Непроницаемость			

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.



**Рис. 4.** Частота распространения фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко, %

#### Корреляция между АGRP и ДНК–ДНК гибридизацией

Обнаружена 100% корреляция результатов определения ферментов, полученных с использованием метода ДНК–ДНК гибридизации и фенотипического метода.

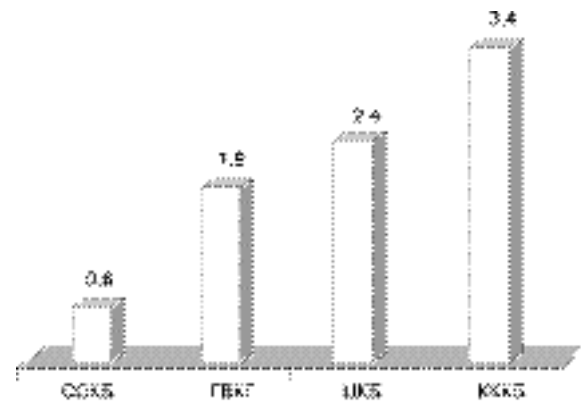
Использование специальных зондов, представляющих внутренние фрагменты генов рРНК, не позволило выявить штаммы, резистентность которых была бы связана с изменением мишени действия аминогликозидов. Этот факт подтвердил предположение о том, что резистентность к аминогликозидным антибиотикам у исследованных штаммов обуславливалась преимущественно продукцией аминогликозидомодифицирующих ферментов.

#### Распространенность фенотипов резистентности к аминогликозидам в стационарах лечебно-профилактических учреждений

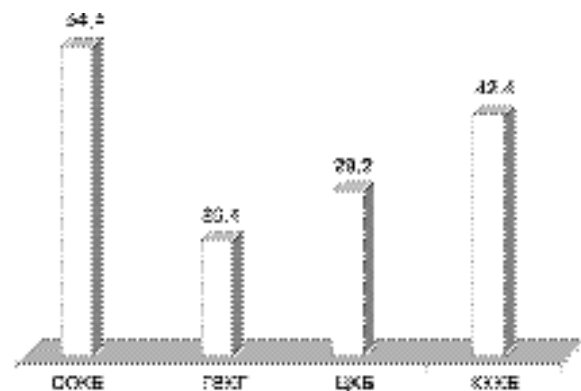
В результате продукции одного или комбинации различных ферментов микроорганизмы обладали определенными фенотипами устойчивости к аминогликозидам. Отмечено сходство в фенотипах резистентности, выявленных в СОКБ, ЦКБ (Москва), ГВКГ им. Н.Н. Бурденко (Москва) и КККБ. Так, монорезистентность к гентамицину при сохранении чувствительности ко всем остальным аминогликозидам II и III поколений выявлена только у 1 (0,6%) штамма в СОКБ, у 1 (2,4%) штамма в ЦКБ, у 1 (1,9%) штамма в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко и у 2 (3,4%) штаммов в КККБ (рис. 5).

Перекрестная резистентность к гентамицину и нетилмицину при сохранении чувствительности к остальным аминогликозидам II и III поколений также выявлялась редко в исследованных стационарах. Такой фенотип резистентности установлен только у 1 (0,6%) штамма в СОКБ и у 1 (1,7%) штамма в КККБ. В двух других стационарах этот фенотип не выявлен.

Чаще встречающимися фенотипами резистентности оказались Г, Т (гентамицин, тобрамицин) и Г, Т, Нт (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин). Однако процентное соотношение этих фенотипов резистентности варьировало (рис. 6). Так, Г, Т фенотип резистентности выявлен в СОКБ у 86 (54,4%) штаммов, в ЦКБ – у 12 (29,2%), в КККБ – у 25 (42,4%), в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко – у 11 (20,4%). У всех изолятов он обуславливался продукцией фермента ANT(2'').



**Рис. 5.** Частота монорезистентности к гентамицину, %



**Рис. 6.** Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин, %

Фенотип резистентности Г, Т, Нт (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин) встречался примерно с такой же частотой и обуславливался продукцией либо фермента AAC(3)-V, либо комбинацией ANT(2<sup>''</sup>)+AAC(3)-Ia (рис. 7).

Фенотип резистентности Г, Т, Нт, А (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин) выявлялся редко (рис. 8). Только 2 (1,3%) штамма в СОКБ и 2 (4,9%) штамма в ЦКБ имели этот фенотип резистентности в результате продукции комбинации ферментов AAC(6<sup>'</sup>)-I+ANT(2<sup>''</sup>), в то время как в КККБ и ГКВГ им. Н.Н. Бурденко этот фенотип не обнаружен.

Фенотип резистентности Г, А, И (гентамицин, амикацин, исепамицин), обусловленный продукцией фермента APH(3')-VI, выявлен только в СОКБ у 7 (4,4%) штаммов и в ЦКБ – у 2 (4,9%), но отсутствовал в КККБ и в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко.

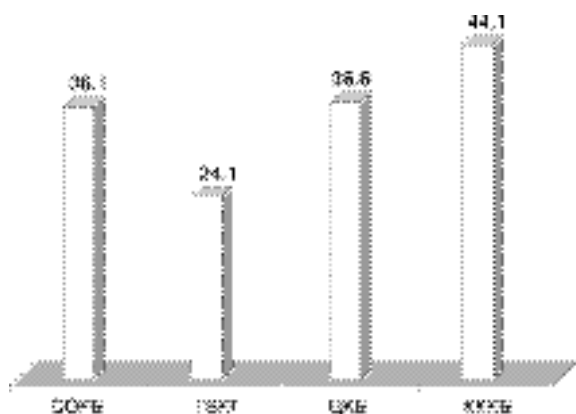


Рис. 7. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-нетилмицин, %

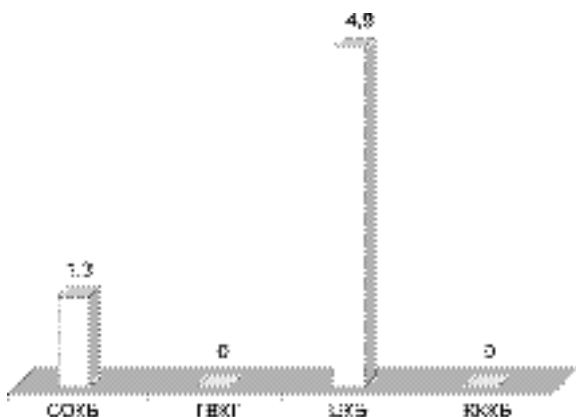


Рис. 8. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин, %

В результате продукции комбинации APH(3')-VI+ANT(2<sup>''</sup>) только 4 (9,8%) штамма в ЦКБ имели фенотип резистентности Г, Т, А, И (гентамицин, тобрамицин, амикацин, исепамицин). В ГКВГ им. Н.Н. Бурденко этот фенотип резистентности выявлен у 14 (25,9%) штаммов (рис. 9). В остальных лечебно-профилактических учреждениях он не выявлен.

Распространенный в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко фенотип резистентности Г, Т, А, И, Нт (гентамицин, тобрамицин, амикацин, исепамицин, нетилмицин), выявленный у 7 (12,9%) штаммов, отсутствовал в СОКБ и ЦКБ и определен только у 1 (1,7%) изолята в КККБ (рис. 10).

Фенотип резистентности только к аминогликозидам III поколения А, И (амикацин, исепамицин) выявлен лишь в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко у 6 (11,1%) изолятов.

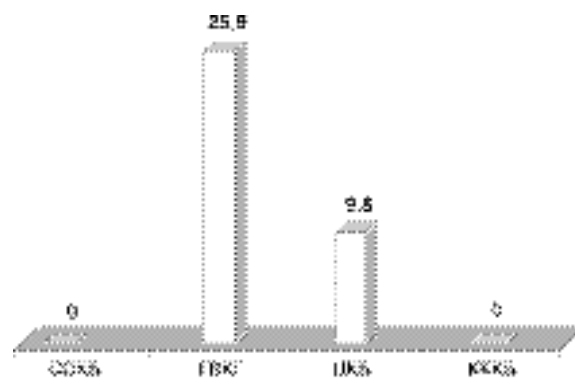


Рис. 9. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин, %

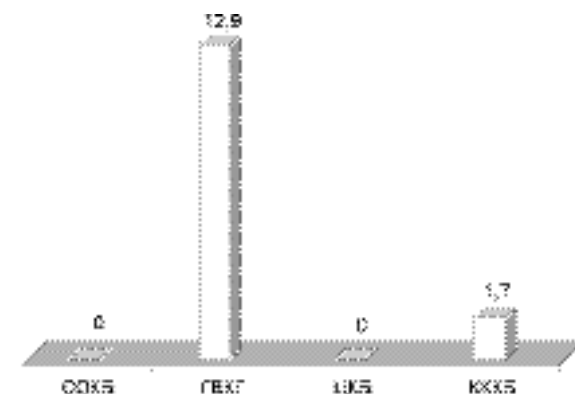


Рис. 10. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин-нетилмицин, %

## Обсуждение результатов исследования

Эффективное использование антибактериальных препаратов невозможно без четкого представления об их фармакодинамических особенностях (механизмах действия антибиотиков и изменении их активности в зависимости от характера механизмов резистентности у микроорганизмов), а также без знания локальной ситуации антибиотикорезистентности в определенном регионе или (для госпитальных инфекций) в стационаре [31, 32].

Данное исследование показало, что во всех 4 центрах основными возбудителями госпитальных инфекций являлись одни и те же виды микроорганизмов: представители неферментирующих грамотрицательных бактерий, такие, как *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*, а также семейства *Enterobacteriaceae*, в основном *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*. Преобладающим возбудителем в СОКБ и ГВКГ им. Н.Н. Бурденко была *K. pneumoniae*, в ЦКБ и КККБ – *P. aeruginosa*.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что при выборе аминогликозидов для эмпирической терапии нозокомиальных инфекций в конкретных стационарах целесообразно основываться не только на общем уровне резистентности грамотрицательной микрофлоры, но и учитывать этиологическую роль того или иного патогена.

Так, гентамицин и тобрамицин не могут рассматриваться в качестве средств эмпирической терапии при любом грамотрицательном возбудителе нозокомиальных инфекций. О возможности использования нетилмицина можно говорить в том случае, когда инфекционный процесс вызван *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* или *Acinetobacter* spp. Однако при этом необходимо определять чувствительность этих штаммов к нетилмицину. Амикацин или исепамицин могут использоваться для эмпирической терапии, кроме случаев инфекции, вызванной *Acinetobacter* spp.

Необходимо отметить определенные отличия в фенотипах резистентности в центрах России. Поэтому при формировании подходов к оптимальному использованию аминогликозидных антибиотиков в первую очередь необходимо учитывать локальные данные о распространении и механизмах резистентности.

Проведенные исследования позволяют сформулировать две группы практических рекомендаций для врачей-микробиологов и клиницистов.

В о - п е р в ы х, следует рассмотреть подходы к оптимальному выбору аминогликозидов для лабораторного тестирования и к оценке получаемых данных. На основании нашего исследования опти-

мальным представляется рутинное определение чувствительности к гентамицину, нетилмицину и амикацину. С учетом результатов определения чувствительности к этим трем аминогликозидам и локальных данных о преобладающих фенотипах можно ориентировочно судить о генотипе и обосновать выбор терапии.

Однако выдавать ответ клиницистам следует избирательно. Так, например, при чувствительности к гентамицину достаточно информировать врача только об этом результате. В случае резистентности к гентамицину необходимо предоставить заключение о чувствительности ко всем трем аминогликозидам.

В о - т о р ы х, непосредственно врачам-клиницистам целесообразно давать следующие рекомендации. В многопрофильном стационаре при эмпирической терапии необходимо учитывать резистентность нозокомиальных возбудителей к антибиотикам.

Разработать единую схему включения в эмпирическую терапию аминогликозидных антибиотиков для отдельного региона и даже стационара практически невозможно. И тем более нельзя копировать лекарственные формуляры, разработанные в других странах, и использовать в наших стационарах, так как уровень резистентности к аминогликозидам в России выше, чем в большинстве стран Европы и Америки. Задача каждого лечебно-профилактического учреждения – создать свой перечень эффективных препаратов.

Итак, для терапии грамотрицательных инфекций достаточно иметь в арсенале гентамицин, нетилмицин и амикацин. Амикацин можно использовать для эмпирической терапии, а также при резистентности к гентамицину во всех исследованных стационарах, кроме ГВКГ им. Н.Н. Бурденко. Нетилмицин и гентамицин следует использовать только при выделении чувствительной к ним грамотрицательной микрофлоры.

В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко препараты группы аминогликозидов не следует использовать для эмпирической терапии нозокомиальных инфекций. Выбор препарата должен осуществляться только на основании данных антибиотикограмм.

Тобрамицин, а также новый аминогликозид исепамицин нецелесообразно включать в список необходимых антибиотиков в исследованных стационарах.

Полученные результаты, а также данные литературы [34] убедительно свидетельствуют о крайне широком распространении в стационарах лечебно-профилактических учреждений различных регионов России устойчивости к гентамицину (до 70%

штаммов). Важно отметить, что, поскольку тобрамицин не обладает значительными преимуществами в сравнении с гентамицином, попытки его эмпирического включения в схемы лечения вместо гентамицина создают лишь иллюзию смены антибиотика и повышения эффективности лечения.

С нашей точки зрения, в исследованных стационарах следует исключить гентамицин из схем эмпирического лечения нозокомиальных инфекций. Необходимо привлечь внимание общественных и государственных организаций к крайне неблагопри-

ятной ситуации с распространением устойчивости к аминогликозидным антибиотикам и разработать рекомендации по разумному ограничению клинического применения антибиотиков этой группы.

**Благодарность.** Выражаем искреннюю признательность за предоставленные штаммы микроорганизмов **В.К. Тарабан** (КККБ), **Л.А. Ритчик** (ЦКБ), **С.В. Сидоренко** (ГНЦА), а также **С.В. Вакуленко** (ГНЦА), **Г.Н. Miller** и **F.J. Sabatelli** (Schering-Plough Research Institute) за содействие в настоящем исследовании.

## Литература

- Spencer R.C. Prevalence studies in nosocomial infections. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1992; 11:95-8.
- Белокрысенко С.С., Дугашева Л.С. Множественноустойчивые штаммы семейства *Enterobacteriaceae* и их плазмиды в стационаре. Медицинские и теоретические аспекты Антибиотики 1984; 12:924-31.
- Maniatis A.N., Trougakos I.P., Katsanis G., Palermos J., Maniatis N.A., Legakis N.J. Changing patterns of bacterial nosocomial infections: a nine year study in a general hospital. *Chemother* 1997; 43:69-76.
- Siegenthaler W.E., Bonetti A., Luthy R. Aminoglycoside antibiotics in infectious diseases. *Am J Med* 1986; 80:2-14.
- Dornbusch K., Miller G.H., Hare R.S. Resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram-negative bacilli and staphylococci isolated from blood. Report from a European collaborative study. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26:131-44.
- Garcia-Agata M.I., Alarcon T., Lopez-Brea M. Emergence of resistant isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii* complex in a Spanish hospital over a five-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:512-5.
- Gould I.M. Risk factors for acquisition of multiply drug-resistant gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 1994; 13:30-8.
- Miller G.H. and aminoglycoside resistance study groups. Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in gram-negative bacteria. *APUA Newsletter* 1994; 12.
- Weinstein R.A., Nathan C., Gruensfelder R. Endemic aminoglycoside resistance in gram-negative bacilli: epidemiology and mechanisms. *J Infect Dis* 1980; 141:338-45.
- Навашин С.М., Сазыкин Ю.О. Фундаментальные основы создания новых эффективных антибиотиков. *Антибиотики* 1992; 4:5-11.
- Лившиц М.Л., Брусина Е.Б. Госпитальные инфекции: проблемы и пути решения. *Журн микробиол* 1992;1:22-4.
- Goldmann D.A., Huskins W.C. Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clin Infect Dis* 1997; 24(suppl. 1): S139-45.
- Correa Lima M.B., Almeida de Oliveira C.F., Galvao L.F. Trends in bacterial resistance and implications for treatment of infections. *J Internat Med Research* 1990; 18(suppl. 4):3D-5D.
- Hammond J.M.J., Potgieter P.D. Influence of amikacin as the primary aminoglycoside on bacterial isolates in the intensive care unit. *Critical Care Medicine* 1990; 18: 607-10.
- Miller G.H., Sabatelli F. J., Hare R.S. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms – changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? *Clin Infect Dis* 1997; 24:S46-62.
- Goldmann D.A. Contemporary challenges for hospital epidemiology. *Am J Med* 1991; 91:8S-15S.
- Gourgouli K., Mouroutsou M., Varjioti E., Kondii L., Chronopoulos G., Baliaga S. et al. Comparison of bacterial resistance before and after restriction policy in the use of antibiotics. *Proceedings of the 7th ESCMID; 1995;Vienna, 1995. p. 57.*
- Courvalin P. Impact of molecular biology on antibiotic susceptibility: testing and therapy. *Am J Med* 1995; 99:21S-25S.
- Marr J.J., Moffet H.L., Kurin C.M. Guidelines for improving the use of antimicrobial agents in hospitals: a statement by the infectious diseases society of America. *J Infect Disease* 1988; 157:869-76.
- Сидоренко С.В. Механизмы антибиотикорезистентности. В кн.: Антибактериальная терапия. Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Москва; 2000. с. 1-6.
- Вакуленко С.Б. Бактериальные ферменты, инактивирующие аминогликозидные антибиотики и кодирующие их гены. *Антибиотики* 1992; 4:49-54.
- Rice L.B., Bonomo R.A. Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: Lorian V., editor. *Antibiotics in laboratory medicine*. New York: Williams & Wilkins; 1996. p. 453-501.
- Van Landuyt H.W., Boelaert J., Glibert B., Gordts B. Surveillance of aminoglycoside resistance. *Am J Med* 1986; 80:76-81.
- Miller G.H. and aminoglycoside resistance study groups. Resistance to aminoglycosides in *Pseudomonas*. *Trends Microb* 1994; 2:347-53.
- Naber K.G., Grimm H., Rosenthal E.J.K., Shah P.M., Wiedemann B. Resistance to aminoglycosides: the situation in the Federal Republic of Germany. *J Int Med Research* 1990; 18:6-26.

26. Miller G.H. Aminoglycoside Resistance Surveys Team. USA: Schering-Plough Research Institute. 1992. Data on file.
27. Колганов А.Н., Вакуленко С.Б. Гены резистентности к аминогликозидным антибиотикам клинических штаммов и кодируемые ими ферменты. Антибиотики 1992; 11:10-4.
28. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests – sixth edition; Approved Standard. NCCLS document M2-A6. 1997; 17.
29. NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically – fourth edition; Approved Standard. NCCLS document M7-A4. 1997; 17.
30. Miller G. H., Sabatelli F. J., Naples L. The utilization of aminoglycoside resistance phenotypes for the determination of aminoglycoside resistance mechanisms. Schering-Plough research institute 1995. Data on file.
31. McGowan J. E. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. Antimicrob Resist 1983; 5:1033-48.
32. Montie T., Patamasucon P. Aminoglycosides: the complex problem of antibiotic mechanisms and clinical applications. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14:85-7.
33. Phillips I., Shannon K.P. Aminoglycosides and aminocyclitols. In: O'Grady F.W., Lambert H.P., Finch R.G. and Greenwood D., editors. Antibiotic and chemotherapy: Anti-infective agents and their use in therapy. 7th ed. Edinburg: Churchill Livingstone; 1997. p. 164-201.
34. Состояние антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в отделениях интенсивной терапии. Межведомственный научный совет по внутрибольничным инфекциям при РАМН и Минздраве РФ, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Информационное письмо. Смоленск: Амипресс, 1997.

УДК 579.861.2.044:615.33

## Использование антибактериальных препаратов и антибиотикорезистентность у *Streptococcus pneumoniae*

Д.Дж. Дикема, А.Б. Бруггеманн, Г.В. Доэрт  
Медицинский колледж Университета Айова, Айова, США

Переведена и печатается с согласия авторов и редакции журнала «Emerging Infectious Diseases» 2000;6:552-6.

В настоящее время наблюдается рост резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибактериальным препаратам (АБП). С целью изучения взаимосвязи между применением АБП и антибиотикорезистентностью штаммов *S. pneumoniae*, выделенных в 24 медицинских центрах США, проанализированы данные об использовании АБП у амбулаторных пациентов, проживающих на территориях, обслуживаемых 23 из

указанных лечебных учреждений. В ходе исследования обнаружена зависимость между снижением чувствительности *S. pneumoniae* к пенициллину и частотой использования  $\beta$ -лактамов антибиотиков.

**Ключевые слова:** пневмококк, химиотерапия, антибиотикорезистентность, фармакоэпидемиология.

## Antimicrobial Drug Use and Changes in Resistance in *Streptococcus pneumoniae*

Daniel J. Diekema, Angela B. Brueggemann, Gary V. Doern

University of Iowa College of Medicine, Iowa City, Iowa, USA

Translated and reprinted with permission from «Emerging Infectious Diseases» 2000; 6:552-6.

Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to antimicrobial drug is increasing. To investigate the relationship between antimicrobial use and susceptibility of *S. pneumoniae* isolates at 24 U.S. medical centers, we obtained data on outpatient antimicrobial-drug use for the regions surrounding 23 of

these centers. We found an association between decreased penicillin susceptibility and use of  $\beta$ -lactam antimicrobial drugs.

**Key words:** pneumococci, chemotherapy, antibiotic resistance, pharmacoepidemiology.

Во всем мире наблюдается рост резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину и другим  $\beta$ -лактамовым антибиотикам [1–4]. Основным механизмом ус-

тойчивости заключается в появлении мутантной ДНК в генах, кодирующих пенициллинсвязывающие белки [5]. Считается, что «селективное давление» антимикробных препаратов играет важную роль в развитии резистентности, поэтому использование  $\beta$ -лактамовых антибиотиков рассматривается в качестве фактора риска колонизации и развития инфекции, вызванной пенициллинорезистентными штаммами [6–14].

Описано широкое географическое распространение пенициллинорезистентности у *S. pneumoniae*

---

Контактный адрес:  
Daniel J. Diekema  
Medical Microbiology Division,  
C606 GH, Department of Pathology,  
University of Iowa College of Medicine,  
Iowa City, Iowa 52242  
Факс: 319-356-4916  
Эл. почта: daniel-diekema@uiowa.edu



[3, 15]. Однако влияние географического распределения уровня потребления *антибактериальных препаратов* (АБП) на возникновение и распространение резистентных штаммов пневмококка до сих пор детально не изучено.

В 1994–1995 [16] и в 1997–1998 гг. мы провели два исследования в медицинских центрах США по мониторингу антибиотикорезистентности *S. pneumoniae* [17]. В результате исследований выявлена взаимосвязь между частотой применения антибиотиков на территории, окружающей эти медицинские центры, и изменением резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину более чем за 3-летний период.

### Исследование

Многоцентровое национальное исследование по мониторингу антибиотикорезистентности *S. pneumoniae* проводилось с ноября 1994 по апрель 1995 г. [16], а затем с ноября 1997 по апрель 1998 г. [17]. Все исследованные штаммы были выделены у амбулаторных пациентов из нижних дыхательных путей либо из стерильных в норме сред организма (кровь и спинномозговая жидкость).

Из центров, участвовавших в исследовании, штаммы передавались в центральную лабораторию, где проводилась их реидентификация с использованием традиционных методов [16]. Определение чувствительности к антибиотикам проводилось методом серийных разведений в бульоне, рекомендованным Национальным комитетом по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS) [18]. Интерпретация данных определения чувствительности осуществлялась в соответствии с критериями, рекомендованными NCCLS [19].

Штаммы *S. pneumoniae*, имеющие значения минимальной подавляющей концентрации пеницилина от 0,1 до 1,0 мг/л считались умеренно резистентными,  $\geq$  мг/л – резистентными к пенициллину. В данном исследовании умеренно резистентные и резистентные штаммы были условно объединены в группу «нечувствительных» штаммов.

В обоих исследованиях участвовали 24 медицинских центра. Для 23 из них были получены данные об использовании АБП у амбулаторных пациентов, проживавших на территории вблизи этих лечебных учреждений. Данные выражались числом выписанных рецептов на 100 тыс. населения в месяц за 48-месячный период, включавший оба этапа исследования [20].

Весь период исследования включал 4 «респираторных» сезона. Участвовавшие центры были разделены на категории с высоким, средним и низким уровнями потребления антибиотиков по каждому классу препаратов. В качестве интересующей зави-

симой переменной было принято изменение резистентности к пенициллину.

Для сравнения средних значений изменения резистентности к пенициллину среди центров с высоким, средним и низким уровнями потребления антибиотиков был использован однофакторный дисперсионный анализ. Для оценки зависимости между уровнем потребления АБП и развитием резистентности к пенициллину проанализировали ковариационные модели. В данном исследовании  $\alpha$  (уровень значимости) был принят за 0,05. Все тесты проводились для двустороннего уровня статистической значимости.

Нами проанализированы результаты определения чувствительности штаммов *S. pneumoniae* к пенициллину и эритромицину в 1994–1995 и 1997–1998 гг., полученные из всех 23 центров (табл. 1). В целом количество нечувствительных к пенициллину штаммов (МПК  $\geq$  1 мг/л) возросло на 8,9%. При этом в 1994–1995 гг. 269 (22,2%) из 1211 выделенных штаммов *S. pneumoniae* оказались умеренно резистентными и резистентными к пенициллину, тогда как в 1997–1998 гг. 337 (31,1%) из 1083 выделенных штаммов были отнесены к этим категориям.

После вычисления показателя изменения чувствительности к пенициллину (в %) в каждом из 23 участвовавших в обоих исследованиях центрах оказалось, что в среднем общее увеличение резистентности к пенициллину составило 8,3% – от *минус* 14,6 до *плюс* 39,2% (табл. 1).

В ходе исследования были рассчитаны показатели использования  $\beta$ -лактамовых антибиотиков, тетрациклинов, хинолонов и макролидов для районов с низким, средним и высоким уровнями потребления каждой из перечисленных групп АБП (табл. 2). Сравнивались средние значения увеличения резистентности к основным классам АБП в этих районах (табл. 3).

Оказалось, что наиболее значительно на рост резистентности *S. pneumoniae* к пенициллину влияло применение  $\beta$ -лактамовых антибиотиков (2,8, 8,8, 13,3% в районах с низким, средним и высоким уровнями потребления соответственно).

Проведен одномерный ковариационный анализ. Зависимой переменной являлось изменение резистентности к пенициллину, а независимыми переменными – категории потребления антибиотиков для каждого класса АБП. После того как данные для всех классов АБП ( $\beta$ -лактамы, тетрациклины, макролиды и хинолоны) были внесены в модель, оказалось, что только применение  $\beta$ -лактамов и макролидов имело статистическую значимость и могло быть использовано в качестве объясняющих

Таблица 1. Изменение резистентности<sup>a</sup> штаммов *S. pneumoniae*, выделенных в 23 медицинских центрах США в 1994–1995 и 1997–1998 гг.

Медицинский центр	Количество штаммов	Период исследования	Эритромицин	Изменение резистентности, %	Пенициллин УР+Р <sup>b</sup>	Изменение резистентности, %
Сиэтл, Вашингтон	37	1994–1995	5,4	24,6	35,1	2,9
	50	1997–1998	30,0		38,0	
Денвер, Колорадо	62	1994–1995	3,2	4,5	14,5	0,9
	26	1997–1998	7,7		15,4	
Феникс, Аризона	57	1994–1995	12,3	22,9	40,4	0,3
	54	1997–1998	35,2		40,7	
Хьюстон, Техас	63	1994–1995	22,2	21,6	25,4	39,2
	48	1997–1998	43,8		64,6	
Даллас, Техас	58	1994–1995	6,9	20,9	22,4	8,1
	36	1997–1998	27,8		30,5	
Рочестер, Миннесота	35	1994–1995	8,6	12,2	14,2	8,7
	48	1997–1998	20,8		22,9	
Милуоки, Вайоминг	65	1994–1995	18,5	-7,6	33,8	-13,8
	55	1997–1998	10,9		20,0	
Эванстон, Иллинойс	49	1994–1995	8,2	6,1	14,3	0,0
	35	1997–1998	14,3		14,3	
Чикаго, Иллинойс	41	1994–1995	17,1	2,4	34,1	-14,6
	41	1997–1998	19,5		19,5	
Индианаполис, Индиана	63	1994–1995	7,9	10,3	20,7	4,8
	55	1997–1998	18,2		25,5	
Св. Луис, Монтана	57	1994–1995	8,9	3,8	24,6	4,5
	55	1997–1998	12,7		29,1	
Детройт, Мичиган	63	1994–1995	6,3	3,7	19,0	11,9
	60	1997–1998	10,0		30,0	
Кливленд, Огайо	42	1994–1995	11,9	8,1	19,0	4,2
	60	1997–1998	20,0		23,2	
Филадельфия, Пенсильвания	47	1994–1995	2,1	9,8	2,1	19,3
	42	1997–1998	11,9		21,4	
Сиракузы, Нью-Йорк	23	1994–1995	8,7	-0,7	8,7	11,3
	50	1997–1998	8,0		20,0	
Рочестер, Нью-Йорк	58	1994–1995	6,9	5,1	10,4	9,6
	50	1997–1998	12,0		20,0	
Нью-Йорк, Нью-Йорк	64	1994–1995	4,7	-0,9	12,6	8,2
	53	1997–1998	3,8		20,8	
Хартфорд, Коннектикут	61	1994–1995	3,3	4,5	8,2	19,2
	51	1997–1998	7,8		27,4	
Вашингтон, Колумбия	60	1994–1995	13,3	15,3	23,3	12,4
	28	1997–1998	28,6		35,7	
Чапел Хилл, Небраска	60	1994–1995	10,0	28,8	31,7	25,4
	49	1997–1998	38,8		57,1	
Декатур, Джорджия	61	1994–1995	23,0	3,9	36,1	8,1
	52	1997–1998	26,9		44,2	
Мобил, Алабама	68	1994–1995	16,2	21,7	20,6	20,7
	58	1997–1998	37,9		41,3	
Майами, Флорида	17	1994–1995	5,9	23,7	52,9	-1,1
	27	1997–1998	29,6		51,8	
Всего ...	1211	1994–1995	10,2	10,4	22,2	8,9
	1083	1997–1998	20,6		31,1	

<sup>a</sup> Включая как резистентные, так и штаммы с промежуточным уровнем резистентности к пенициллину и эритромицину.

<sup>b</sup> УР+Р – штаммы с промежуточным уровнем резистентности и резистентные.

переменных, в связи с чем именно данные антибиотиков и были включены в окончательную модель (табл. 4).

Так, повышенное использование  $\beta$ -лактамов антибиотиков в значительной мере влияло на рост резистентности к пенициллину ( $F=8,7$ ,  $p=0,008$ ). И

наоборот, снижение резистентности к пенициллину было связано с повышенным потреблением макролидов ( $F=5,4$ ,  $p=0,031$ ). Объединенная модель объясняла существенные различия в уровнях резистентности к пенициллину в 23 центрах, участвовавших в исследованиях ( $F=4,8$ ,  $p=0,02$ ).

Таблица 2. Частота применения антибиотиков в медицинских центрах с высоким, средним и низким уровнями потребления<sup>a</sup>

Класс АБП, уровень потребления	Среднее количество	Медиана	Диапазон колебаний	Стандартное отклонение
<i>β-Лактамы</i>				
Высокий	1640	1620	1186–2557	411
Средний	1027	1040	948–1136	69
Низкий	859	870	777–917	51
<i>Макролиды</i>				
Высокий	929	865	800–1286	166
Средний	738	722	687–787	35
Низкий	609	623	528–673	52
<i>Хинолоны</i>				
Высокий	282	258	222–424	63
Средний	197	200	177–216	16
Низкий	143	146	91–170	27
<i>Тетрациклины</i>				
Высокий	77	75	61–100	15
Средний	56	58	50–59	3
Низкий	33	34	25–45	7

<sup>a</sup> Все данные приведены в единицах среднего количества назначений на 100 000 человек в месяц за период 2 исследований (май 1994 г. – апрель 1998 г.).

Раздельный анализ не выявил существенной взаимосвязи между использованием  $\beta$ -лактамных антибиотиков, макролидов, хинолонов и тетрациклина и изменением устойчивости *S. pneumoniae* к эритромицину. Однако в целом наблюдалась тенденция к росту резистентности *S. pneumoniae* к эритромицину (табл. 1).

### Выводы

Многочисленными исследованиями показано, что применение АБП в стационарах сопряжено с развитием резистентности у нозокомиальных микроорганизмов [21–25]. Однако *S. pneumoniae* является возбудителем внебольничных инфекций. Поэтому для установления связи между применением

АБП и развитием резистентности данные, получаемые в амбулаторных учреждениях, также необходимы, как и результаты определения чувствительности к антибиотикам.

Проведение в США крупномасштабных исследований в этой области требует больших затрат и сопряжено с трудностями, неизбежно возникающими при попытке сбора точных данных из разветвленной амбулаторной сети. Для того чтобы сформировать гипотезу и реализовать план подобного исследования, проводившегося для установления взаимосвязи между применением АБП у амбулаторных пациентов и уровнем резистентности штаммов *S. pneumoniae*, были использованы данные, полученные в ходе других исследований.

Таблица 3. Среднее увеличение резистентности<sup>a</sup> *S. pneumoniae* к пенициллину (%) в зависимости от уровня<sup>b</sup> потребления АБП

Класс АБП	Высокий	Средний	Низкий	p <sup>c</sup>
<i>β-Лактамы</i>	13,3	8,8	2,8	0,20
Хинолоны	13,0	6,3	5,3	0,39
Макролиды	4,0	12,4	8,9	0,39
Тетрациклины	5,3	7,7	11,8	0,56
Все классы	13,3	3,3	7,6	0,27

<sup>a</sup> Штаммы с промежуточным (МПК=0,12–1 мг/мл) и высоким (МПК≥2 мг/мл) уровнями резистентности к пенициллину.

<sup>b</sup> Все центры были разделены в зависимости от общего количества рецептов, выписанных на каждый класс АБП на 100 000 человек в месяц.

<sup>c</sup> Получены при проведении однофакторного дисперсионного анализа; все тесты проводились для двустороннего уровня статистической значимости.

Таблица 4. Анализ ковариационной модели; в качестве зависимой переменной принято изменение резистентности к пенициллину в каждом из 23 центров

Источник	III тип суммы квадратов	Оценка параметра (B)	F	p
Общая модель	990 <sup>a</sup>		4,8	0,02
Отрезок	56	4,5	0,5	0,47
Потребление $\beta$ -лактамов	893	8,6	8,7	0,008
Потребление макролидов	553	-6,7	5,4	0,031
Ошибка	2054			
Сумма	4616			
Исправленная сумма	3045			

<sup>a</sup>  $R^2 = 0,325$ .

Нами была обнаружена взаимосвязь между применением  $\beta$ -лактамовых антибиотиков у амбулаторных пациентов, проживающих на территории вблизи специализированных медицинских центров, и изменением чувствительности штаммов *S. pneumoniae*, выделенных от пациентов в этих центрах. Установление характера этой взаимосвязи не входило в план настоящего исследования, и требует дальнейшего изучения.

Отсутствие сведений об антибиотиках, которые пациент получал до исследования, не позволяло говорить о прямой связи между применением АБП и риском развития резистентности. Более того, представление данных в виде общего количества рецептов, выписанных населению в течение месяца, может неточно отражать истинное потребление антибиотиков.

Комплаентность, назначенные дозы препаратов и продолжительность антибактериальной терапии также могут различаться в зависимости от региона. Кроме того, полученные данные предназначены для описания больших популяций, а выделенные штаммы *S. pneumoniae* представляют собой малую выборку из одного центра в каждом регионе. Такое обстоятельство может исказить истинную картину распространения резистентности в исследуемой популяции. В связи с этим в целях уменьшения влияния на результат малых чисел, соответствующих количеству резистентных штаммов, выделенных в отдельно взятом центре, все центры, участвовавшие в исследовании, были условно разделены на 3 группы для каждого антибиотика в зависимости от уровня его потребления.

Настоящее исследование являлось ретроспективным. В задачу описанных исследований по мониторингу резистентности оценка взаимосвязи между потреблением АБП и изменением резистентности *S. pneumoniae* не входила.

Предполагалось, что применение АБП приводит к появлению и распространению в популяции резистентных штаммов. Данные, полученные в настоя-

щем исследовании, подтверждают эту гипотезу в отношении  $\beta$ -лактамовых антибиотиков и развития резистентности к ним.

Тот факт, что использование  $\beta$ -лактамовых антибиотиков ассоциировалось с распространением штаммов пневмококка, резистентных именно к пенициллину, и с отсутствием изменения резистентности к эритромицину, свидетельствует в пользу существования специфической связи. Более того, такую положительную связь роста резистентности к пенициллину не наблюдали ни в отношении других классов антибиотиков, ни по отношению к общему числу назначений АБП.

По данным исследования, отмечался также рост резистентности к эритромицину. Отсутствие достоверной связи между использованием АБП и распространением резистентных к эритромицину штаммов, возможно, связано с тем, что  $\beta$ -лактамы антибиотика в районах, где проводилось исследование, назначались значительно чаще других классов АБП и поэтому их влияние было более отчетливым и легко выявляемым.

Кроме того, в исследовании описана взаимосвязь между распространением резистентности к пенициллину и ростом резистентности практически ко всем другим группам АБП, что затрудняет определение влияния потребления отдельно взятых классов АБП на распространение резистентности к ним [2, 16, 17].

Если эта взаимосвязь в большей степени обусловлена межклоновым распространением генов резистентности от множественно-резистентных штаммов, чем селективным давлением применяемых антибиотиков, то степень влияния отдельных классов АБП на уровень резистентности к ним *S. pneumoniae* будет различаться в различных регионах в зависимости от того, какие клоны пенициллинорезистентного пневмококка преобладают на данной территории.

В других исследованиях сообщается о влиянии применения АБП у амбулаторных пациентов на

уровень резистентности в странах Западной Европы [26], в частности в Венгрии [27] и Исландии [28]. В этих исследованиях показано, что уменьшение потребления АБП в общем и  $\beta$ -лактамов антибиотиков в частности сопровождается снижением количества резистентных штаммов, выделяемых в этих странах.

Данные нашего исследования подтверждают эту взаимосвязь и подчеркивают важность внедрения в практику и проведения мероприятий по снижению необоснованного назначения antimicrobных препаратов амбулаторным пациентам [29].

Несмотря на некоторую ограниченность, данные нашего исследования подтверждают предположение о том, что применение АБП у амбулаторных пациентов играет важную роль в развитии и распространении резистентности микроорганизмов. Поэтому при проведении в будущем эпидемиологических исследований следует тщательно изучить характер связи между использованием антибиотиков и распространением резистентности в определенных группах населения, а также проспективно оценить мероприятия по ограничению применения отдельных классов АБП у амбулаторных пациентов.

## Литература

- Butler J.C., Hofmann J., Cetron M.S., Elliott J.A., Facklam R.R., Breiman R.F. The continued emergence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States: an update from the Centers for Disease Control and Prevention's pneumococcal sentinel surveillance system. *J Infect Dis* 1996;174:986-93.
- Doern G.V., Pfaller M.A., Kugler K., Freeman J., Jones R.N. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America: 1997 results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis* 1998;27:764-70.
- Munoz R., Coffey T.J., Daniels M., Dowson C.G., Laible G., Casal J., et al. Intercontinental spread of a multiresistant clone of serotype 23F *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 1991;164:302-6.
- Reichler M.R., Rakovsky J., Sobotova A., Slacikova M., Hiavacova B., Hill B., et al. Multiple antimicrobial resistance of pneumococci in children with otitis media, bacteremia, and meningitis in Slovakia. *J Infect Dis* 1995; 171:1491-6.
- Laible G., Spratt B.G., Hakenbeck R. Interspecies recombinational events during the evolution of altered PBP 2x genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 1991;5:1993-2002A
- Arnold K.E., Leggiadro R.J., Breiman R.F., Lipman H.B., Schwartz B., Appleton M.A., et al. Risk factors for carriage of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* among Memphis, Tennessee, children. *J Pediatr* 1996;128:757-64.
- Bedos J.P., Chevret S., Chastang C., Geslin P., Regnier B., and the French Cooperative Pneumococcus Study Group. Epidemiologic features of and risk factors for infection by *Streptococcus pneumoniae* with diminished susceptibility to penicillin: findings of a French survey. *Clin Infect Dis* 1996;22:63-72.
- Duchin J.S., Breiman R.F., Diamond A., Lipman H.B., Block S.L., Hedrick J.A., et al. High prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in a rural Kentucky community. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:745-50.
- Ford K.L., Mason E.O., Kaplan S.L., Lamberth L., Tillman J. Factors associated with middle ear isolates of *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin in a children's hospital. *J Pediatr* 1991;119:941-4.
- Nava J.M., Bella F., Garau J., Lite J., Morera M.A., Marti C., et al. Predictive factors for invasive disease due to penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: a population-based study. *Clin Infect Dis* 1994;19:884-90.
- Pallares R., Gudiol F., Linares J., Ariza J., Rufi G., Margui L., et al. Risk factors and response to antibiotic therapy in adults with bacteremic pneumonia caused by penicillin-resistant pneumococci. *N Engl J Med* 1987;317: 18-22.
- Reichler M.R., Allphin A.A., Breiman R.F., Schreiber J.R., Arnold J.E., McDougal L.K., et al. The spread of multiply resistant *Streptococcus pneumoniae* at a day care center in Ohio. *J Infect Dis* 1992;166:1346-53.
- Tan T.Q., Mason S.O., Kaplan S.L. Penicillin-resistant systemic pneumococcal infections in children: a retrospective case-control study. *Pediatrics* 1993;92:761-7.
- Scares S., Kristinsson K.G., Musser J.M., Tomasz A. Evidence for the introduction of a multiresistant clone of serotype 6B *Streptococcus pneumoniae* from Spain to Iceland in the late 1980's. *J Infect Dis* 1993;168:158-63.
- Welby P.L., Keller D.S., Cromien J.L., Tebas P., Storch G. Resistance to penicillin and non-beta-lactam antibiotics of *Streptococcus pneumoniae* at a children's hospital. *Pediatr Infect Dis* 1994;13:281-7.
- Doern G.V., Brueggemann A., Holley H.P., Rauch A.M. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* recovered from outpatients in the United States during the winter months of 1994 to 1995: results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1208-13.
- Doern G.V., Brueggemann A.B., Huynh H., Wingert E., Rhomberg P. Antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1997-98. *Emerg Infect Dis* 1999;5:757-65.
- Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A4. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1997.

19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplemental tables, M100-S8. Wayne (PA): National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1998.
20. Healthwire B.W. IMS Health annual data show expanding pharmaceutical market growth. *Biomed Pharmacother* 1999; 53:290-2.
21. Gaynes R. The impact of antimicrobial use on the emergence of antimicrobial-resistant bacteria in hospitals. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:757-65.
22. Gerding D.N., Larson T.A. Resistance surveillance programs and the incidence of gram-negative bacillary resistance to amikacin from 1967-1985. *Am J Med* 1986;80:22-8.
23. McGowan J.E. Antimicrobial resistance in hospital, organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;5:1033-48.
24. Monnet D., Gaynes R., Tenover F., McGowan J.E., ICARE Pilot Hospitals. Ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and ceftazidime usage in NNIS hospitals: preliminary results of Project ICARE, Phase one. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;4(Suppl):19.
25. Muscat J.J., Wilbur D.W., Stout J.J., Fahriender R.A. An evaluation of the susceptibility patterns of gram-negative organisms isolated in cancer centers with aminoglycoside usage. *J Antimicrob Chemother* 1991;27(Suppl C):1-7.
26. Pradier C., Dunais B., Carsenti-Etesse H., Dellamonica P. Pneumococcal resistance patterns in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:644-7.
27. Nowak R. Hungary sees an improvement in penicillin resistance. *Science* 1994;264:364.
28. Kristinsson K.C. Epidemiology of penicillin-resistant pneumococci. *Nord Med* 1996;111:103-8.
29. Gonzales R., Steiner J.F., Sande M.A. Antibiotic prescribing for adults with colds, upper respiratory tract infections, and bronchitis by ambulatory care physicians. *JAMA* 1997;278:901-4.

УДК 615.281.07

## Оценка качества антимикробной химиотерапии

И.К. Гиссенс

Отдел медицинской микробиологии и инфекционных болезней, Медицинский центр университета Эразма, Роттердам, Нидерланды

Переведена и печатается с согласия автора и редакции журнала «International Journal of Antimicrobial Agents» 2001;17:9-19.

Применение антимикробных препаратов является определяющим фактором формирования резистентности микроорганизмов. К настоящему времени выявлено много факторов, определяющих оптимальное качество антимикробной терапии. Максимальная эффективность и минимальная токсичность препаратов должны сочетаться с наименьшей стоимостью лечения. Качество антимикробной терапии зависит от знания различных аспектов инфекционных болезней. С точки зрения эффективности терапии, многие рекомендации по применению антибиотиков нуждаются в критической оценке. Нерациональное использование антимикробных препаратов не должно приветствоваться. Предотвращение развития антибиотикорезистент-

ности является одним из показателей качества лечения, требующим повышенного внимания. Данная статья представляет обзор хорошо установленных факторов, которые могут влиять на адекватность фармакотерапии антимикробными препаратами. Приводятся доказательные данные последних лет, подтверждающие принципы рационального применения антибиотиков, и обзор исследований, оценивавших различные факторы, влияющие на качество антибактериальной терапии. Обсуждаются критерии, связанные с антибиотикорезистентностью микроорганизмов.

**Ключевые слова:** антибиотики, политика применения антибиотиков, антибиотикорезистентность, аудит.

## Quality Measures of Antimicrobial Drug Use

Inge C. Gyssens

Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, The Netherlands

Translated and reprinted with permission from «International Journal of Antimicrobial Agents» 2001;17:9-19.

Antimicrobial use is the major determinant in the development of resistance. Many parameters of importance for optimal quality of antimicrobial therapy have already been defined. Maximal efficacy of the treatment should be combined with minimal toxicity at the lowest cost. Quality of antimicrobial drug use is dependent on knowledge of many aspects of infectious diseases. Considering effica-

cy, many of our indications for antimicrobial use need critical evaluation. Irrational use should be discouraged. Avoidance of the development of resistance is a quality parameter that will need increasing attention. This paper reviews the well-established factors that may influence the appropriateness of pharmacotherapy with antimicrobial drugs. It cites recent evidence supporting principles of prudent prescribing and gives an overview of audits that have addressed these parameters. Measures relating to resistance are discussed. All rights reserved.

**Key words:** antibiotics, antibiotic policy, antibiotic resistance, audit.

---

Контактный адрес:

Inge C. Gyssens

P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands

Тел.: + 31-10-4634406

Факс: + 31-10-4633875

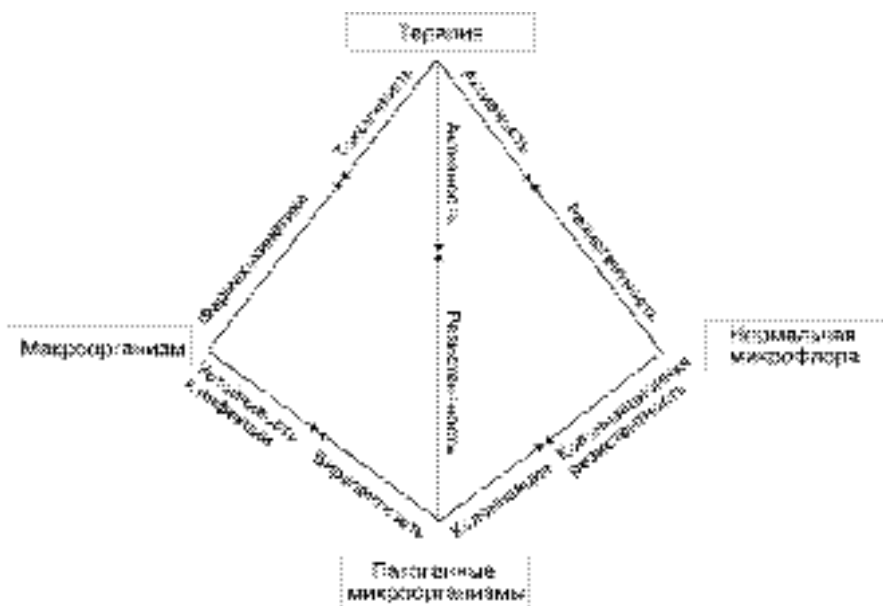
Эл. почта: gyssens@bacl.azr.nl

## 1. Введение

Антимикробная химиотерапия отличается от других видов фармакотерапии тем, что основывается не только на особенностях пациента и лекарственного препарата, но также и на характеристике инфекции. Наилучшим образом сложная система взаимоотношений между макроорганизмом, микроорганизмами и антимикробными препаратами отражена в *пирамиде инфекционных болезней* (см. рисунок). В ней наглядно показаны множественные взаимодействия между пациентом, лекарством, патогенными микроорганизмами и нормальной микрофлорой.

Как видно из рисунка, активности антимикробных препаратов противостоят механизмы формирования патогенными микроорганизмами антибиотикорезистентности, а также воздействия комменсальной микрофлоры.

Применение антимикробных препаратов – главный фактор развития резистентности микроорганизмов. Несмотря на то что в некоторых странах состояние антибиотикорезистентности несколько улучшилось благодаря реализации национальных программ, совершенствования тактики назначения лекарственных средств [1, 2], в большинстве стран уровень устойчивости по-прежнему неуклонно растет. Подобные данные зарегистрированы в отношении пневмококков [3, 4], стафилококков [5], энтерококков [6], *Neisseria gonorrhoeae* [7], уропатогенных бактерий [8], анаэробов, таких, как *Bacteroides* spp.[9] и даже *Pneumocystis carinii* [10].



Пирамида инфекционных болезней

Клинические последствия антибиотикорезистентности могут быть весьма серьезными. Давно известно и уже неоднократно подтверждено [11, 12], что при бактериемии летальность намного выше у пациентов, получающих неадекватную антимикробную терапию, то есть препараты, к которым нечувствительны возбудители. Так, недавно было обнаружено, что высокий уровень резистентности к пенициллину представляет объективный предиктор летальности от пневмококковой бактериемии у ВИЧ-инфицированных больных [13].

В последние 40 лет выявлено много факторов, определяющих оптимальное качество антибактериальной терапии. Максимальная эффективность и минимальная токсичность препаратов должны сочетаться с наименьшей стоимостью лечения. Как следует из пирамиды инфекционных болезней, представленной на рисунке, качество антимикробной терапии зависит от знания различных аспектов инфекционной патологии. При назначении антибиотиков должно учитываться влияние таких факторов, как свойства макроорганизма, его вирулентность, фармакокинетика и фармакодинамика применяемых препаратов.

Пожалуй, решающее значение имеет наличие в микробиологических лабораториях современного оборудования для выделения и идентификации возбудителей и определения их чувствительности к антибиотикам (особенно при тяжелых инфекциях), а также всего необходимого для проведения лекарственного мониторинга. Профилактика антибиотикорезистентности – один из показателей качества лечения, который требует повышенного внимания.

Настоящая статья представляет обзор хорошо установленных факторов, которые могут влиять на адекватность фармакотерапии антимикробными препаратами. Приведены доказательства последних лет, подтверждающие принципы рационального применения антибиотиков, и представлен обзор исследований, оценивавших влияние различных факторов на качество антибактериальной терапии.

Целью статьи не ставилось описание мероприятий по повышению качества антимикробной терапии, так



как в настоящее время имеется множество публикаций, информирующих читателя о современной стратегии рационального применения антибиотиков в стационарах [14, 15], у различных групп населения [16], в развивающихся странах [17] и т. д.

В данном обзоре обсуждаются критерии качества, связанные с антибиотикорезистентностью микроорганизмов.

## **2. Как оценить качество антибактериальной терапии?**

Традиционно качество лечения оценивается путем тщательного изучения медицинских документов или проведением аудиторских проверок. Аудит антимикробной химиотерапии определяют как всесторонний анализ адекватности лекарственной терапии, назначенной в конкретном клиническом случае [18]. Несмотря на то что подобный подход весьма трудоемкий, он остается пока наиболее полноценным методом, позволяющим обсудить все аспекты лечения. Более того, сам процесс оценки (см. ниже) может быть использован в качестве образовательного мероприятия [19]. С другой стороны, результаты аудита могут явиться основой дальнейших мероприятий по оптимизации применения антимикробных препаратов [20–22].

В последнее время в практике появились компьютерные программы, объединяющие клиническую информацию с фармакологическими и лабораторными данными и использующиеся для оценки ограниченного числа компонентов качества лечения, например сроков профилактического назначения антибиотиков [23] и чувствительности выделенных возбудителей к препаратам, назначаемым в качестве эмпирической терапии в отделениях интенсивной терапии [24].

## **3. Критерии оценки качества применения антибиотиков**

Долгое время для оценки качества антимикробной терапии при проведении аудитов широко использовались критерии, предложенные Kunin и соавт. [26]. В тот период определение адекватности терапии основывалось главным образом на мнении «компетентных» специалистов по инфекционным болезням, проводивших оценку. Лечение расценивалось как *адекватное*, *недостаточно адекватное* или *неадекватное* в зависимости от того, были ли выбранные препараты менее токсичными или менее дорогими, требовалась ли коррекция дозы или назначенное антибактериальное лечение было абсолютно неоправданным.

В связи с тем, что первоначальные формулировки критериев была весьма неспецифичны, в после-

дующие годы они неоднократно модифицировались многими исследователями, проводившими аудиты. Они адаптировали и расширяли их для того, чтобы судить о качестве лечения по специфическим аспектам, дозах [27], кратности приема [28], путях введения [29], достижении необходимой концентрации препаратов в плазме [27, 30], продолжительности лечения или антибиотикопрофилактики [27–29], частоте аллергических реакций [27, 29], стоимости лечения без учета токсичности [27, 30], широте спектра антимикробной активности препаратов [29], ошибках, выявленных после получения результатов бактериологического исследования и вынуждавших изменить лечение [29], данным медицинских записей, недостаточным для определения категории качества [28].

Мы используем модифицированный список критериев, в который включены большинство перечисленных показателей (табл. 1). Он дает возможность оценить каждый параметр, связанный с применением антимикробных препаратов [19].

## **4. Кто может влиять на качество назначения антимикробных препаратов? Каково значение качества?**

В исследованиях качества антимикробной химиотерапии в стационарах участвуют микробиологи, клинические фармакологи и особенно работающие в них инфекционисты [26–29, 31, 32]. Обычно главным параметром лучшего использования антибиотиков после проведения соответствующих мероприятий считают снижение стоимости лечения [26–29, 33].

Некоторые авторы пытаются для оценки качества использовать такие показатели, как стабильный уровень летальности и/или длительность пребывания больного в стационаре [20, 30]. Соблюдение требования о получении предварительного разрешения на назначение антибиотиков, включенных в список препаратов для ограниченного использования, сопровождалось повышением чувствительности выделенных возбудителей, в то время как показатель выживаемости оставался прежним [34].

В нескольких недавних исследованиях на первый план было выдвинуто изучение роли консультаций, проводимых инфекционистами, и их влиянием на качество лечения. Так, в университетских клиниках США всем пациентам с выделенной гемокультурой *S. aureus* проводились консультации инфекционистов [35]. Исходы лечения в группе пациентов, которые последовали совету указанных специалистов, были значительно лучше, чем в группе пациентов, которые полностью или частично проигнорировали рекомендации.

В последнее время появились сообщения о положительном влиянии консультаций инфекционистов на адекватность лечения и его результаты в некоторых европейских странах, где участие подобных специалистов в лечебном процессе является сравнительно новым [12, 36, 37]. Пациенты, составившие контрольную группу, либо проходили лечение тогда, когда инфекционисты не участвовали в лечебном процессе [37], либо им не назначались консультации подобных специалистов [12].

Важный фактор, определяющий качество антимикробной химиотерапии, – тесное взаимодействие с микробиологической лабораторией, обеспечивающее полноценный диагностический процесс, начиная от запроса на проведение исследований и заканчивая интерпретацией данных и практическим использованием результатов [38].

### **5. Аудит – процесс глобальной оценки качества лечения**

Для всесторонней оценки необходимо для каждого назначенного препарата в определенном порядке ответить на вопросы, приведенные в табл. 1, при этом ни один показатель не должен быть упущен. Для систематизации и ускорения процесса вопросы могут быть разделены по категориям в зависимости от качества применяемых антимикробных препаратов в виде таблицы [19]. Использование подобной таблицы специалистами, проводящими ау-

Таблица 1. Критерии оценки качества антимикробной химиотерапии

<i>Достаточно ли данных медицинских записей для проведения оценки?</i>
<i>Есть ли показания для антибактериальной терапии/антибиотикопрофилактики?</i>
<i>(Оправданно ли вообще назначение антибиотиков?)</i>
<i>Адекватен ли выбор антибиотика?</i>
<i>Указать альтернативные препараты, учитывая:</i>
эффективность (чувствительность, антимикробная активность)
токсичность, аллергические реакции
стоимость препарата
спектр (слишком широкий?)
<i>Адекватна ли продолжительность лечения?</i>
Слишком большая
Слишком короткая
<i>Адекватны ли фармакокинетические характеристики препаратов? Учитывая:</i>
дозу
кратность
путь введения
<i>Адекватны ли сроки назначения антибиотиков?</i>
Слишком ранние (до забора материала для бактериологического исследования)
Слишком поздние (например, профилактика после операции)

дит, позволит классифицировать назначаемые препараты. Если назначения неадекватны одновременно по нескольким причинам, они могут быть отнесены более чем к одной категории.

### **6. Достаточно ли данных медицинских записей для оценки качества антибактериальной терапии?**

Качество не может быть оценено в тех случаях, когда недостаточно данных о лечении больного. По собственным исследованиям автора статьи, из-за отсутствия полноценной информации в медицинских записях оценка оказалась невозможной в 4% случаев профилактического применения антибактериальных препаратов и в 10% случаев назначений антибиотиков с целью лечения [20, 22].

Наличие или отсутствие документированного обоснования применения антимикробных препаратов прямо связано с качеством лечения [22, 29, 36]. В своих исследованиях Маки удалось установить взаимосвязь между адекватностью терапии и качеством заполнения врачами медицинской документации [29].

### **7. Есть ли у пациента критерии инфекции [39]? Показана ли антибиотикотерапия?**

При тяжелых инфекциях фактически всегда имеется лихорадка. Определить, нуждается ли лихорадящий пациент в назначении антибиотиков, врачу помогают знания различных аспектов инфекционных болезней и использование современного оборудования микробиологических лабораторий. В то же время выяснение различий между инфекцией и воспалением, между бактериальным сепсисом и ССВО (синдромом системного воспалительного ответа) пока остается предметом дальнейших исследований.

Кроме клинических критериев, в распоряжении имеются такие быстродоступные лабораторные показатели, как количество лейкоцитов, уровень *C-реактивного белка* (СРБ), скорость оседания эритроцитов. Недавно установлено, что низкая продукция CD11b-нейтрофилов представляет собой фактор неблагоприятного прогноза у новорожденных с подозрением на сепсис [40]. Комбинированное повышение содержания IL-8 и *C-реактивного белка* оказалось надежным тестом, позволяющим ограничиться применением антибиотиков только у действительно инфицированных новорожденных с подозрением на нозокомиальную бактериальную инфекцию [41].

В последнее время появляется все больше сообщений о том, что в качестве специфического маркера тяжелых бактериальных инфекций в некоторых группах населения как у детей [42], так и у взрос-

лых [43] может использоваться прокальцитонин. Тщательный отбор пациентов, действительно нуждающихся в антибактериальной терапии, особенно необходим в амбулаторной практике при часто встречающихся инфекциях.

Так, неоправданно широкое применение антибиотиков для лечения инфекций верхних дыхательных путей у детей часто вызвано ошибочным убеждением врачей в том, что слизисто-гнойные выделения из носа являются бесспорным свидетельством наличия бактериальной инфекции [44].

Группой экспертов были предложены критерии, позволяющие дифференцировать острый гнойный отит от выпотного среднего отита [45], поскольку в последнем случае антибиотики не должны применяться. Аналогичные критерии были разработаны и для дифференцирования бактериального и вирусного риносинуситов [44]. К сожалению, при лечении детей тактика врача часто изменяется под давлением родителей, требующих назначения антибиотиков даже в тех случаях, когда он убежден в неоправданности их применения [46].

Доказано, что лечение детей с лихорадкой по протоколам, в которых не предусмотрено назначение антибактериальных препаратов (например, по Филадельфийскому протоколу), достаточно безопасно, если проявления заболевания соответствуют определенным в протоколе критериям [47]. Распространение этой информации среди родителей может уменьшить давление, оказываемое на врачей и приводящее к необоснованному использованию антибиотиков.

Полагают, что благодаря возрастающей осведомленности населения в вопросах антибиотикорезистентности возбудителей в Исландии с 1991 г. наблюдается снижение частоты применения антимикробных препаратов [2]. В последних исследованиях, кроме модернизированных критериев специфической диагностики, были тщательно изучены и некоторые спорные вопросы использования антибиотиков. Был проведен новый метаанализ.

В настоящее время многие авторы выступают против назначения антибиотиков с целью профилактики и лечения в случаях, когда нет убедительных доказательств их пользы для пациента и общества. Некоторые последние публикации по данному вопросу представлены в табл. 2.

Неоправданно широкое использование антимикробных химиопрепаратов традиционно является проблемой антибиотикопрофилактики в хирургии. Так, например, в последние 15 лет в 40–75% случаев в США антибиотики применялись необоснованно [57–60]. Аудиты, проведенные в Канаде [61], Великобритании [62], Италии [63], Бельгии [64],

Нидерландах [20], Израиле [65] и Австралии [66], выявили подобные проблемы.

В Великобритании, например, назначение антибиотиков с терапевтической целью оказалось неоправданным (отсутствовало подтверждение инфекционной природы заболевания) в 9 [29] – 35% [31] случаев, и даже в 4% случаев – у пациентов с бактериемией [67]. В Нидерландах этот показатель составил 16% у пациентов хирургического профиля и 5% – терапевтического. После проведения соответствующих мероприятий частота снизилась до 8 и 3% соответственно [20, 22].

## 8. Адекватен ли выбор антимикробного препарата?

**8.1. Эффективность: чувствителен ли предполагаемый возбудитель?** Сложность проблемы антимикробной терапии больных с тяжелой инфекцией состоит в том, что она почти всегда начинается тогда, когда возбудитель неизвестен или не определена его чувствительность к антибиотикам.

Эмпирическая терапия в большинстве случаев проводится высокими дозами антибиотиков широкого спектра действия или комбинацией препаратов. Рациональный выбор может быть лишь в том случае, если врач имеет представление о наиболее частых возбудителях данной инфекции и их чувствительности к антибиотикам.

В связи с неуклонным ростом антибиотикорезистентности часто возникает необходимость дальнейшего «усиления» эмпирической терапии. Однако чувствительность одних и тех же возбудителей существенно различается в разных странах, различных стационарах и даже в разных палатах. Поэтому клиницистам должны быть доступны локальные данные о чувствительности наиболее часто встречающихся возбудителей, помогающие им рационально выбрать эмпирическую терапию в определенных ситуациях.

Так, эмпирическая терапия ванкомицином при подозрении на инфекцию, вызванную *S. aureus*, может быть подходящей в некоторых странах, госпиталях и даже палатах, но абсолютно неприемлема там, где MRSA фактически отсутствуют [5].

Американским обществом по инфекционным болезням (IDSA) разработан стандарт лечения больных с бактериемией [68], обеспечивающий соответствие назначенного антибиотика чувствительности выделенной гемокультуры. Выявленное несоблюдение этих стандартов стало предметом исследования при проведении ряда аудиторских проверок [12, 35, 36]. При этом подтвердилось, что летальность при сепсисе была ниже у тех пациентов с бак-

Таблица 2. Примеры последних публикаций, подтверждающих необоснованность применения антимикробных препаратов

Профилактика при проведении УЗИ-контролируемой трансректальной биопсии простаты	Исследование	[48]
Профилактика при проведении эндоскопической ретроградной холецистопанкреатографии	Метаанализ	[49]
Профилактика менингита при переломах основания черепа	Метаанализ	[50]
Профилактика бактериурии у детей с постоянным катетером мочевого пузыря	Открытое исследование	[51]
Профилактика инфекционных осложнений при простых неукушенных ранах	Метаанализ	[52]
Селективная деконтаминация желудочно-кишечного тракта у пациентов отделений интенсивной терапии	Обзор	[53]
Профилактическое назначение антибиотиков при преждевременных родах	Метаанализ	[54]
Лечение детей с инфекциями верхних дыхательных путей	Метаанализ	[55]
Лечение острых бронхитов у взрослых без сопутствующей патологии	Метаанализ	[56]

териемией, которые получали соответствующий антибиотик [11, 12, 69].

Во многих исследованиях сообщается о назначении антибиотиков без учета чувствительности к ним микроорганизмов. Маки в 9% [29], а Wilkins в 25% случаев [70] обнаружили неадекватность эмпирической терапии, обусловленную несоответствием выбранного антибиотика чувствительности возбудителя. В Израиле этот показатель составил 7,5% [69], в Ирландии частота достигала 44% в случаях, когда пациенты получали эмпирическую терапию, не соответствующую принятым в клинике стандартам [71].

После проведенных мероприятий эффективность эмпирической антибактериальной терапии в терапевтических отделениях возросла с 69 до 90% [22]. Выбор антибиотика для эмпирической терапии с помощью компьютерных программ в отделениях интенсивной терапии в Германии был адекватным только в 74% случаев [25]. Использование компьютерных программ Evans и соавт. значительно снизило количество назначений антибиотиков, не соответствующих чувствительности микроорганизмов [24].

G. Doern показал, что применение экспресс-методов выделения и идентификации возбудителей и определения их чувствительности к антибиотикам *in vitro* влияет на лечение и его исходы у госпитализированных больных [72]. В его исследовании летальность, обусловленная инфекцией, была значительно ниже у пациентов, выбор терапии у которых основывался на данных, полученных с помощью этих методов.

**8.2. Токсичность (аллергия): существует ли альтернатива меньшей токсичности?** Большинство антимикробных препаратов выделяются почками. Поэтому для препаратов с узким терапевтическим диапазоном, например аминоглико-

зидов, у пациентов с нарушенной функцией почек обязательной является коррекция режима дозирования.

У пациентов с почечной недостаточностью желательнее избегать применения аминогликозидов для длительной терапии. Результаты двойного слепого рандомизированного исследования показали, что режим однократного дозирования аминогликозидов уменьшает вероятность развития нефротоксичности у пациентов с нормальной исходной функцией почек [73].

В ряде исследований была проанализирована частота развития аллергических реакций [24, 27, 29]. Некоторые авторы проводили аудиты в целях исследования токсичности при применении аминогликозидов. Были получены данные об игнорировании в ряде случаев индивидуального лекарственного мониторинга и коррекции режима дозирования [74, 22, 67]. Так, в академических клиниках Великобритании терапевтический лекарственный мониторинг аминогликозидов был проигнорирован в 14% случаев; наряду с этим отмечены необоснованное назначение данного исследования (21%) и неправильный забор материала для исследования [75]. В то же время развитие токсических реакций может привести к назначению необоснованно низких доз аминогликозидов [22].

**8.3. Можно ли снизить стоимость лечения без ухудшения его качества?** Известно, что одни и те же лекарственные препараты в пероральной форме стоят значительно дешевле, чем в парентеральной. Сдерживанию роста стоимости лечения может способствовать применение более старых антибиотиков, менее частое назначение парентеральных лекарственных форм, болюсное внутривенное введение вместо кратковременных внутривенных инфузий, а также применение препаратов, не требующих лекарственного мониторинга [76].

Во многих аудиторских проверках обсуждалась стоимость лечения, и многие мероприятия были направлены на снижение затрат на лечение [33, 77–80]. Ранний переход (после 72 ч) с парентеральных форм препарата на пероральные (см. ступенчатую терапию) способствовал снижению стоимости лечения [12, 36, 80, 81]. Экономически выгодным оказалось укорочение курсов профилактического назначения антибиотиков [20, 80].

**8.4. Не слишком ли широк спектр действия выбранного препарата?** Смена эмпирически выбранного антибиотика на препарат с более узким спектром действия, активного в отношении выделенного возбудителя, – традиционная стратегия инфекционистов. Ее логическим обоснованием является предотвращение селективного давления препаратами широкого спектра действия, но это предположение пока не доказано проспективными исследованиями. Некоторые возбудители еще сохраняют чувствительность к старым препаратам с узким спектром антимикробного действия. Например, инфекции, вызванные стрептококками группы А, по-прежнему можно лечить препаратами пенициллина [82].

В Нидерландах преимущественное использование для лечения старых препаратов с узким спектром антимикробного действия многие годы тщательно изучалось во многих медицинских учреждениях, и данная стратегия стала основой принципов рационального применения антибиотиков [83]. В Дании, являющейся одной из стран с наиболее низким уровнем антибиотикорезистентности, в большинстве случаев предпочтение отдается этим же препаратам [84]. Врачи в Великобритании значительно чаще назначают хорошо известные антибиотики узкого спектра действия, чем в Испании и Франции [85].

Продолжение использования препаратов широкого спектра действия после получения результатов о чувствительности выделенных возбудителей расценено как неоправданное менее чем в 10% случаев, по данным Maki и Schuna [29], менее чем в 16% – по данным Wilkins и соавт. [70] и в 4–7% – по данным Gyssens и соавт. [22].

Чрезмерное использование антибиотиков широкого спектра действия у пациентов с бактериемией отмечалось в Израиле [69]. В Бельгии этот показатель составил 29% в том случае, когда антибактериальную терапию назначали врачи, не имевшие специальной подготовки по инфекционным болезням. Однако и для пациентов, которым окончательное лечение назначали инфекционисты, этот показатель оставался относительно высоким (19%) [12].

## 9. Адекватен ли режим дозирования?

**9.1. Доза.** Доза антибиотика подбирается таким образом, чтобы его концентрация в плазме превышала минимальную подавляющую концентрацию для предполагаемого возбудителя. Многие согласны с тем, что у больных с иммунодефицитными состояниями, а также у пациентов с труднодоступной локализацией очага инфекции (менингиты, абсцессы) должны использоваться дозы, во много раз превышающие МПК.

Для препаратов с дозозависимым эффектом, таких, как аминогликозиды, наиболее удачной тактикой является назначение высокой первоначальной дозы (6–7 мг/кг) для всех больных с последующей коррекцией на основе индивидуального фармакокинетического мониторинга [86]. Кроме гарантированного повышения эффективности, можно ожидать, что пиковые концентрации препарата, более чем в 8–10 раз превышающие МПК, снижают возможность возникновения резистентных штаммов. Субингибирующие концентрации антимикробных препаратов тоже оказывают определенное действие на микроорганизмы.

В соответствии с фармакодинамическими моделями, построенными на основе результатов исследований нозокомиальных пневмоний, формирование антибиотикорезистентности оказалось тесно связанным с субоптимальной экспозицией, определявшейся по соотношению AUC (*площадь под фармакокинетической кривой*) 0–24/МПК менее 100 [87]. Из этого следует, что назначение низких доз антибактериальных препаратов не только снижает эффективность лечения, но и способствует развитию резистентности.

Имеются сообщения о высокой вариабельности назначаемых доз и длительности курса лечения при одних и тех же состояниях в педиатрической практике [88]. По данным исследования, проведенного во Франции, низкие дозы и длительные курсы лечения  $\beta$ -лактамами антибиотиками у детей оказались основными факторами риска колонизации пенициллинорезистентными штаммами пневмококка [89]. Назначение необоснованно малых доз отмечалось и при проведении аудитов в Великобритании [36], Нидерландах [22] и Франции [90].

**9.2. Кратность дозирования.** Оптимальная частота приема антибиотика зависит от периода полувыведения и механизма действия препарата. Использование аминогликозидов в режиме однократного дозирования обеспечивает сочетание оптимального эффекта с минимальной токсичностью [73]. Учитывая зависимость действия  $\beta$ -лактамов антибиотиков от времени, при их назначе-

нии часто пользуются методом постоянной инфузии [91].

При использовании парентеральных форм антибиотиков уменьшение кратности введения сопровождается снижением стоимости лечения [92]. Более того, парентеральные формы тех препаратов, которые могут назначаться однократно, позволяют при серьезных инфекциях проводить лечение в домашних условиях. Например, для лечения эндокардитов, вызванных пенициллиночувствительными штаммами стрептококка, подобным образом широко использовался цефтриаксон [93]. Однако неоправданный выбор в ряде клиник антибиотиков широкого спектра действия с большим периодом полувыведения, обусловленный соображениями удобства применения, привел к снижению чувствительности основных возбудителей [94].

Использование инфузатов для введения препаратов с более узким спектром активности следует активнее распространять в амбулаторной практике, в частности у больных с обострением муковисцидоза, остеомиелитом и эндокардитом.

Известно, что одним из способов повышения комплаентности лечения при назначении больным пероральных лекарственных форм является снижение кратности приема, что успешно используется, например, при применении азитромицина. В последних публикациях отмечается, что однократный прием высокой дозы пероральных (и в то же время недорогих) форм амоксициллина стал удачным выбором для лечения стрептококкового фарингита у школьников [95].

**9.3. Путь введения.** Парентеральный путь введения антибиотиков при назначении эмпирической терапии должен использоваться у тяжелобольных, у лиц с нарушением функции желудочно-кишечно-

го тракта, а также при назначении лекарств с плохой биодоступностью при приеме внутрь. Однако на практике оказывается, что и традиции часто влияют на выбор пути введения антибиотиков. Несмотря на то что данные о локализации и тяжести инфекционных болезней в европейских клиниках неотложной медицинской помощи были приблизительно одинаковыми, 60% стационарных больных в Великобритании были назначены пероральные формы антибиотиков, в то время как в Италии более чем у 80% пациентов лечение проводилась парентеральными формами, при этом более половины из них получали внутримышечные инъекции [85].

В США внутривенный способ назначения антибиотиков в течение определенного периода был стандартом лечения. В настоящее время главным образом по экономическим соображениям у клинически стабильных пациентов все шире применяется ступенчатая терапия [96–99]. Основным критерий назначения ступенчатой терапии – возможность достижения при применении пероральных форм антибиотика достаточно высоких концентраций в сыворотке крови и тканях. Поэтому выбор врача должен ограничиваться лишь теми препаратами, которые имеют высокую биодоступность, то есть обладают хорошей всасываемостью в желудочно-кишечном тракте и минимальным взаимодействием при всасывании. При этом пациент должен быть хорошо проинформирован о времени приема лекарства по отношению к приему пищи.

Меньшая кратность приема препарата повышает комплаентность, при этом выбранные антибиотики должны иметь период полувыведения по крайней мере 2 ч (табл. 3), чтобы обеспечить возможность их двукратного применения.

Прекрасный обзор исследований, подтверждающий эффективность использования пероральных форм антимикробных препаратов, опубликовали MacGregor и Graziani [100]. Но следует помнить, что некоторые из потенциально высокоэффективных, относительно нетоксичных и недорогих пероральных антибиотиков, такие, как цефалоспорины первого поколения [20, 26, 33, 101, 102] и ципрофлоксацин [101, 103], уже давно широко используются в клинической практике.

В недавно опубликованном критическом обзоре качественных аспектов ступенчатой терапии подчеркивается, что переход на пероральные формы препарата не должен откладываться до того момента, когда в дальнейшем продолжении лечения антибиотиками уже нет необходимости [104].

Таблица 3. **Препараты, которые могут использоваться для ступенчатой терапии**

Препарат	Биодоступность, %	Период полувыведения, ч
Амоксициллин	75 (20–80)	1–1,5
Цефалексин	80–100	1,9
Кларитромицин	50–55	2–6
Ципрофлоксацин	70–80	4
Левифлоксацин/Офлоксацин	98	5–7
Ко-тримоксазол	85–100	9–12
Доксициклин	90–100	18–22
Клиндамицин	90	1,5–3,5
Метронидазол	95	8
Флуконазол	90–100	30
Итраконазол (суспензия)	55	21
Валациклоксир	75–90	2,5

## 10. Адекватна ли продолжительность лечения?

**10.1. Терапия слишком длительная.** В ряде исследований показано, что однократное введение антибиотика является вполне достаточным для антибиотикопрофилактики при большинстве хирургических вмешательств. Необоснованное использование антибактериальных препаратов в ходе послеоперационной профилактики часто выражалось в их длительном назначении [20, 105, 106], которое было с успехом ограничено после проведения соответствующих мероприятий [20, 80].

В настоящее время отмечается недостаток доказательств выбора оптимальных сроков продолжительности антибиотикотерапии большинства инфекционных болезней. Определение длительности назначения антибиотиков даже при распространенных инфекциях часто основывается лишь на сформировавшихся традициях. По результатам исследования, проведенного в 1991 г. в Европе, оказалось, что средняя продолжительность антибиотикотерапии была самой короткой в Великобритании (8 дней) и наиболее длительной во Франции (12 дней) [85].

В отношении некоторых инфекций был проведен ряд исследований, рассматривавших вопрос о том, безопасно ли прекращать лечение сразу после нормализации специфических показателей инфекционного процесса. Например, при спонтанных бактериальных перитонитах антимикробные препараты могут быть без риска отменены при уменьшении содержания сегментоядерных нейтрофилов до 250 клеток и ниже в 1 мм<sup>3</sup> асцитической жидкости [107].

Однако для многих инфекций оптимальная продолжительность лечения определялась отсутствием рецидивов через те или иные произвольно выбранные сроки, например, на 7, 10, 14-й день лечения. Но в большинстве случаев необходимая минимальная длительность назначения антибиотиков остается неизвестной.

## 11. Адекватны ли сроки назначения антибактериальных препаратов?

**11.1. Слишком поздно.** Хорошо известно, что оптимальное время проведения внутривенной хирургической антибиотикопрофилактики составляет приблизительно 30 мин до разреза, то есть во время вводного наркоза. Оказывается, что корректные сроки введения антибактериальных препаратов (не ранее чем за 2 ч до операции) повсеместно не соблюдаются.

Так, неправильное время назначения антибиотиков с профилактической целью отмечалось в 54% случаев в клиниках США [59] и в 46% случаев в Израиле [65]. В то же время сроки проведения профилактики, зависящие главным образом от организации, является тем показателем, который наиболее легко корректируется. Благодаря использованию консультативной компьютерной службы в Солт-Лейк-Сити сроки профилактического введения антибиотиков улучшились с 40% в 1985 г. до 99,1% в 1994 г. [108]; в Нидерландах после соответствующих мероприятий выбор оптимальных сроков (в пределах 60 мин до разреза) возрос с 39 и 64% до 70 и 80% соответственно [21].

При эмпирической терапии помимо чувствительности возбудителя большое значение имеет своевременность ее назначения. По данным исследования, проведенного в США, применение антимикробных препаратов в течение первых 8 ч с момента госпитализации сопровождалось значительным снижением летальности у пожилых больных пневмонией [109]. О задержке с введением первой дозы антибиотика при поступлении больных с серьезными инфекциями сообщалось в исследовании Natsch и соавт. После проведенных мероприятий среднее время от момента поступления до первого введения антибактериального препарата снизилось с 5 до 3,2 ч [110].

## 12. Обсуждение

Таким образом, качественное применение антимикробных химиопрепаратов включает в себя хорошую, основанную на доказательных данных, клиническую практику, рациональное использование доступных ресурсов и максимальные усилия по предотвращению или сдерживанию развития антибиотикорезистентности. Большинство критериев качества лечения, рассмотренных в настоящем обзоре, основывались главным образом с позиций клинической и экономической эффективности.

С точки зрения эффективности терапии многие рекомендации по применению антимикробных препаратов требуют критической переоценки. Предполагая даже самое небольшое преимущество при использовании антибиотика, следует сопоставить его с возможным риском развития резистентности и экономическими затратами. Именно поэтому многие годы оставался спорным вопрос о необходимости антибиотикопрофилактики при таких операциях, как грыжесечение, а также операциях на органах грудной клетки.

Давно вошедшая в практику во многих центрах *селективная деконтаминация* (СДК) желудочно-кишечного тракта у пациентов отделений интен-

сивной терапии не только не улучшает результаты лечения, но и изменяет состав нормальной микрофлоры с преобладанием грамположительных антибиотикорезистентных штаммов [111]. Результаты последних исследований свидетельствуют о том, что следует отказаться от СДК у этой категории больных [53]. Спорным остается и вопрос о необходимости эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* у больных с неязвенной диспепсией [112].

Для лечения некоторых заболеваний, при которых применение антибиотиков до недавнего времени считалось первой линией терапии, как, например, длительный прием макролидов или тетрациклинов у пациентов с угревой сыпью, должны использоваться альтернативные схемы, исключающие назначение антибактериальных препаратов [113].

Врачам следует отказаться от применения антибиотиков в тех случаях, когда нет убедительных доказательств их преимущества, а также когда имеется возможность выбора. Поэтому шире должны поддерживаться исследования, разрабатывающие эффективные альтернативные схемы лечения, в которые не входят антибиотики.

Оптимальным решением, позволяющим уменьшать объем используемых антибиотиков и тем самым решать проблему селективного давления, является применение более коротких курсов лечения. В последнее время проведены новый метаанализ и ряд исследований, ставившие целью выяснить, будут ли при лечении острого среднего отита короткие курсы антибактериальной терапии (5 дней) также эффективны, как принятые в американских стандартах 10-дневные курсы [114]. Но, несмотря на то что подобная тактика в целом способствует уменьшению объема потребления антибиотиков, следует признать, что во многих случаях при среднем отите вообще не требуется их назначение.

Голландские врачи, следуя национальным рекомендациям, получают хорошие результаты при лечении многих детей со средним отитом без применения антибиотиков [115]. В исследованиях по оценке эффективности коротких курсов антибактериальной терапии часто отмечается неоправданное назначение препаратов широкого спектра действия, например цефтриаксона, при лечении эндокардита, вызванного пенициллиночувствительным стрептококком [93].

Часто целью исследований по антибиотикопрфилактике в хирургии является сравнение эффективности введения одной дозы препаратов широкого спектра действия, например цефалоспоринов III поколения, с эффективностью введения 3 доз более старых препаратов [116]. Хотя и очевидно,

что проведение подобных исследований объясняется стремлением получить финансы от фармацевтических компаний, тем не менее такие публикации, видимо, приводят к увеличению использования врачами антибиотиков широкого спектра действия по изученным показаниям и уменьшению числа назначаемых доз этих препаратов.

Поскольку ограничение неоправданного назначения антимикробных препаратов и, следовательно, снижение их потребления ведет к сокращению затрат на лечение, а также в большинстве случаев сопровождается снижением антибиотикорезистентности, то уменьшением их использования достигаются одновременно 3 цели. Однако специалистам, занимающимся разработкой стандартов лечения, следует предвидеть, что в тех случаях, когда неадекватность антибактериальной терапии обусловлена недолеченностью пациентов, повышение ее качества в последующем будет приводить к увеличению расходов [22] или в лучшем случае к перераспределению имеющихся ресурсов [36].

За исключением такого показателя, как уменьшение общего объема потребления антибиотиков, пока что не разработано каких-либо специфических критериев, определяющих качественную антимикробную химиотерапию, позволяющую сдерживать рост резистентности и сохранить практическую ценность существующих антибактериальных препаратов. Неизвестными остаются и факторы, определяющие развитие устойчивости микроорганизмов в большинстве пар «препарат–возбудитель».

Недавно проведены исследования, посвященные изучению этих вопросов. Так, оказалось, что риск появления имипенеморезистентных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* при приеме имипенема был значительно выше, чем при приеме других антисингнойных препаратов [117]. Для микобактерий характерна низкая частота развития быстрой одноступенчатой резистентности *in vitro*, препятствующей применению рифампицина в качестве монотерапии при лечении туберкулеза. Но даже при этих условиях следует с осторожностью относиться к его широкому использованию для лечения инфекций, вызванных другими микроорганизмами (не микобактериями).

Вероятно, учитывая эффективность рифампицина в отношении стафилококков, устойчивых к остальным препаратам, оправданно применение его в составе комбинированной антибактериальной терапии при инфекциях, связанных с наличием у больных ортопедических имплантатов [118]. В указанном исследовании не только не отмечено появления рифампицинорезистентных штаммов, но и



оказалось, что включение в комбинированную терапию рифампицина предотвращает развитие устойчивости к хинолонам.

В то же время в другом исследовании было показано, что, несмотря на эффективность, использование центральных венозных катетеров, импрегнированных в целях профилактики катетерассоциированной бактериемии рифампицином и миноциклином, могло приводить к повышению резистентности к указанным препаратам [119].

Применение комбинированной терапии при лечении туберкулеза и ВИЧ-инфекции предотвращало формирование устойчивости возбудителей, при этом используемые препараты не изменяли нормальную микрофлору кишечника. Пока еще далеко не ясно, будет ли тактика назначения комбинаций препаратов широкого спектра действия сдерживать развитие резистентности. В то же время на основе математических моделей, в которых изменение количества чувствительных и резистентных штаммов возбудителя на фоне лечения определяется как функция от действия антибиотика, прогнозируется, что комбинированная терапия и более высокие дозы препарата могут сопровождаться меньшей резистентностью [120].

С учетом этих данных следует с осторожностью применять такие препараты, как азитромицин и тейкопланин, имеющие длительный период полувыведения и в связи с этим сохраняющиеся в тканях в низких концентрациях еще в течение нескольких дней после их отмены.

Полагают, что использование стандартов лечения для повышения его качества целесообразно в тех случаях, когда стандартизированный подход помогает оптимизировать выбор антимикробных препаратов и сроки их назначения, например для антибиотикопрофилактики в хирургии или при подборе эмпирической терапии у больных с бактериемией. Однако слишком широкое использование стандартов при лечении антибиотиками, по сути, будет приводить к постоянному монотонному селективному давлению и, следовательно, к развитию антибиотикорезистентности.

Соблюдению же индивидуального подхода при разработке определенной тактики лечения пациента будет способствовать привлечение для консультации инфекционистов и клинических микробиологов. Циклическое применение антибиотиков, то есть целенаправленная смена их во время лечения, в настоящее время все шире пропагандируется в качестве способа борьбы с антибиотикорезистентностью, несмотря на то что пока проведено мало исследований, подтверждающих его эффективность [121].

Показано, что изменение тактики антибактери-

альной терапии способствует эрадикации устойчивых штаммов, но при этом возникают другие проблемы. Так, по данным одного из исследований, снижение потребления цефалоспоринов на 80% в целях снижения антибиотикорезистентности у энтеробактерий привело к повышенному использованию имипенема (в 141% случаев), что, в свою очередь, способствовало увеличению числа имипенеморезистентных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* [122].

Некоторые свойства самих препаратов могут играть не менее важную роль в развитии антибиотикорезистентности. В зависимости от степени всасывания препаратов из желудочно-кишечного тракта или степени выведения их через кишечник с желчью они могут по-разному влиять на нормальную микрофлору кишечника и формирование устойчивости. Выделение препарата с секретом носоглотки или потом может способствовать развитию антибиотикорезистентности у микрофлоры ротоглотки и кожи.

Быстрее могут формировать устойчивость нормальной микрофлоры препараты широкого спектра действия, которые выделяются преимущественно с желчью, потом и отделяемым из носа. Существует даже публикация о развитии антибиотикорезистентности коагулазонегативных стафилококков кожи под действием низких концентраций ципрофлоксацина в потовой жидкости [123]. Местное применение антибиотиков, хотя и связывалось в прошлом с формированием устойчивости [124], на самом деле снижает воздействие препаратов широкого спектра на нормальную микрофлору. При этом скорее низкие концентрации препарата и большая продолжительность лечения, чем местный путь введения, больше снижают чувствительность микроорганизмов.

Степень риска развития антибиотикорезистентности для новых соединений с антимикробной активностью должна оцениваться уже на ранних этапах разработки препарата. До тех пор, пока в нашем распоряжении имеются многочисленные доказательства роли различных факторов, влияющих на чувствительность возбудителей, что позволяет сделать оптимальный выбор антибиотика, его дозу и продолжительность лечения, лучшее, что мы можем – это лечить больных согласно существующим протоколам.

Коррекция неоправданного использования препаратов широкого спектра действия врачами, которые не имеют специальной подготовки по инфекционным болезням, остается главной задачей «групп по контролю за применением антибиотиков». Эти группы должны состоять из микробиологов, врачей-инфекционистов и клинических фармакологов

и решать определенные задачи в пределах своей компетенции.

В развивающихся странах существует также ряд специфических проблем, не рассмотренных в данном обзоре, но требующих внимания. Отсутствие контроля за использованием препаратов, не

входящих в список жизненно важных, недостаток объективной информации о лекарственных средствах, низкая квалификация врачей, безрецептурная продажа некоторых антибиотиков – все это резко снижает качество антимикробной химиотерапии.

## Литература

1. Seppala H., Klaukka T., Vuopio-Varkila J., et al. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *New Engl J Med* 1997;337:441-6.
2. Kristinsson K.G. Modification of prescribers' behavior: the Icelandic approach. *Clin Microbiol Infect* 1999;5:4S43-7.
3. Chen D.K., McGeer A., de Azavedo J.C., Low D.E. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. *New Engl J Med* 1999;341:233-9.
4. Johnson A.P., Speller D.C.E., George R.C., Efstratiou A. Prevalence of antibiotic resistance to pneumococci in England and Wales: results of observational surveys in 1990 and 1995. *Br Med J* 1996;312:1454-6.
5. Struelens M.J. The epidemiology of antimicrobial resistance in hospital acquired infections: problems and possible solutions. *Br Med J* 1998;317:652-4.
6. Huyck M.M., Sahm D.F., Gilmore M.S. Multiple drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 1998;4:239-49.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *MMWR* 1998;29:405-8.
8. Winstanley T.G., Limb D.I., Eggington R., Hancock F. A 10 year survey of the antimicrobial susceptibility of urinary tract isolates in the UK; the microbe base project. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:591-4.
9. Rotimi V.O., Khoursheed M., Brazier J.S., Jamal W.Y., Khodakhast F.B. Bacteroides species highly resistant to metronidazole: an emerging clinical problem? *Clin Microbiol Infect* 1999;5:166-9.
10. Helweg-Larsen J., Benfield T.L., Eugen-Olsen J., Lundgren J.D., Lundgren B. Effects of mutations in *Pneumocystis carinii* dihydropteroate synthetase gene on outcome of AIDS-associated *P. carinii* pneumonia. *Lancet* 1999;354:1347-51.
11. Weinstein M.P., Towns M.L., Quartey S.M., et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteraemia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997;24:584-602.
12. Byl B., Clevenberg P., Jacobs F., et al. Impact of infectious diseases specialists and microbiological data on the appropriateness of antimicrobial therapy for bacteremia. *Clin Infect Dis* 1999;29:60-6.
13. Turett G.S., Blum S., Fazal B.A., Justman J.E., Telzak E.E. Penicillin resistance and other predictors of mortality in pneumococcal bacteremia in a population with high human immunodeficiency virus seroprevalence. *Clin Infect Dis* 1999;29:321-7.
14. Shlaes D.M., Gerding D.N., John J.F., et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the prevention of antimicrobial resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:275-91.
15. Gyssens I.C. How to optimize prescription of antimicrobial drugs. *Acta Clin Belg* 1999;54:7-12.
16. Belongia E.A., Schwartz B. Strategies for promoting judicious use of antibiotics by doctors and patients. *Br Med J* 1998;317:668-71.
17. Couper M.R. Strategies for the rational use of antimicrobials. *Clin Infect Dis* 1997;24(Suppl. 1):S154-6.
18. Gould I.M., Hampson J., Taylor E.W., Wood M.J. For the Working Party of the British Society for antimicrobial chemotherapy. Hospital antibiotic control measures in the UK. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:21-42.
19. Gyssens I.C., Van den Broek P.J., Kullberg B.J., Hekster Y.A., Van der Meer J.W.M. Optimizing antimicrobial therapy. A method for antimicrobial drug evaluation. *J Antimicrob Chemother* 1992;30:724-7.
20. Gyssens I.C., Geerligs I.E.J., Dony J.M.J., et al. Optimizing antimicrobial drug use in surgery: an intervention study in a Dutch university hospital. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:1001-12.
21. Gyssens I.C., Geerligs I.E.J., Nannini-Bergman M.G., Knappe J.T.A., Hekster Y.A., van der Meer J.W.M. Optimizing the timing of antimicrobial drug prophylaxis in surgery: an intervention study. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:301-8.
22. Gyssens I.C., Blok W.L., Van den Broek P.J., Hekster Y.A., Van der Meer J.W.M. Implementation of an educational program and an antibiotic order form to optimize quality of antimicrobial drug use in a department of internal medicine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;16:904-12.
23. Classen D.C., Evans R.S., Pestotnik S.L., Horn S.D., Menlove R.L., Burke J.P. The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound infection. *New Engl J Med* 1992;326:281-6.
24. Evans R.S., Pestotnik S.L., Classen D.C., et al. A computer-assisted management program for antibiotics and other anti-infective agents. *New Engl J Med* 1998;338:232-8.
25. Heininger A., Niemetz A.H., Keim M., Fretschner R., Doering G., Unertl K. Implementation of an interactive computer-assisted infection monitoring program at the bedside. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999;20:440-7.
26. Kunin C.M. Use of antibiotics: a brief exposition of the problem and some tentative solutions. *Ann Intern Med* 1973;79:555-60.

27. Dunagan W.C., Woodward R.S., Medoff G., et al. Antimicrobial misuse in patients with positive blood cultures. *Am J Med* 1989;87:253-9.
28. Volger B.W., Ross M.B., Brunetti H.R., Baumgartner D.D., Therasse D.G. Compliance with a restricted antimicrobial agent policy in a university hospital. *Am J Hosp Pharm* 1988;45:1540-4.
29. Maki D.G., Schuna A.A. A study of antimicrobial misuse in a university hospital. *Am J Med Sci* 1978;275:271-82.
30. Woodward R.S., Medoff G., Smith M.D., Gray J.L. Antibiotic cost savings from formulary restrictions and physician monitoring in a medical-school-affiliated hospital. *Am J Med* 1987;83:817-23.
31. Swindell P.J., Reeves D.S., Bullock D.W., Davies A.J., Spence C.E. Audits of antibiotic prescribing in a Bristol hospital. *Br Med J* 1983;286:118-22.
32. Sturm A.W. Rational use of antimicrobial agents and diagnostic microbiology facilities. *J Antimicrob Chemother* 1988;22:257-60.
33. Raz R., Sharir R., Ron A., Laks N. The influence of an infectious disease specialist on the antimicrobial budget of a community teaching hospital. *J Infect* 1989;18:213-9.
34. White A.C., Atmar R.L., Wilson J., Cate T.R., Stager C.E., Greenberg S.B. Effects of requiring prior authorization for selected antimicrobials: expenditures, susceptibilities, and clinical outcomes. *Clin Infect Dis* 1997;25:230-9.
35. Fowler V.G., Jr, Sanders L.L., Sexton D.J. et al. Outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia according to compliance with recommendations of infectious disease specialists: experience with 244 patients. *Clin Infect Dis* 1998;27:478-86.
36. Nathwani D., Davey P., France A.J., Phillips G., Orange G., Parratt D. Impact of an infection consultation service for bacteraemia on clinical management and use of resources. *Q J Med* 1996;89:789-97.
37. Gomez J., Conde Cavero S.J., Hernandez Cardona J.L., et al. The influence of the opinion of an infectious disease consultant on the appropriateness of antibiotic treatment in a general hospital. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:309-14.
38. Gyssens I.C., Smits-Caris C., Stolk-Engelaar M.V., Slooff T.J.J.H., Hoogkamp-Korstanje J.A.A. An audit of microbiology laboratory utilization. The diagnosis of infection in orthopedic surgery. *Clin Microb Infect* 1997;3:518-22.
39. Garner J.S., Jarvis W.R., Emori T.G., Horan T.C., Hughes J.M. CDC definitions for nosocomial infections. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
40. Weirich E., Rabin R.L., Maldonado Y., et al. Neutrophil CD11b expression as a diagnostic marker for early-onset neonatal infection. *J Pediatr* 1998;132:445-51.
41. Franz A.R., Steinbach G., Kron M., Pohlandt F. Reduction of unnecessary antibiotic therapy in newborn infants using interleukin-8 and C-reactive protein as markers of bacterial infections. *Pediatrics* 1999;104:447-53.
42. Gendrel D., Raymond J., Coste J., et al. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin-6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:875-81.
43. Ugarte H., Silva E., Mercan D., De Mendonca A., Vincent J.-L. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999;27:498-504.
44. O'Brien K.L., Dowell S.F., Schwartz B., Marcy M., Phillips W.R., Gerber M.A. Acute sinusitis – principles of judicious use of antimicrobial agents. *Pediatrics* 1998;101:174-7.
45. Dowell S.F., Marcy S.M., Phillips W.R., Gerber M.A., Schwartz B. Otitis media – principles of judicious use of antimicrobial agents. *Pediatrics* 1998;101:165-71.
46. Bauchner H., Pelton S.I., Klein J.O. Parents, physicians, and antibiotic use. *Pediatrics* 1999;103:395-401.
47. Baker M.D., Bell L.M., Avner J.R. The efficacy of routine outpatient management without antibiotics of fever in selected infants. *Pediatrics* 1999;103:627-31.
48. Enlund A.L., Varenhorst E. Morbidity of ultrasound-guided transrectal cor biopsy of the prostate without prophylactic antibiotic therapy. A prospective study in 415 cases. *Br J Urol* 1997;79:777-80.
49. Harris A., Chan A.C., Torres-Viera C. Hammett R, Carr-Locke D. Meta-analysis of antibiotic prophylaxis in endoscopic retrograde pancreatography (ERCP). *Endoscopy* 1999;31:718-24.
50. Villalobos T., Arango C., Kubilis P., Rathore M. Antibiotic prophylaxis after basilar skull fractures: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1998;27:364-9.
51. Schlager T.A., Anderson S., Trudell J. Owen Hendley J. Nitrofurantoin prophylaxis for bacteriuria and urinary tract infection in children with neurogenic bladder on intermittent catheterization. *J Pediatr* 1998;132:704-8.
52. Cummings P., Del Beccaro M.A. Antibiotics to prevent infection of simple wounds: a meta-analysis of randomized studies. *Am J Emerg Med* 1995;13:396-400.
53. Bonten M., Kullberg B.J., van Dalen R., et al. Selective digestive decontamination in patients in intensive care. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000, in press.
54. Egarter C., Leitich H., Husslein P., Kaider A., Schemper M. Adjunctive antibiotic treatment in preterm labor and neonatal morbidity: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1996;88:303-9.
55. Fahey T., Stocks N., Thomas T. Systematic review of the treatment of upper respiratory tract infection. *Arch Dis Child* 1998;79:225-30.
56. Bent S., Saint S., Vittinghoff E., Grady D. Antibiotics in acute bronchitis: a meta-analysis. *Am J Med* 1999;107:62-7.
57. Nickman N.A., Blissenbach H.F., Herrick J.D. Medical committee enforcement of policy limiting postsurgical antibiotic use. *Am J Hosp Pharm* 1984;41:2053-6.
58. Everitt D.E., Soumerai S.B., Avorn J., Klapholz H., Wessels M. Changing surgical antimicrobial prophylaxis practices through education targeted at senior department leaders. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1990;11:578-83.
59. Silver A., Eichorn A., Krai J., et al. Timeliness and use of antibiotic prophylaxis in selected inpatient surgical procedures. *Am J Surg* 1996;171:548-52.
60. Gorecki P., Schein M., Rucinski J.C., Wise L. Antibiotic administration in patients undergoing common surgical procedures in a community teaching hospital: the chaos continues. *World J Surg* 1999;23:429-32.

61. Girotti M.J., Fodoruk S., Irvine-Meek J., Rotstein O.D. Antibiotic handbook and pre-printed perioperative order forms for surgical antibiotic prophylaxis: do they work? *Can J Surg* 1990;33:385-8.
62. Griffiths L.R., Bartzokas C.A., Hampson J.P., Ghose A.R. Antibiotic cost and prescribing patterns in a recently commissioned Liverpool teaching hospital. Part 1: antimicrobial therapy. *J Hosp Infect* 1986;48:159-67.
63. Mozillo N., Greco D., Pescini A., Formato A. Chemoprophylaxis in the surgical ward: results of a national survey in Italy. *Eur J Epidemiol* 1988;4:357-9.
64. Sasse A., Mertens R., Sion J.P., et al. Surgical prophylaxis in Belgian hospitals: estimate of costs and potential savings. *J Antimicrob Chemother* 1998;41:267-72.
65. Finkelstein R., Reinhertz G., Embom A. Surveillance of the use of antibiotic prophylaxis in surgery. *Isr J Med Sci* 1996;32:1093-7.
66. Johnston J., Harris J., Hall J.C. The effect of an educational intervention on the use of perioperative antimicrobial agents. *Austr Clin Rev* 1992;12:53-6.
67. Dunagan W.C., Woodward R.S., Medoff G., et al. Antibiotic misuse in two clinical situations: positive blood culture and administration of aminoglycosides. *Rev Infect Dis* 1991;13:405-12.
68. Gross P.A., Barrett T.L., Patchen Dellinger E., et al. Quality standard for the treatment of bacteremia. *Clin Infect Dis* 1994;18:428-30.
69. Elhanan G., Sarhat H., Raz R. Empiric antibiotic treatment and the misuse of culture results and antibiotic sensitivities in patients with community-acquired bacteraemia due to urinary tract infection. *J Infect* 1997;35:283-8.
70. Wilkins E.G.L., Hickey M.M., Khoo S., et al. Northwick Park Infection Consultation Service. Part II. Contribution of the service to patient management: an analysis of results between September 1987 and July 1990. *J Infect* 1991;23:57-63.
71. Cunney R.J., McNamara E.B., Alansari N., Loo B., Smyth E.G. The impact of blood culture reporting and clinical liaison on the empiric treatment of bacteraemia. *J Clin Pathol* 1997;50:1010-2.
72. Doern G.Y., Vautour R., Gaudet M., Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol* 1994;32:1757-62.
73. Rybak M.J., Abate B.J., Kang S.L., Ruffing M.J., Lerner S.A., Drusano G.L. Prospective evaluation of the effect of an aminoglycoside dosing regimen on rates of observed nephrotoxicity and ototoxicity. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1549-55.
74. Li S.C., Ioannides-Demos L.L., Spicer W.J., et al. Prospective audit of aminoglycoside usage in a general hospital with assessments of clinical processes and adverse clinical outcomes. *Med J Aust* 1989;151:224-32.
75. Shrimpton S.B., Milmoie M., Wilson A.P.R., et al. Audit of prescription and assay of aminoglycosides in a UK teaching hospital. *J Antimicrob Chemother* 1993;31:599-606.
76. Gyssens I.C., Lennards C.A., Hekster Y.A., Van der Meer J.W.M. The cost of antimicrobial chemotherapy. A method for cost evaluation. *Pharm Weekbl Sci* 1991;13(6):248-53.
77. Briceland L.L., Quintiliani R., Nightingale C.H. Multidisciplinary cost-containment program promoting oral metronidazole for treatment of antibiotic associated colitis. *Am J Hosp Pharm* 1988;45:122-5.
78. Crist K.D., Nahata M.C., Ety J. Positive impact of a therapeutic drug-monitoring program on total aminoglycoside dose and cost of hospitalization. *Ther Drug Monit* 1987;9:306-10.
79. Karki S.D., Holden J.M.C., Mariano E. A team approach to reduce antibiotic costs. *DICP Ann Pharmacother* 1990;24:202-5.
80. Evans R.S., Pestotnik S.L., Burke J.P., Gardner R.M., Larsen R.A., Classen D.C. Reducing the duration of prophylactic antibiotic use through computer monitoring of surgical patients. *DICP Ann Pharmacother* 1990;24:351-4.
81. Grasela T.H. Jr., Paladino J.A., Schentag J.J., et al. Clinical and economic impact of oral ciprofloxacin as follow-up to parenteral antibiotics. *DICP Ann Pharmacother* 1991;25:857-62.
82. Macris M.H., Hartman N., Murray B., et al. Studies of the continuing susceptibility of group A streptococcal strains to penicillin during eight decades. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:377-81.
83. Van der Meer J.W.M., Gyssens I.C. Considerations in providing antibiotic therapy. *The APUA Newsletter* 1992;winter:3-5.
84. Frimodt-Moller N., Espersen F., Jacobsen B., Schlundt J., Meyling A., Wegener H. Problems with antibiotic resistance in Spain and their relation to antibiotic use in humans elsewhere. *Clin Infect Dis* 1997;25:939-41.
85. Halls G.A. The management of infections and antibiotic therapy: a European survey. *J Antimicrob Chemother* 1993;31:985-1000.
86. Kashuba A.D., Nafziger A.N., Drusano G.L., Bertino J.S.J. Optimizing aminoglycoside therapy for nosocomial pneumonia caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:623-9.
87. Thomas J.K., Forrest A., Bhavnani S.M., et al. Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:521-7.
88. Van Houten M.A., Luinge K., Laseur M., Kimpen J.L. Antibiotic utilisation for hospitalised paediatric patients. *Int J Antimicrob Agents* 1998;10:161-4.
89. Guillemot D., Carbon C., Balkau B., et al. Low dosage and long treatment duration of beta-lactam. Risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J Am Med Assoc* 1996;279:365-70.
90. Guillemot D., Carbon C., Vauzelle-Kervroedan F., et al. Inappropriateness and variability of antibiotic prescription among French office based physicians. *J Clin Epidemiol* 1998;51:61-8.
91. Visser L.G., Arnouts P., van Furth R., Mattie H., van den Broek P.J. Clinical pharmacokinetics of continuous intravenous administration of penicillins. *Clin Infect Dis* 1993;17:491-5.
92. Tanner D.J. Cost containment of reconstituted parenteral antibiotics: personnel and supply costs associated with

- preparation, dispensing, and administration. *Rev Infect Dis* 1984;6(suppl 4):S924-37.
93. Sexton D.J., Tenenbaum M.J., Wilson W.R., et al. Ceftriaxone once daily for four weeks compared with ceftriaxone plus gentamycin once daily for two weeks for treatment of endocarditis due to penicillin-susceptible streptococci. *Clin Infect Dis* 1998;27:1470-4.
  94. Conus P., Francioli P. Relationship between ceftriaxone use and resistance of *Enterobacter* species. *J Clin Pharm Ther* 1992;17:303-5.
  95. Feder H.M., Gerber M.A., Randolph M.F., Stelmach P.S., Kaplan E.L. Once-daily therapy for streptococcal pharyngitis with amoxicillin. *Pediatrics* 1999;103:47-51.
  96. Paladino J.A., Sperry H.E., Backes J.M., et al. Clinical and economic evaluation of oral ciprofloxacin after an abbreviated course of intravenous antibiotics. *Am J Med* 1991;91:462-70.
  97. Ehrenkranz N.J., Nerenberg D.E., Shultz J.M., Slater K.C. Intervention to discontinue parenteral antimicrobial therapy in patients hospitalized with pulmonary infections: effect on shortening hospital stay. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13:21-32.
  98. Frighetto L., Nickoloff D., Martinusen S.M., Mamdani F.S., Jewesson P.J. Intravenous-to-oral stepdown program: four years of experience in a large teaching hospital. *Ann Pharmacother* 1992;26:1447-51.
  99. Schentag J.J., Ballow C.H., Fritz A.L., et al. Changes in antimicrobial agent usage resulting from interactions among clinical pharmacy, the infectious diseases division, and the microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993;16:255-64.
  100. MacGregor R.R., Graziani A.L. Oral administration of antibiotics: a rational alternative to the parenteral route. *Clin Infect Dis* 1997;24:457-67.
  101. Seligman S.J. Reduction in antibiotic costs by restricting use of an oral cephalosporin. *Am J Med* 1981;71:941-4.
  102. Shetty N., Shulman R.I., Scott G.M. An audit of first generation cephalosporin usage. *J Hosp Infect* 1999;41:229-32.
  103. Frieden T.R., Mangi R.J. Inappropriate use of oral ciprofloxacin. *J Am Med Assoc* 1990;264:1438-40.
  104. Davey P., Nathwani D. Sequential antibiotic therapy: the right patient, the right time and the right outcome. *J Infect* 1998;37(Suppl 1):37-44.
  105. Moss F., McNicol M.W., McSwiggan D.A., Miller D.L. Survey of antibiotic prescribing in a district general hospital I. Pattern of use. *Lancet* 1981; ii:349-52.
  106. Gould I.M., Jappy B. Trends in hospital antibiotic prescribing after introduction of an antibiotic policy. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:896-904.
  107. Fong T., Akriviadis E.A., Runyon B.A., Reynolds T.B. Polymorphonuclear cell count response and duration of antibiotic therapy in spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1989;9:423-6.
  108. Pestotnik S.L., Classen D.C., Evans R.S., Burke J.P. Implementing antibiotic practice guidelines through computer-assisted decision support: clinical and financial outcomes. *Ann Intern Med* 1996;124:884-90.
  109. Meehan T.P., Fine M.J., Krumholz H.M., et al. Quality of care, process, and outcomes in elderly patients with pneumonia. *J Am Med Assoc* 1997;278:2080-4.
  110. Natsch S., Kullberg B.J., Meis J.F.G.M., Van der Meer J.W.M. Earlier initiation of antibiotic treatment for severe infections after intervention to improve the organization and specific guidelines in the emergency room. *Arch. Intern. Med.* 2000; in press.
  111. Lingnau W., Berger J., Javorsky F., Fille M., Allerberger F., Benzer H. Changing bacterial ecology during a period of selective intestinal decontamination. *J Hosp Infect* 1998;39:195-206.
  112. Guslandi M. Antibiotics should not be used for non-ulcer dyspepsia. *Br Med J* 1999;318:670.
  113. Cheesbrough M.J. Antibiotics should not be first treatment for acne. *Br Med J* 1999;318:669.
  114. Kozyrskyj A.L., Hildes-Ripstein G.E., Longstaffe S.E., Wincott J.L., Sita Klassen T.P., Moffatt M.E. Treatment of acute otitis media with a shortened course of antibiotics: a meta-analysis. *J. Am. Med. Assoc.* 1998;279.
  115. Froom J., Culpepper L., Jacobs M., et al. Antimicrobials for otitis media? A review from the primary care network. *Br Med J* 1997;315:98-102.
  116. Rowe-Jones D.C., Peel A.L.G., Kingston R.D., Shaw J.F.L., Teasdale C., Cole D.S. Single dose cefotaxime plus metronidazole versus three dose cefuroxime plus metronidazole as prophylaxis against wound infection in colorectal surgery: multicentre prospective randomized study. *Br Med J* 1990;30:18-22.
  117. Carmeli Y., Troillet N., Eliopoulos G.M., Samore M.H. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1379-82.
  118. Zimmerli W., Widmer A.F., Blatter M., Ochsner P.E. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections. *J Am Med Assoc* 1998;279:1537-41.
  119. Darouiche R.O., Raad I.I., Heard S.O., et al. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. *Catheter Study Group. New Engl J Med* 1999;340:1-8.
  120. Lipsitch M., Levin B. The population dynamics of antimicrobial chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:363-73.
  121. John J.F.J. Antibiotic cycling: is it ready for prime time? *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:9-11.
  122. Rahal J.J., Urban C., Horn D., et al. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *J Am Med Assoc* 1998;280:1233-7.
  123. Hoiby N., Jarlov J.O., Kemp M. et al. Excretion of ciprofloxacin in sweat and multiresistant *Staphylococcus epidermidis*. *Lancet* 1997;349:167-9.
  124. Graham D.R., Correa-Villasenor A., Andersen R.L., Vollman J.H., Baine W.B. Epidemic neonatal gentamycin-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection associated with nonspecific topical use of gentamycin. *J Pediatr* 1980;97:972-8.

УДК 616.233-002.2-085.23

## Фармакотерапия обострения хронического бронхита в амбулаторной практике: результаты фармакоэпидемиологического исследования

С.Н. Козлов<sup>1</sup>, С.А. Рачина<sup>1</sup>, Н.П. Домникова<sup>2</sup>, О.И. Карпов<sup>3</sup>,  
В.Б. Кузин<sup>4</sup>, И.В. Лещенко<sup>5</sup>, Р.Я. Лихачева<sup>6</sup>, С.В. Недогода<sup>7</sup>, Л.С. Страчунский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Россия

<sup>2</sup>Новосибирская государственная медицинская академия, Россия

<sup>3</sup>Институт фармакологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Россия

<sup>4</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Россия

<sup>5</sup>Медицинское объединение «Новая больница» городской клинической больницы № 33, г. Екатеринбург, Россия

<sup>6</sup>Городская поликлиника № 7, Москва, Россия

<sup>7</sup>Волгоградская государственная медицинская академия, Россия

Проанализировано 783 случая лечения обострений хронического бронхита (ОХБ) у амбулаторных пациентов в возрасте от 16 до 92 лет ( $51,6 \pm 13,7$  года). Результаты обрабатывались с помощью базы данных «*Pharmacotherapeutical Data Analysis*» (на основе компьютерной программы Excel для Windows 97). Для кодирования лекарственных средств (ЛС) использовалась АТС (Anatomical Therapeutic Chemical) классификация, диагнозов – МКБ-10.

Наиболее часто назначавшимися группами ЛС были антибиотики для системного применения (83,9%), ЛС для лечения кашля и простуды (75,5%), бронхолитики (48,7%), антигистаминные ЛС (23,0%), витамины (9,7%). Среди антибактериальных препаратов (АБП) наиболее часто назначали ко-тримоксазол – 31,8%, цiproфлоксацин – 16,4%, ампициллин – 14,5%, гента-

мицин – 10,0%. Монотерапия применялась у 84,8%, 2–3 АБП на курс лечения – у 15,2% пациентов. Средняя длительность курса терапии АБП составила  $8,2 \pm 3,4$  дня. Из бронхолитиков наиболее часто назначались препараты теофиллина (76,1%), М-холинолитики (15,4%), многокомпонентные эфедринсодержащие препараты (14,9%).

Результаты исследования показали существенные недостатки в тактике лечения ОХБ: нерациональный выбор АБП, применение устаревших и небезопасных ЛС, широкое применение ЛС с недоказанной клинической эффективностью.

**Ключевые слова:** обострение хронического бронхита, антибиотикотерапия, фармакоэпидемиология.

Контактный адрес:

Леонид Соломонович Страчунский

214019, Россия, Смоленск, а/я 5

Тел.: + 0812-611301, 611327

Факс: + 0812-6112 94

Эл. почта: str@antibiotic.ru

## Therapy of Exacerbation of Chronic Bronchitis in Ambulatory Practice: the Results of the Pharmacoepidemiological Study

S.N. Kozlov<sup>1</sup>, S.A. Ratchina<sup>1</sup>, N.P. Domnikova<sup>2</sup>, O.I. Karpov<sup>3</sup>, V.B. Kuzin<sup>4</sup>, I.V. Leschenko<sup>5</sup>, R.J. Likhatchova<sup>6</sup>, S.V. Nedogoda<sup>7</sup>, L.S. Stratchounski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Russia

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical Academy, Russia

<sup>3</sup>Institute of Pharmacology, S.-Petersburg State Medical University named under I.P. Pavlov, Russia

<sup>4</sup>Nizjni Novgorod State Medical Academy, Russia

<sup>5</sup>Ekaterinburg Clinical Hospital N 33, Ekaterinburg, Russia

<sup>6</sup>Outpatient department N 7, Moscow, Russia

<sup>7</sup>Volgograd State Medical Academy, Russia

Case histories of outpatients with acute exacerbation of chronic bronchitis (AECB) were analyzed. Diagnoses were classified according to the ICD-10, antimicrobials – to the ATC classification. Altogether 783 case histories of patients aged from 16 to 92 (average age  $51,6 \pm 13,7$ ) were included in the study.

The most frequently prescribed group of medications were antimicrobials for systemic use (83,9%), cough and cold preparations (75,5%), bronchodilators (48,7%), antihistamines (23,0%) and vitamins (9,7%). The most common antimicrobial prescribed was co-trimoxazole (31,8%), followed by ciprofloxacin (16,4%), ampicillin (14,5%) and gentamycin (10,0%). For antimicrobial treat-

ment monotherapy was used in 84,8% of cases, combination of 2–3 antibiotics – in 15,2% of patients. Average duration of antimicrobial therapy was  $8,2 \pm 3,4$  days. The most common bronchodilators prescribed were preparations of theophylline (76,1%), M-anticholinergic agents (15,4%) and complex ephedrine-containing medications (14,9%).

This study has shown unacceptably high rate of inappropriate approach to the therapy of AECB: irrational choice of antibacterials, use of archaic and potentially toxic drugs, wide use of medications with non-proven clinical efficacy.

**Key words:** exacerbation of chronic bronchitis, antimicrobial therapy, pharmacoepidemiology.

### Введение

*Хронический бронхит* (ХБ) – широко распространенная болезнь, поражающая от 10 до 25% взрослого населения и характеризующаяся растущим уровнем заболеваемости и смертности во всем мире [1].

Так, в США страдают ХБ более 12 млн человек [1]. Распространенность ХБ в Европе варьирует от 3,7% в Дании до 4,5% в Норвегии и 6,7% в Швеции [2]. В Великобритании ХБ является третьей по частоте причиной смерти взрослых мужчин, уступая только смерти от инфаркта миокарда и рака легких [3]. Каждый больной ХБ в среднем переносит 3 обострения в год, что, например, для населения такой страны, как США, суммарно составляет 30 млн случаев обострений [4].

Вследствие необратимости возникающих в дыхательных путях изменений ХБ является неизлечимым заболеванием, а основные его симптомы имеют тенденцию к неуклонному прогрессированию. Поэтому основная цель лечения заключается в увеличении продолжительности жизни пациентов и сохранении ее высокого качества, замедлении прогрессирования морфологических изменений в ды-

хательных путях, предупреждении и адекватном лечении обострений и осложнений ХБ [1, 5]. В решении этих задач помимо устранения этиологических причин ХБ и активной иммунизации важное место занимает фармакотерапия.

Как правило, пациенты с ХБ становятся объектом внимания врачей в период обострения. Большая часть из них получает лечение в амбулаторных условиях [4].

*Цель настоящего исследования* заключалась в том, чтобы получить объективные данные о практике применения *лекарственных средств* (ЛС) при *обострении хронического бронхита* (ОХБ) в амбулаторных условиях в различных регионах России.

### Материал и методы исследования

Исследование проводилось в 7 центрах – в Волгограде, Екатеринбурге, Москве, Нижнем Новгороде, Новосибирске, Санкт-Петербурге и Смоленске. В каждом из них последовательно отбирались и анализировались амбулаторные карты пациентов старше 16 лет, обращавшихся в 1998 г. за амбулаторной помощью по поводу ОХБ.

На каждый случай ОХБ заполнялась *индивиду-*

Таблица 1. Демографическая характеристика пациентов с обострением хронического бронхита (по полу и возрасту)

Центр	Мужчины		Женщины		Всего, <i>n</i>	Возраст, лет		
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>Mean</i> ± <i>SD</i>	<i>Min</i> – <i>Max</i>	<i>Median</i>
Волгоград	56	56,0	44	44,0	100	47,5±11,5	34–62	48
Екатеринбург	51	51,0	49	49,0	100	51,5±15,3	19–84	50
Москва	66	64,7	36	35,3	102	62,8±15,4	22–89	65
Нижний Новгород	72	43,6	93	56,4	165	49,6±15,1	16–92	51
Новосибирск	54	50,0	54	50,0	108	49,6±11,2	18–70	50
Санкт-Петербург	48	44,4	60	55,6	108	51,1±17,1	19–89	52
Смоленск	51	51,0	49	49,0	100	49,0±10,0	21–70	49
Всего ...	398	49,7	385	50,3	783	51,6±13,7	16–92	52

альная регистрационная карта (ИРК) с указанием демографических данных пациента, медицинского анамнеза, назначавшихся ЛС, режима их применения и длительности лечения.

Эффективность терапии оценивалась на основании динамики клинических симптомов и результатов дополнительных методов исследования, в частности лабораторных и микробиологических, отмеченных в амбулаторной карте.

Данные обрабатывались с помощью компьютерной программы «*PharmacoTherapeutical Data Analysis*» (С.Н. Козлов, Б.Б. Макушкин), разработанной на основе базы управления данными Microsoft Access. Для кодирования ЛС использовалась АТС (Anatomical Therapeutic Chemical) классификация, диагнозов – МКБ-10.

Статистический анализ выполнялся с использованием компьютерной программы Excel для Windows 97. Для качественных переменных определялась частота случаев и доля (в %) от общего числа случаев, для количественных переменных – средняя арифметическая (*Mean*), стандартное от-

клонение (*SD*), минимальное значение (*Min*), максимальное значение (*Max*), медиана (*Median*).

### Результаты исследования

В анализ было включено 783 пациента с ОХБ (табл. 1). Средний возраст пациентов составил 51,6±13,7 года, 158 (20,2%) из них были старше 65 лет. Сопутствующая патология отмечена у 38,1% (298/783) пациентов. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями оказались артериальная гипертензия – 10,7% (84/783), ишемическая болезнь сердца – 8,4% (66/783), бронхиальная астма – 3,2% (25/783). В 16,3% (128/783) случаев течение ХБ осложнялось дыхательной недостаточностью, в 2,8% (22/783) – недостаточностью кровообращения.

Антибиотики для системного применения были наиболее часто назначавшейся группой препаратов. Они использовались в 83,9% (657/783) случаев и чаще всего назначались в Санкт-Петербурге, Нижнем Новгороде и Смоленске – у 99,1, 96,4 и 96,0% пациентов соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Наиболее часто применявшиеся группы лекарственных средств у пациентов с обострением хронического бронхита, %

Группа ЛС	Всего, <i>n</i> =783	Вг <sup>1</sup> , <i>n</i> =100	Екб <sup>2</sup> , <i>n</i> =100	М <sup>3</sup> , <i>n</i> =102	НН <sup>4</sup> , <i>n</i> =165	Нс <sup>5</sup> , <i>n</i> =108	СП <sup>6</sup> , <i>n</i> =108	С <sup>7</sup> , <i>n</i> =100
Антибиотики для системного применения	83,9	84,0	57,0	52,0	96,4	93,5	99,1	96,0
ЛС для лечения кашля и простуды	75,5	85,0	76,0	99,0	60,6	65,7	69,4	83,0
Антиастматические ЛС*	48,7	35,0	92,0	57,8	49,1	45,4	13,9	50,0
Антигистаминные ЛС для системного применения	23,0	9,0	5,0	5,9	63,0	0,9	11,1	43,0
Витамины	9,7	6,0	1,0	2,0	9,1	13,0	12,0	25,0
Местные противогрибковые ЛС	9,5	–	–	1,0	41,8	–	1,0	3,0
Минеральные добавки	9,1	1,0	1,0	1,0	34,5	–	7,4	3,0
Анальгетики	5,1	11,0	6,0	–	1,8	0,9	7,4	12,0

1 – Волгоград, 2 – Екатеринбург, 3 – Москва, 4 – Нижний Новгород, 5 – Новосибирск, 6 – Санкт-Петербург, 7 – Смоленск.

\*Включает бронхолитики, ингаляционные глюкокортикоиды и мембраностабилизирующие препараты.



Из антибактериальных препаратов (АБП) чаще назначали ко-тримоксазол – 31,8%, ципрофлоксацин – 16,4%, ампициллин – 14,5% и гентамицин – 10,0% (табл. 3).

Ко-тримоксазол был самым часто применявшимся АБП в Санкт-Петербурге, Волгограде, Екатеринбурге, Москве и Нижнем Новгороде. В Смоленске чаще использовались доксициклин и гентамицин – 26,0 и 25,0% пациентов соответственно, в Новосибирске – ципрофлоксацин – 26,7% (табл. 3).

Монотерапия применялась у 84,8% (557/657) пациентов; 15,2% (100/657) получали 2–3 АБП на курс лечения.

В 88% (675/767) случаев АБП назначались внутрь, в 12% (92/767) – внутримышечно. Средняя длительность курса антибактериальной терапии (АБТ) составила  $8,2 \pm 3,4$  дня.

Второй по частоте назначения группой ЛС были препараты для лечения кашля и простуды (табл. 2). Они применялись у 75,5% (591/783) пациентов. В качестве отхаркивающих препаратов и муколитиков чаще использовались бромгексин, мукалтин и бронхолитин. Они назначались в 67,4% (391/580), 14,1% (82/580) и 13,3% (77/580) случаев соответственно.

Бронхолитики являлись третьей по частоте применения группой ЛС. Их назначали 48% (376/783) пациентов. Среди бронхолитиков преобладали препараты теофиллина (табл. 4). Значительно реже применялись м-холинолитики (ипратропиум бромид),  $\beta_2$ -агонисты короткого действия, комбинированные препараты, содержащие м-холинолитик и

$\beta_2$ -агонист (табл. 4). В 14,9% (56/376) случаев назначали многокомпонентные эфедриносодержащие препараты – теофедрин и солутан.

Ингаляционные глюкокортикоиды (чаще беклометазона дипропионат) применялись у 2,6% (20/783) пациентов, системные глюкокортикоиды – у 1,0% (8/783). Мембраностабилизирующие препараты (кромогликат натрия, недокромил) и их комбинации с  $\beta_2$ -агонистами короткого действия использовались в 1,0% (8/783) случаев.

Частота назначения в центрах других групп ЛС существенно варьировала. Антигистаминные препараты назначались преимущественно в Нижнем Новгороде и Смоленске, местные противогрибковые препараты (нистатин, леворин) чаще применялись в Нижнем Новгороде (табл. 2).

Клинический эффект от проведенной терапии отмечался у 90,7% (710/783) пациентов. Частота клинической неэффективности составила 9,3% (73/783). Наиболее высокой клинической неэффективностью отмечалась в Смоленске и Новосибирске – 18,0% (18/100) и 15,7% (17/108) соответственно.

### Обсуждение результатов исследования

Несмотря на появление в последние годы многочисленных руководств по терапии инфекций дыхательных путей, в тактике лечения ОХБ по-прежнему остается ряд нерешенных вопросов. В первую очередь это касается противоречивого отношения к применению АБП. Как показывает проведенное ис-

Таблица 3. Частота применения антибиотиков при обострении хронического бронхита, %

Препарат	Всего, n=657	Вг <sup>1</sup> , n=84	Екб <sup>2</sup> , n=57	М <sup>3</sup> , n=53	НН <sup>4</sup> , n=159	Нс <sup>5</sup> , n=101	СПб <sup>6</sup> , n=107	С <sup>7</sup> , n=96
Ко-тримоксазол	31,8	38,1	33,3	32,1	18,9	7,9	77,6	20,8
Ципрофлоксацин	16,4	27,4	21,1	26,4	5,0	26,7	6,5	17,7
Ампициллин	14,5	7,1	10,5	5,7	15,7	15,8	15,9	22,9
Гентамицин	10,0	8,3	1,8	–	14,5	10,9	–	25,0
Доксициклин	9,9	8,3	17,5	–	13,2	2,0	–	26,0
Эритромицин	5,9	–	10,5	–	12,6	6,9	3,7	2,1
Ампициллин/оксациллин	4,3	1,2	–	5,7	11,9	4,0	0,9	–
Спирамицин	3,8	–	17,5	1,9	–	13,9	–	–
Мидекамицин	3,5	8,3	–	–	–	5,0	0,9	10,4
Линкомицин	3,3	–	–	–	13,2	–	–	1,0
Азитромицин	2,9	–	–	18,9	1,3	5,9	–	1,0
Прочие	10,4*	3,6	1,8	9,4	20,1	19,9	2,7	3,1

1 – Волгоград, 2 – Екатеринбург, 3 – Москва, 4 – Нижний Новгород, 5 – Новосибирск, 6 – Санкт-Петербург, 7 – Смоленск.

\* Амоксициллин – 2,3%, метациклин – 2,3%, олететрин – 0,9%, амоксициллин/клавуланат – 0,9%, стрептомицин – 0,6%, рокситромицин – 0,6%, сульфален – 0,3%, цефаклор – 0,3%, цефуросим – 0,3%, цефалексин – 0,3%, тетрациклин – 0,2%, сульфадиметоксин – 0,2%, хлорамфеникол – 0,2%, феноксиметилпенициллин – 0,2%, оксациллин – 0,2%, цефтибутен – 0,2%, фузидин – 0,2%, олеандомицин – 0,2%, кларитромицин – 0,2%, цефотаксим – 0,2%.

Таблица 4. Частота применения бронхолитиков при обострении хронического бронхита, %

Препарат	Всего, n=376	Вг <sup>1</sup> , n=34	Екб <sup>2</sup> , n=90	М <sup>3</sup> , n=59	НН <sup>4</sup> , n=81	Нс <sup>5</sup> , n=48	СПб <sup>6</sup> , n=15	С <sup>7</sup> , n=49
Теофиллин короткого действия	38,6	58,8	–	–	64,2	8,3	100,0	98,0
Теофиллин пролонгированный	37,5	41,2	41,1	64,4	28,4	29,2	–	18,4
Ипратропиум бромид	15,4	–	36,7	37,3	–	4,2	–	2,0
Беродуал	12,2	–	24,4	6,8	–	41,7	–	–
Эфедриносодержащие ЛС (теофедрин, солутан)	14,9	14,7	11,1	5,1	34,6	20,8	–	–
Сальбутамол	8,0	2,9	1,1	1,7	3,7	14,6	–	12,2
Фенотерол	4,8	2,9	5,6	–	2,5	16,7	–	4,1
Сальметерол	1,3	–	1,1	–	–	8,3	–	–
Кенбуферол	0,3	–	–	–	–	2,1	–	–

1 – Волгоград, 2 – Екатеринбург, 3 – Москва, 4 – Нижний Новгород, 5 – Новосибирск, 6 – Санкт-Петербург, 7 – Смоленск.

следование, в большинстве центров АБП являются основным компонентом терапии ОХБ.

Сомнения в целесообразности назначения АБП при ОХБ связаны с несколькими причинами.

В о - п е р в ы х, бактерии не являются единственной причиной обострения заболевания. ОХБ также может быть связано с вирусной инфекцией, массивной экспозицией аэроирритантов, в первую очередь табачного дыма, и с воздействием аллергенов [6, 7].

Частота обнаружения бактериальных возбудителей в мокроте при ОХБ, наиболее частыми из которых являются *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, обычно не превышает 50% [8, 9].

В о - в т о р ы х, так как при ОХБ в патологический процесс обычно вовлекается только слизистая оболочка, даже без этиотропной терапии у значительного числа пациентов может наступать спонтанная ремиссия [10].

Кроме того, у 25% пациентов бактериальная колонизация слизистой оболочки дыхательных путей наблюдается и вне периода обострения [11], а клинически эффективная АБТ не всегда сопровождается микробиологической эрадикацией.

Опубликованные в 1995 г. результаты метаанализа клинических исследований, в которых оценивалась эффективность применения АБП при ОХБ, показали небольшое статистически значимое преимущество АБП перед плацебо [12].

В группе АБТ отмечались более высокая клиническая эффективность и более быстрый и значимый прирост показателей функции внешнего дыхания [12]. Исследование N.R. Anthonisen et al. показало, что преимущества применения АБП наиболее очевидны при наличии как минимум 2 или 3 классических “виннипегских” критериев ОХБ (усиле-

ние одышки, увеличение объема мокроты и ее гнойного компонента) [10].

Не менее сложная задача АБТ при ОХБ – выбор адекватного препарата. Используемые в настоящее время АБП для лечения ОХБ можно разделить на 2 группы: п е р в а я – «старые», традиционно применяющиеся (аминопенициллины, тетрациклины, эритромицин, ко-тримоксазол), в т о р а я – АБП нового поколения, к которым относятся ингибиторозащищенные пенициллины, пероральные цефалоспорины II–III поколений, современные макролиды (азитромицин, кларитромицин), фторхинолоны.

Вторая группа АБП обладает микробиологическими преимуществами перед первой группой, характеризуется хорошим профилем безопасности. Эти препараты удобны в применении. Кроме того, использование ряда АБП этой группы в связи с большей частотой микробиологической эрадикации приводит к уменьшению частоты и тяжести течения последующих обострений [13, 14]. В то же время эти АБП характеризуются значительно большей курсовой стоимостью.

Для рационального выбора АБП важное значение имеет учет таких факторов, как возраст пациента, частота предшествующих обострений, наличие сопутствующих заболеваний (застойная сердечная недостаточность, сахарный диабет, хроническая почечная недостаточность и др.), функциональное состояние органов дыхания [5, 15].

В случае неосложненного течения ХБ у молодых пациентов без выраженных нарушений функции внешнего дыхания (ОФВ<sub>1</sub>>50%) и дополнительных факторов риска, вероятно, оправданным является применение препаратов первой группы. При этом в России в связи с низким уровнем пенициллинорезистентности у *S. pneumoniae* и неболь-

шой распространенностью  $\beta$ -лактомазопродуцирующих штаммов *H. influenzae* [16] предпочтение следует отдавать амоксициллину.

Возможности применения ко-тримоксазола ограничены в связи с высокой устойчивостью *S. pneumoniae* и *H. influenzae* [16]. Наиболее приемлемый из препаратов тетрациклинового ряда доксициклин по-прежнему сохраняет клиническое значение при лечении неосложненного ОХБ. Однако в последние годы существенно возросла частота выделения тетрациклинорезистентных штаммов *S. pneumoniae* [16].

При тяжелых ОХБ у пациентов с серьезными сопутствующими заболеваниями и существенным нарушением функции внешнего дыхания ( $ОФВ_1 < 50\%$ ) в этиологии возрастает роль грамотрицательных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, а также *Pseudomonas* spp. [17]. Кроме того, клиническая неэффективность «стартового» АБП у этой категории пациентов сопровождается значительно большей частотой последующих госпитализаций, существенным увеличением затрат на дополнительное обследование и лечение [14, 15]. Поэтому в данном случае предпочтение следует отдавать препаратам второй группы.

Результаты нашего исследования показали, что в России наиболее популярными АБП при лечении ОХБ оказались ко-тримоксазол, ципрофлоксацин, ампициллин и гентамицин. Достаточно редко (17%) применялись макролиды. Из них чаще всего назначался эритромицин, который в отличие от ряда современных макролидов (азитромицин, кларитромицин) характеризуется низкой активностью в отношении одного из наиболее вероятных возбудителей ОХБ – *H. influenzae*. Он плохо всасывается при приеме внутрь и часто вызывает *нежелательные лекарственные реакции* (НЛР) со стороны желудочно-кишечного тракта [18].

Амоксициллин, обладающий существенными преимуществами перед ампициллином по биодоступности и профилю безопасности [19], применялся только у 2% пациентов, получавших АБП. Цефалоспорины II поколения (цефаклор, цефуроксим и др.) и ингибиторозащищенные пенициллины (ко-амоксиклав) назначались лишь в единичных случаях.

В то же время необоснованно часто, особенно в Смоленске и Нижнем Новгороде (25,0 и 14,5% соответственно), применялся гентамицин, который характеризуется низкой активностью в отношении основных возбудителей ОХБ, плохо проникает в бронхиальный секрет, может вызывать серьезные НЛР, а также не имеет лекарственной формы для приема внутрь [20], что обуславливает абсолютную

неприемлемость его применения в амбулаторной практике.

Так как основу большинства клинических проявлений ХБ определяет обструкция дыхательных путей, бронхолитики традиционно рассматриваются в качестве базисных препаратов в лечении ОХБ. Их применение уменьшает выраженность клинических симптомов заболевания, повышает толерантность к физической нагрузке, улучшает качество жизни пациентов [1, 5].

Наиболее эффективными бронхолитиками при ХБ являются м-холинолитики и селективные  $\beta_2$ -агонисты, которые в зависимости от степени тяжести клинического течения ХБ используются в виде монотерапии или в комбинации. Если применение м-холинолитиков и  $\beta_2$ -агонистов не позволяет контролировать симптомы ХБ, дополнительно могут назначаться метилксантины.

Как показывают результаты исследования, бронхолитики назначаются менее чем у 50% пациентов с ОХБ. Ведущими в их структуре являются препараты теofilлина короткого действия. Несмотря на хорошее бронхолитическое действие и ряд дополнительных благоприятных эффектов теofilлина (улучшение работы дыхательной мускулатуры, мукоцилиарного транспорта, стимуляция дыхательного центра и т. д.), в связи с узким терапевтическим диапазоном, вариабельной фармакокинетикой, высокой частотой возникновения НЛР и лекарственных взаимодействий, свойственных теofilлину [21], его применение в мире в последние годы существенно сократилось.

Кроме того, в качестве бронхолитиков в России продолжают применяться устаревшие эфедриносодержащие препараты, такие, как теофедрин и солутан, утратившие свое клиническое значение в связи с наличием более безопасных ЛС.

Несмотря на противоречивые данные об эффективности применения ЛС, влияющих на реологию бронхиального секрета при ХБ, они традиционно назначаются пациентам с ХБ, особенно в период обострения. Как показывает проведенное исследование, частота их применения при ОХБ составила 75,5%.

Данные обзора 22 контролируемых клинических исследований, в которых сравнивалась эффективность применения пероральных муколитиков и плацебо у пациентов с ХБ, назначавшихся в течение 2 мес и более, свидетельствуют о том, что их применение способствует незначительному уменьшению частоты последующих обострений, сокращает сроки временной нетрудоспособности, связанной с ХБ и его обострениями, но не влияет на функцию внешнего дыхания [22].

Вероятно, подход к использованию этой группы ЛС у пациентов с ОХБ должен быть индивидуальным. Следует учитывать, что заметный клинический эффект при пероральном применении некоторых муколитиков (бромгексин, амброксол) наблюдается не ранее 4–6 дней приема, а ацетилцистеин при ОХБ должен назначаться осторожно в связи с возможностью усиления бронхоспазма [23]. В то же время ряд бронхолитиков ( $\beta_2$ -агонисты, метилксантины) также могут благоприятно действовать на дренажную функцию бронхов путем нормализации количества секрета и/или стимулирующего влияния на мукоцилиарный транспорт [21, 23, 24].

Согласно результатам проведенного исследования, глюкокортикоиды редко использовались при лечении ОХБ: в 2,6% случаев ингаляционные и в 1% – системные. Это связано с тем, что их место в лечении пациентов с ХБ не является столь определенным, как при бронхиальной астме.

Результаты ряда недавно завершившихся исследований показали, что применение ингаляционных глюкокортикоидов существенно не влияет на скорость прогрессирования заболевания [25, 26]. Короткий курс лечения системными глюкокортикоидами эффективен при тяжелых ОХБ [27]. Применение же их вне обострения не рекомендуется в связи с противоречивыми данными в отношении эффективности и потенциальным риском системных НЛР [5, 28].

## Литература

1. Reynolds H.Y. Chronic bronchitis and acute infectious exacerbations. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 706-10.
2. Ball P., Make B. Acute exacerbations of chronic bronchitis. An international comparison. Chest 1998; 113: 199-204.
3. Ball P. Epidemiology and treatment of chronic bronchitis and its exacerbations. Chest 1995; 108 (Suppl): 43-52.
4. Niederman M.S. The role of quinolones in the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. Infect Med 1999; 16: 5-7.
5. Madison J.M. Chronic obstructive pulmonary disease. Lancet 1998; 352: 467-73.
6. Seemungal T.A., Harper-Owen R., Bhowmik A., Sapsford R., Jefferies D.J., Wedzicha J.A. Rhinovirus infects the lower respiratory tract during COPD exacerbation. Thorax 1999; 54(Suppl 3):Abstract.A70.
7. Donaldson G.S., Seemungal T.A., Jefferies D.J., Wedzicha J.A. Effect of temperature on lung function and symptoms in chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 1999; 13: 844-9.
8. Niederman M.S. COPD: the role of infection. Chest 1997; 112: 301-2.
9. Anzueto A., Niederman M.S., Tillotson G.S. Etiology, susceptibility, and treatment of acute bacterial exacerbations

Высокая частота применения антигистаминных препаратов при ОХБ, местных противогрибковых препаратов, назначение минеральных добавок и витаминов свидетельствуют о сохраняющейся в России практике широкого использования ЛС с недоказанной клинической эффективностью.

При планировании данного исследования не предусматривалась регистрация клинических симптомов ОХБ и функциональных показателей системы органов дыхания. Поэтому сложно оценить целесообразность широкого применения АБП, выяснить причины недостаточно частого назначения бронхолитиков, а также определить те факторы, которыми руководствовались врачи при выборе ЛС. Кроме того, ограничения ретроспективного исследования не позволили нам достоверно оценивать данные об эффективности лечения.

Тем не менее наиболее существенными проблемами представляются:

- 1) назначение АБП без учета их активности в отношении наиболее значимых возбудителей, современных данных об антибиотикорезистентности в России и особенностей фармакокинетики;
- 2) частое применение устаревших и небезопасных ЛС;
- 3) широкое применение ЛС с недоказанной клинической эффективностью.

of complicated chronic bronchitis in the primary care setting: ciprofloxacin 750 mg b.i.d. versus clarithromycin 500 mg b.i.d. Bronchitis Study Group. Clin Ther 1998; 20: 885-900.

10. Anthonisen N.R., Manfreda J., Warren C.P.W., Hershfield E.S., Harding G.K.M., Nelson N.A. Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. Ann Intern Med 1987; 106:196-204.
11. Monso E., Ruiz J., Rosell A., Manterola J., Fiz J., Morera J., Ausina V. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. A study of stable and exacerbated outpatients using the protected specimen brush. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152: 1316-20.
12. Saint S., Bent S., Vittinghoff E., Grady D. Antibiotics in chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: a meta-analysis. JAMA 1995; 273: 957-60.
13. Anzueto A., Rizzo J.A., Grossman R.F. The infection-free interval: its use in evaluating antimicrobial treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis. Clin Infect Dis 1999; 28: 1344-5.
14. Grossman R., Mukherjee J., Vaughan D., Eastwood C., Cook R., Laforge J., et al. A 1-year community-based health economic study of ciprofloxacin vs usual antibiotic treatment in acute exacerbations of chronic bronchitis: the Canadian Ciprofloxacin Health Economic Study Group. Chest 1998; 113: 131-41.

15. Ball P., Harris J.M., Lowson D., Tillotson G., Wilson R. Acute infective exacerbations of chronic bronchitis. *Q J Med* 1995; 88: 61-8.
16. Страчунский Л.С., Богданович Т.М. Состояние антибиотикорезистентности в России. В кн.: Антибактериальная терапия. Практическое руководство. Под ред. Страчунского Л.С., Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. Москва: РЦ «Фармединфо»; 2000. с. 7-11.
17. Miravittles M., Espinosa C., Fernandez-Laso E., Martos J.A., Maldonado J.A., Gallego M. Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. *Chest* 1999; 116: 40-6.
18. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Макролиды в современной клинической практике. Смоленск: Русич; 1998.
19. Mandell G.L., Perti W.A. Jr. Penicillins, Cephalosporins, and other  $\beta$ -lactam antibiotics. In: Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., editors. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 1073-102.
20. Gilbert D.N. Aminoglycosides. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 307-36.
21. Serafin W.E. Drugs used in the treatment of asthma. In: Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., editors. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 659-82.
22. Poole P.J., Black P.N. Mucolytic agents for chronic bronchitis or chronic obstructive pulmonary disease. In: Cochrane Collaboration. *Cochrane Library*. Issue 5. Oxford: Update Software; 2000.
23. Lester L.A. Mucolytic Therapies. In: Leff A.R., editor. *Pulmonary and Critical Care Pharmacology and Therapeutics*. 1st ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 681-94.
24. Hoffman B.B., Lefkowitz R.J. Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. Drugs used in the treatment of asthma. In: Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., editors. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 199-248.
25. Rauwels R.A., Lofdahl C-G., Laitinen L.A., Schouten J.P., Postma D.S., Pride N.B., et al. Long-term treatment with inhaled budesonide in persons with mild chronic obstructive pulmonary disease who continue smoking. *N Engl J Med* 1999; 340: 1948-53.
26. Burge P.S., Calverley P.M.A., Jones P.W., Spenser S., Anderson J.A., Maslen T.K. Randomised, double-blind, placebo-controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease: the ISOLDE trial. *BMJ* 2000; 320: 1297-303.
27. Niewoehner D.E., Erbland M.L., Deupree R.H., Collins D., Gross N.J., Light R.W., et al. Effect of systemic glucocorticoids on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1941-7.
28. Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000; 343: 269-80.

УДК 579.871.1.047

## Быстрые фенотипические методы определения дифтерийного токсина у клинических штаммов коринебактерий

К.Х. Энглер<sup>1</sup>, Д. Норн<sup>2</sup>, Р.С. Козлов<sup>3</sup>, И. Сельга<sup>4</sup>, Т.Г. Глушкевич<sup>5</sup>, М. Там<sup>2</sup>,  
Р.С. Джорж<sup>1</sup>, А. Эфстратиоу<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральная служба общественного здравоохранения (PHLS), Центральная лаборатория общественного здравоохранения (СРНЛ), Лондон, Великобритания; <sup>2</sup>Программа соответствующих технологий в здравоохранении (PATH), Сиэтл, США; <sup>3</sup>НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия; <sup>4</sup>Национальный центр общественного здравоохранения, Министерство благосостояния, Рига, Латвия; <sup>5</sup>Украинский центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора, Киев, Украина

Разработаны 2 быстрых фенотипических метода определения дифтерийного токсина: *иммуноферментный анализ (ИФА)* и тест с *иммунохроматографическими полосками (ICS)*. В обоих методах используются лошадиные поликлональные антиоксигенные антитела в качестве фиксирующих антител. Детектирующие антитела представлены моноклональными антителами, специфичными фрагменту А молекулы дифтерийного токсина, мечеными щелочной фосфатазой для использования в ИФА, и коллоидным золотом – для ICS теста. Оба теста дают окончательный результат в течение 3 ч. Токсигенность может быть определена у штаммов, инокулированных на различных питательных средах. Чувствительность ИФА (по дифтерийному токсину) составляет 0,1 нг/мл, ICS теста – 0,5 нг/мл.

При сравнении определения дифтерийного токсина с помощью ИФА, теста Элека и ПЦР у

245 штаммов коринебактерий (87 токсигенных и 158 нетоксигенных) результаты ИФА тесно коррелировали с данными теста Элека. Для сравнения ICS теста с тестом Элека исследованы 488 штаммов *Corynebacterium* spp. Результаты, полученные в ICS тесте, тесно коррелировали с данными теста Элека (243 токсигенных и 245 нетоксигенных штаммов). Проведена также оценка ICS теста для прямого определения токсигенности при исследовании 112 мазков, взятых из зева пациентов с подозрением на дифтерию и бессимптомных носителей. Результаты показали 98% сопоставимость (110/112) тестов с классическими культуральными методами при чувствительности 95 и специфичности 99%.

**Ключевые слова:** дифтерия, дифтерийный токсин, коринебактерии, лабораторная диагностика.

### Rapid Phenotypic Methods for the Detection of Diphtheria Toxin Amongst Clinical Isolates of Corynebacteria

K.H. Engler<sup>1</sup>, D. Norn<sup>2</sup>, R.S. Kozlov<sup>3</sup>, I. Selga<sup>4</sup>, T.G. Glushkevich<sup>5</sup>, M. Tam<sup>2</sup>,  
R.C. George<sup>1</sup>, A. Efstratiou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PHLS Central Public Health Laboratory, London, UK; <sup>2</sup>Programme for Appropriate Technology in Health (PATH), Seattle, USA; <sup>3</sup>Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia; <sup>4</sup>National Environmental Health Centre, Ministry of Welfare, Riga, Latvia; <sup>5</sup>Ukrainian Centre of National Sanitary and Epidemiological Surveillance, Kiev, Ukraine

Two rapid, phenotypic methods were developed for the detection of diphtheria toxin amongst clinical

isolates of corynebacteria, an *enzyme immunoassay* (EIA) and an *immunochromatographic strip*

Контактный адрес:

Kathrin H. Engler

WHO Collaborating Centre for Diphtheria and Streptococcal Infections, Division of Respiratory and Systemic Infection,

PHLS Central Public Health Laboratory

61 Colindale Avenue, London NW9 5HT, UK

Факс: +44 20 8205 6528

Эл. почта: KEngler@PHLS.nhs.uk

(ICS) test. Both assays use equine polyclonal anti-toxin as the capture antibody. The detecting antibody is a monoclonal antibody, specific for fragment A of the diphtheria toxin molecule, labelled with alkaline phosphatase for use in the EIA and colloidal gold for the ICS. The assays are rapid, sensitive and specific: a final result is available within 3h of colony selection and toxigenicity can be detected from isolates grown on a diverse range of culture media, including selective agars. The limits of detection of the EIA are 0,1 ng/ml and of the ICS test 0,5 ng/ml diphtheria toxin.

Toxin detection using the EIA was compared to the Elek test and PCR detection of fragment A of the diphtheria toxin (*tox*) gene, using 245 isolates of corynebacteria. The results for the EIA were in complete concordance with the Elek test: 87 toxigenic and 158 non-toxigenic isolates. Ten of the phenotypically non-toxigenic strains were found to contain fragment A of the *tox* gene but did not

express the toxin protein. These isolates were found to be non-toxigenic in the *Vero* cell tissue culture cytotoxicity assay and were therefore, non-toxigenic for diagnostic purposes. The use of the ICS test, in comparison with the Elek test, for detection of toxigenicity was evaluated in field trials in countries of the former USSR, using 488 isolates of various *Corynebacterium* spp. The results for the ICS test were in complete concordance with the Elek test (243 toxigenic and 245 non-toxigenic isolates). The ICS test was also evaluated for direct detection of toxigenicity from throat swabs. One hundred and twelve throat swabs from suspected diphtheria cases and carriers were examined by conventional culture and direct ICS. The results showed 98% concordance (110/112) and the sensitivity and specificity of the ICS was 95 and 99%, respectively.

**Key words:** diphtheria, diphtheria toxin, *Corynebacterium* spp., laboratory diagnostics.

## Введение

Дифтерия является острой инфекцией верхних отделов дыхательных путей, вызываемой токсин-продуцирующими штаммами *Corynebacterium diphtheriae*. Значительно реже аналогичное по клинической симптоматике заболевание могут вызывать токсигенные штаммы *Corynebacterium ulcerans*.

Внедрение в практику здравоохранения массовой иммунизации в 40–50-е годы привело к значительному снижению заболеваемости и практически полной элиминации дифтерии в Великобритании и многих других странах. Однако недавняя эпидемия дифтерии в России и других странах свидетельствует о том, что эпидемическая заболеваемость может появиться там, где снижается охват профилактическими прививками [1].

В Западной Европе дифтерия встречается редко, однако наблюдается спорадическая заболеваемость. Причем большинство случаев инфекции связано с пребыванием в эндемичных районах: в Индии, Юго-Восточной Азии, Южной Америки и в некоторых странах, образовавшихся из республик СССР [2, 3].

**Дифтерийный токсин.** Способность к продукции *дифтерийного токсина* (ДТ) – основной фактор вирулентности *C. diphtheriae* – возбудителя дифтерии.

ДТ состоит из одиночной полипептидной цепи с молекулярной массой 58350 Да, которая, в свою очередь, состоит из 3 структурно-функциональных доменов.

Содержащий аминокислотную группу компонент (фрагмент А) с молекулярной массой 21 кДа содержит домен, катализирующий с использованием НАД рибозилирование АДФ эукариотического фактора элонгации 2, который инактивирует синтез белка в клетках человека. Карбокситерминальный компонент токсина – фрагмент Б (39 кДа) – содержит эукариотический рецепторсвязывающий и гидрофобный домены, отвечающие за транспорт каталитического домена через эндосомальную мембрану в цитозоль [4, 5].

Только 3 представителя рода *Corynebacterium* являются потенциально токсигенными: *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*. Способность этих видов к выработке ДТ зависит от действия двух факторов:

1) лизогении  $\beta$ -фагом или другими коринефагами, которые содержат структурный ген (*tox*-ген) молекулы токсина;

2) низкой внеклеточной концентрации железа [4, 5].

Именно с действием ДТ связаны большинство симптомов дифтерии и летальность от этой инфекции.

Несмотря на то что дифтерия является редким заболеванием в Великобритании и других странах Западной Европы, в последнее время значительно увеличилась частота выделения нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* [2, 6, 7]. В большинстве случаев они выделяются у пациентов с фарингитом. Однако имеются сообщения о случаях эндокардита

и поражения других органов и систем в Европе [8, 9] и Австралии [10]. Вследствие этого надежные, специфичные и точные методы определения дифтерийного токсина необходимы для дифференциации спорадических токсигенных штаммов от циркулирующих нетоксигенных штаммов.

**Методы определения дифтерийного токсина.** Идеальный тест для определения токсигенности должен быть простым, быстрым, надежным и чувствительным, хорошо коррелировать с биологической активностью ДТ.

В последнее время исследовался ряд генотипических, фенотипических и биологических методов определения ДТ [11].

**Молекулярные методы** на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения гена токсина обладают определенными преимуществами перед фенотипическими тестами. Они дают более быстрый и легко интерпретируемый ответ. Их использование становится все более распространенным вследствие большей доступности оборудования для ПЦР. Однако основной недостаток методов на основе ПЦР состоит в том, что они не дают информацию о способности микроорганизма к экспрессии биологически активного ДТ.

Описаны нетоксигенные, но в то же время токсигенносущие штаммы (NTTB), обладающие частью полного гена ДТ, однако не способные к экспрессии биологически активной формы токсина [11, 12, 13]. Вследствие этого использование только ПЦР не дает окончательного результата при определении токсигенности. Поэтому ПЦР рекомендуется применять только как дополнительный к фенотипическим тестам метод [14, 15].

**Тест иммунопреципитации Элека** – наиболее часто используемый микробиологическими лабораториями всего мира фенотипический метод определения токсигенности. Проблема неправильной интерпретации неспецифических линий преципитации, особенно там, где тест Элека не выполняется рутинно, привела к снижению числа лабораторий, использующих его в своей работе, особенно в эндемичных регионах.

Описаны различные фенотипические методы определения ДТ [11, 16–20], которые, однако, или не нашли широкого применения, или не имели существенных преимуществ по сравнению с тестом Элека для микробиологической диагностики дифтерии.

**Иммуноферментный анализ (ИФА)** и тесты с иммунохроматографическими полосками (ICS) широко использовались для выявления микробных антигенов и маркеров. Учитывая сказанное, мы разработали, стандартизировали и провели исследова-

ния амплифицированного ИФА и ICS теста для определения ДТ.

## Материал и методы исследования

**Штаммы.** Бактериальные штаммы представлены клиническими изолятами, поступившими в Референтный отдел по стрептококкам и дифтерии ВОЗ/PHLS (SDRU) Центральной лаборатории общественного здравоохранения (CPHL, Лондон, Великобритания) в 1988–2000 г. При определении токсигенности использовали контрольные штаммы NCTC 10648 (токсигенная *C. diphtheriae* биотипа *gravis*), NCTC 3984 (слаботоксигенная *C. diphtheriae* биотипа *gravis*) и NCTC 10356 (нетоксигенная *C. diphtheriae* биотипа *belfanti*).

**ИФА для определения дифтерийного токсина.** **Приготовление микротитровальных планшетов и конъюгата с моноклональными антителами.** Очищенные лошадиные поликлональные антитоксические антитела класса G (2 мкг/мл; Pasteur Merieux, Лион, Франция) использовали для адсорбции в лунках микротитровальных планшетов Nunc Maxisorp (Nunc A/S, Роскилд, Дания).

Моноклональные антитела, специфичные для фрагмента А молекулы ДТ, были приготовлены в соответствии с ранее описанной методикой [16]. Очищенные моноклональные антитела класса G конъюгировали со щелочной фосфатазой и использовали в итоговой концентрации 2 мкг/мл. Для снижения неспецифического связывания была проведена оптимизация конъюгационного буфера (на основе Tris с альбумином бычьей сыворотки и неорганическими солями).

**Иммуноферментный метод.** Колонии коринебактерий с кровавого колумбийского агара суспендировали в 0,5 мл бульона Элека для получения плотности бактериальной взвеси, соответствующей 1 по стандарту мутности МакФарланда ( $1 \times 10^8$  КОЕ/мл), после чего инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C в аэробных условиях.

Бактериальные клетки удаляли путем фильтрации через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм. Добавляли 200 мкл супернатанта отфильтрованной жидкости в лунки микротитровального планшета, а затем 50 мкл меченных щелочной фосфатазой (10 мкг/мл) моноклональных антитоксических антител. Планшеты инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C в аэробных условиях, после чего их промывали.

Для определения активности щелочной фосфатазы использовали реагент AmpliQ (DAKO Ltd, Эли, Великобритания) в соответствии с рекомендациями производителя. После 30-минутной инкубации при температуре 37°C реакцию останавливали добавле-



нием 100 мкл 1М фосфорной кислоты. Оптическую плотность измеряли при длине волны 490 нм.

**Тест с иммунохроматографическими полосками.** *Приготовление полосок для ICS теста.* Полоски для ICS теста были приготовлены Программой соответствующих технологий в здравоохранении (PATH, Сиэтл, США). Лошадиные поликлональные антитоксические антитела наносили на нитроцеллюлозную мембрану в качестве фиксирующих антител. Моноклональные антитела, специфичные для фрагмента А молекулы ДТ, меченные коллоидным золотом, использовали как детектирующие антитела.

*Тест ICS.* Для определения токсигенности чистых культур штаммы с кровавого колумбийского агара (или сред, содержащих теллурид) суспендировали в 0,5 мл бульона Элека с целью получения плотности бактериальной взвеси, соответствующей стандарту мутности 1 по МакФарланду ( $1 \times 10^8$  КОЕ/мл). После этого инкубировали их в течение 3 ч при температуре 37°C в аэробных условиях.

Для прямого определения токсигенности тампоны с мазками из зева эмульгировали в 0,5 мл бульона Элека и инкубировали в течение 16 ч при температуре 37°C в аэробных условиях. При тестировании ICS вносили в каждую пробирку и оставляли при комнатной температуре на 10 мин, после чего считывали результаты.

**Тест иммунопреципитации Элека.** Все штаммы были протестированы на наличие ДТ с использованием ранее описанного модифицированного теста Элека [21].

**Определение гена дифтерийного токсина с помощью ПЦР.** Фрагмент А гена дифтерийного токсина (248 тпн) определяли в соответствии с ранее описанной методикой [12]. Для внутреннего контроля реакции использовали контрольный искусственный образец, содержащий внутреннюю делецию 58 тпн, что позволяло дифференцировать его от природного продукта по электрофоретической подвижности. Наличие ампликона размером 190 тпн при отрицательной реакции позволяло избежать ложноотрицательных реакций.

**Определение цитотоксичности в культуре тканей.** Метод определения цитотоксичности в культуре клеток *Vero* для определения ДТ проведен в соответствии с ранее описанной методикой [11]. Цитотоксический эффект определяли путем визуального обследования с использованием инвертированного микроскопа.

## Результаты исследования

**Чувствительность ИФА и теста ICS.** Очищенный ДТ [Calbiochem-Novobiochem (UK) Ltd, Нот-

тингем, Великобритания] использовали для определения чувствительности ИФА и теста ICS. Пороги чувствительности составили соответственно 0,1 и 0,5 нг/мл.

*Влияние питательной среды на определение токсигенности.* Агаровые среды для выращивания микроорганизмов. Штаммы инокулировали на различных средах до исследования в тесте ICS, включая теллуридовый агар Хойла (Oxoid, Басингсток, Великобритания), агары Тинсдаля (Beckton Dickinson, Оксфорд, Великобритания), Леффлера (Oxoid, Басингсток, Великобритания), коринебак-агар (НПО «Питательные среды», Оболенск, РФ) и среду Пизу (приготовленную в лаборатории в соответствии с приказом Минздрава России № 570).

Положительная реакция в тесте ICS наблюдалась у всех исследованных токсигенных штаммов независимо от использованной среды, на которой они выращивались до инокуляции в бульоне Элека.

Жидкие среды для определения продукции ДТ. Оценивали рост и токсинообразование в тесте ICS в бульонах Элека и ГРМ (НПО «Питательные среды», Оболенск, РФ).

Положительная реакция наблюдалась у всех исследованных токсигенных штаммов независимо от использованного бульона.

*Оценка ИФА.* ИФА оценивали с использованием 245 штаммов коринебактерий, переданных в SDRU в 1988–1998 гг., в сравнении с тестом иммунопреципитации Элека [21] и ПЦР на определение фрагмента А гена ДТ [12].

Виды и биотипы исследованных штаммов представлены в табл. 1. Они включали как потенциально токсигенные виды (*C. diphtheriae*, *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*), так и другие *Corynebacterium* spp.

При использовании оптической плотности 0,05 в качестве пороговой при определении токсигенности в ИФА были установлены 87 токсигенных и 158 нетоксигенных штаммов. Изоляты *C. ulcerans* оказались слабыми продуцентами токсина (самые низкие показатели уровней абсорбции). Это подтверждает данные о том, что *C. ulcerans* часто дают очень слабые линии преципитации в тесте Элека.

Результаты, полученные в ИФА, в 100% случаев коррелировали с данными модифицированного теста Элека (табл. 1). Однако они были получены в течение 3 ч от момента отбора колоний (в сравнении с таковыми через 24 ч для модифицированного и через 48 ч для классического теста Элека).

Тест ИФА также продемонстрировал большую чувствительность, чем тест Элека, а интерпретация результатов оказалась проще. Со штаммами, дававшими слабые линии преципитации в тесте Элека,

получена хорошо видимая цветная реакция в ИФА, что позволяло легко их дифференцировать от нетоксигенных штаммов при визуальной интерпретации.

С 10 (4,1%) из 245 штаммов получены отрицательные результаты в ИФА и тесте Элека, однако положительный – на наличие *tox*-гена в ПЦР. У этих штаммов также был отрицательный результат при определении цитотоксичности в тесте с культурой клеток *Vero*, в связи с чем они были оценены как нетоксигенные.

**Оценка теста ICS.** Результаты использования теста ICS для определения токсигенности чистых культур и мазков из зева пациентов с подозрением на дифтерию и бессимптомных носителей оценивали в исследованиях на Украине и в Латвии.

Всего 488 потенциально токсигенных штаммов коринебактерий исследованы в тестах Элека и ICS: 486 штаммов *C. diphtheriae* (301 биотипа *gravis*, 183 биотипа *mitis* и 2 биотипа *belfanti*) и 2 – *C. ulcerans*.

Выявлена 100% корреляция между результатами теста Элека и ICS (243 токсигенных и 245 нетоксигенных штаммов). Далее в ICS тесте исследованы 76 нетоксигенных, *tox*-геннесущих (НТТВ) штаммов (электротрицательных, ПЦР-положительных).

Для 68 (89,5%) из 76 штаммов результат ICS теста совпадал с тестом Элека (нетоксигенные штаммы). Оставшиеся 8 изолятов дали положительный результат в ICS тесте и были повторно исследованы на наличие токсигенности в тестах ICS, Элека и ПЦР лабораторией, выделившей штамм, и в лаборатории PHLS. Все штаммы оказались токсигенными при исследовании тремя указанными методами.

Для оценки прямого определения ДТ с помощью теста ICS в сравнении с классическими культуральными методами исследованы 112 мазков из зева. Результаты тестирования приведены в табл. 2. Чувствительность теста ICS составила 95% (интервал согласия – 0,74–1), специфичность – 99% (интервал согласия – 0,74–1).

### Обсуждение результатов исследования

Определение токсигенности – наиболее важное исследование при лабораторной диагностике дифтерии. Оно должно проводиться немедленно после выделения всех подозрительных колоний.

Применяющиеся в настоящее время фенотипические методы определения токсигенности с технической точки зрения сложные и часто недостаточно

Таблица 1. Сравнение определения токсигенности с помощью ИФА, модифицированного теста Элека и ПЦР на определение фрагмента А гена дифтерийного токсина

Биотип (число штаммов)	Токсигенность	Количество протестированных штаммов		
		ИФА (3 ч*)	Модифицированный тест Элека (24 ч*)	ПЦР на фрагмент А <i>tox</i> -гена (6 ч*)
<i>C. diphtheriae</i> биотипа <i>gravis</i> (115)	+	34	34	38
<i>C. diphtheriae</i> биотипа <i>mitis</i> (54)	+	29	29	35
	–	25	25	19
<i>C. diphtheriae</i> биотипа <i>belfanti</i> (12)	+	0	0	0
	–	12	12	12
<i>C. diphtheriae</i> биотипа <i>intermedius</i> (5)	+	5	5	5
	–	0	0	0
<i>C. ulcerans</i> (27)	+	18	18	18
	–	9	9	9
<i>C. pseudotuberculosis</i> (4)	+	1	1	1
	–	3	3	3
<i>C. argentoratense</i> (3)	–	3	3	3
<i>C. imitans</i> (3)	–	3	3	3
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (12)	–	12	12	12
<i>C. amycolatum</i> (4)	–	4	4	4
<i>C. striatum</i> (6)	–	6	6	6
Всего 245. В том числе штаммы:				
токсигенные	+	87	87	97
нетоксигенные	–	158	158	148

\* Время до получения результата.

чувствительные [11, 20]. Более того, они занимают не менее 16–24 ч после выделения колоний до получения окончательного результата. Это обстоятельство не удовлетворяет ни клиницистов, ни эпидемиологов, ни специалистов в области общественного здравоохранения.

Непосредственное определение гена ДТ – наиболее быстрый метод оценки токсигенности с использованием чистых культур. Он занимает 4–5 ч с момента выделения колоний. Кроме того, в настоящее время разработан метод прямого определения гена ДТ из клинических образцов [22].

Несмотря на то что рядом исследователей показана тесная корреляция между генотипическими (ПЦР) и фенотипическими методами определения токсигенности [22, 23, 24, 25], некоторыми авторами описаны штаммы, обладавшие *tox*-геном, но не экспрессировавшие биологически и/или иммунологически активные формы токсина [11, 13].

Подобные штаммы встречались относительно редко в определенных регионах (на севере США и в Канаде) [11]. Однако на спаде эпидемии дифтерии в странах, образовавшихся из республик Советского Союза, подобные штаммы стали выделяться в большем количестве [15]. Из 564 чистых культур 68 (12%), включенных в исследование в странах, образовавшихся из республик Советского Союза, обладали *tox*-геном, но не экспрессировали биологически активную форму токсина. Именно поэтому в современных руководствах рекомендуется использование ПЦР только в сочетании с фенотипическим тестом [14, 15].

Несмотря на то что истинный отрицательный результат ПЦР может быть использован для быстрого исключения токсигенности, положительный результат реакции требует подтверждения фенотипическим тестом, что потенциально чревато задержкой получения окончательного результата.

ИФА и ICS тест – быстрые, чувствительные и простые методы определения ДТ с пороговыми чувствительностями 0,1 и 0,5 нг/мл соответственно. Для

чистых культур результат может быть получен в течение 3 ч с момента отбора колоний. В связи с этим тесты могут быть использованы для получения окончательного результата определения токсигенности в течение рабочего дня.

Токсигенность может быть определена у штаммов, выросших на различных питательных средах, включая селективные агары, используемые для выделения и скрининга потенциально токсигенных коринебактерий. В их число входят среды, используемые в странах Западной Европы (теллуриновый агар Хойла, агар Тинсдаля), а также в странах, образовавшихся из республик Советского Союза (коринебакагар и среда Пизу).

Стандартизация плотности бактериальной взвеси и времени инкубации в бульоне Элека являются необходимыми условиями для определения токсигенности, особенно у слаботоксигенных штаммов. Мы определили, что плотность взвеси  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл (1 по стандарту МакФарланда) и одночасовая (для ИФА) или 3-часовая (для теста ICS) инкубация в бульоне Элека могут быть успешно использованы без наличия ложноотрицательных результатов.

Один из потенциальных недостатков ИФА – необходимость использования жидкого моноклонального конъюгата и реагента для амплификации, которые требуют хранения при температуре 4°C и имеют относительно малый срок хранения. Однако с адаптацией ИФА к формату ICS теста устраняются некоторые проблемы.

Так, ICS остаются стабильными при хранении при комнатной температуре минимум один год. По нашему мнению, разработку этих простых фенотипических методов можно считать значительным достижением в области микробиологической диагностики дифтерии. Они могут быть использованы для тестирования ДТ у клинических штаммов коринебактерий как в странах со sporadic заболееваемостью дифтерией, так и при исследовании большого количества штаммов в регионах с эпидемической заболееваемостью.

**Таблица 2. Прямое определение токсигенности из клинических образцов (мазки из зева) с использованием теста ICS**

Результат классического культурального исследования	Результаты прямого определения из мазков, взятых из зева, с помощью теста ICS	
	+	–
Положительные результаты культурального исследования на токсигенные коринебактерии	20	1
Отрицательные результаты культурального исследования на токсигенные коринебактерии	1	90
<b>В с е г о ...</b>	<b>21</b>	<b>91</b>

**Благодарность.** Данное исследование поддержано Европейской комиссией DG RTD программой ИНКО Коперникус IC15.СТ.98.0302. Выражаем признательность и благодарность **И.К. Мазуровой, Г.Я. Ценовой, Л.П. Титову, С.А. Габриелян и В.Е. Киму** (партнеров программы ИНКО Коперникус) за оценку теста ICS в своих лабораториях.

## Литература

- Galazka, A.M., S.E. Robertson, Oblapenko G.P. Resurgence of diphtheria. J Epidemiol 1995;11:95-105.
- Efstratiou A., George R.C. Microbiology and epidemiology of diphtheria. Rev Med Microbiol 1996;7:31-42.
- Public Health Laboratory Service. Diphtheria acquired during a cruise in the Baltic Sea. Commun Dis Rep CDR Weekly 1997;7:207.
- Pappenheimer A.M. The diphtheria bacillus and its toxin: a model system. J Hyg Camb 1984; 93:397-404.
- Pappenheimer A.M. The story of a toxic protein 1888–1992. Protein Sci 1993;2:292-8.
- Efstratiou A., George R.G., Begg N.T. Non-toxicogenic *C. diphtheriae* in England. Lancet 1993;341:1592-3.
- Funke G., Altwegg M., Frommelt L., von Gravenitz A. Emergence of related nontoxicogenic *C. diphtheriae* biotype *mitis* strains in Western Europe. Emerg Infect Dis 1999;5:477-80.
- Lortholary O., Buu-Hoe A., Gutman L., Acar J. *Corynebacterium diphtheriae* endocarditis in France. Clin Infect Dis 1995;31:63-5.
- Zuber P.L.F., Gruner E., Altwegg M., von Graevenitz A. Invasive infection with non-toxicogenic *C. diphtheriae* among drug users. Lancet 1992;339:1359.
- Tiley S.M., Kokiuba K.R., Heron L.G., Munro R. Infective endocarditis due to non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*: report of seven cases and review. Clin Infect Dis 1993;16: 271-5.
- Efstratiou, A., Engler K.H., Dawes C.S., Sesardic D. Comparison of phenotypic and genotypic methods for the detection of diphtheria toxin amongst isolates of pathogenic corynebacteria. J Clin Microbiol 1998;36:3173-7.
- Pallen M.J. Rapid screening for toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* by the polymerase chain reaction. J. Clin Pathol 1991;44:1025-6.
- Pallen M.J., Hay A.J, Puckey L.H., Efstratiou A. Polymerase chain reaction for screening clinical isolates of corynebacteria for the production of diphtheria toxin. J Clin Pathol 1994;47:353-6.
- Efstratiou A., George R.C. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*. Comm Dis Pub Health 2000;2: 250-7.
- Efstratiou A., Engler K.H., Mazurova I.K., Glushkevich T., Vuopio-Varkila J., Popovic T. Current approaches to the laboratory diagnosis of diphtheria. J Infect Dis 2000;181:S138-45.
- Hallas G., Harrison T.G., Samuel D., Colman G. Detection of diphtheria toxin in culture supernates of *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans* by immunoassay with monoclonal antibody. J Med Microbiol 1990;32:247-53.
- Jalgaonkar S.V., Saoji A.M. Coagglutination for rapid testing of toxin producing *Corynebacterium diphtheriae*. Indian J Med Res 1993;97:35-6.
- Nielsen P.B., Koch C., Friss H., Heron I., Prag J., Schmidt J. Double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of toxin-producing *Corynebacterium diphtheriae*. J Clin Microbiol 1987;25:1280-4.
- Pietrzak J., Muehlestein S., Gasser M. Sandwich-dot immunobinding assay (sandwich-DIA), a new immunological method for the detection of diphtheria toxin. Zbl Bakt 1990;274:61-9.
- Toma C., Sisvath L., Iwanaga M. Reversed passive latex agglutination assay for detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. J Clin Microbiol 1997;35:3147-9.
- Engler K.H., Glushkevich T., Mazurova I.K., George R.C., Efstratiou A. A modified Elek test for the detection of toxigenic corynebacteria. J Clin Microbiol 1997;35:495-8.
- Nakao H., Popovic T. Development of a direct PCR for detection of the diphtheria toxin gene. J Clin Microbiol 1997;7:1651-5.
- Aravena-Roman M., Bowman R., O'Neill G. Polymerase chain reaction for the detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. Pathol 1995;27:71-3.
- Hauser D., Popoff M.R., Kiredjian M., Boquet P., Bimet F. Polymerase chain reaction assay for diagnosis of potentially toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains: correlation with ADP-ribosylation activity assay. J Clin Microbiol 1993;31:2720-3.
- Mikhailovich V.M., Melnikov V.G., Mazurova I.K., Wachsmuth I.K., Wenger J.D., Wharton M., Nakao H., Popovic T. Application of PCR for detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains isolated during the Russian diphtheria epidemic, 1990 through 1994. J Clin Microbiol 1995;33:3061-3.

УДК 616.34-008.314.4-022-07

## Практические рекомендации по ведению пациентов с инфекционной диареей

По материалам рекомендаций Американского общества инфекционных болезней (R.L. Guerrant, T.V. Gilder, T.S. Steiner, N.M. Thielman, L. Slutsker, R.V. Tauxe, T. Hennessy, P.M. Griffin, H. DuPont, R. Bradley Sack, P. Tarr, M. Neill, I. Nachamkin, L. Barth Reller, M.T. Osterholm, M.L. Bennish, L.K. Pickering. *Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis* 2001; 32:331-50.)

Ю.В. Лобзин, С.Б. Якушин, С.М. Захаренко

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

В последнее время отмечается расширение спектра патогенных микроорганизмов, связанных с развитием заболеваний пищеварительного тракта. Наряду с сальмонеллами, шигеллами, ротавирусами все чаще этиологическими факторами являются энтерогеморрагические штаммы *Escherichia coli*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, калицивирусы и другие энтеропатогенные вирусы. Решающий фактор развития экономически эффективных подходов к ведению

больных с инфекционной диареей – целенаправленное избирательное применение методов диагностики, лечения и профилактики. В настоящей статье представлены основные рекомендации, касающиеся таких вопросов, как оральная регидратация, клиническое и эпидемиологическое обследование пациента, проведение селективных бактериологических исследований испражнений, избирательное назначение антимикробной терапии, противопоказания к применению противодиарей-

ных препаратов, использование доступных специфических вакцин. Определены порядок и группы обследования пациентов, рекомендованы наиболее эффективные диагностические тесты и медикаментозное лечение, а также перечень мер, необходимых для реального выполнения соответствующих мероприятий по охране здоровья граждан.

**Ключевые слова:** диарея, кишечные инфекции, антибиотикотерапия, микробиологическое исследование фекалий.

### Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea

According to the guidelines of Infectious Diseases Society of America

(R.L. Guerrant, T.V. Gilder, T.S. Steiner, N.M. Thielman, L. Slutsker, R.V. Tauxe, T. Hennessy, P.M. Griffin, H. DuPont, R. Bradley Sack, P. Tarr, M. Neill, I. Nachamkin, L. Barth Reller, M.T. Osterholm, M.L. Bennish, L.K. Pickering. *Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis* 2001; 32:331-50.)

Yu.V. Lobzin, S.B. Yakushin, S.M. Zakharenko

Academy of Military Medicine, S.-Petersburg, Russia

There is increasing recognition of a widening array of enteric pathogens associated with illness-

ses of the gastrointestinal tract. Along with well-known microorganisms – Salmonella, Shigella and rotaviruses, agents such as enterohemorrhagic *E. coli*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, caliciviruses and other enteric

virus pathogens are increasing cause of acute diarrheal illnesses. Critical to development a cost-effective approach to the evaluation and management of infectious diarrhea is the selective use of available diagnostic methods, therapies, and preventive measures. This article revi-

Контактный адрес:

Юрий Владимирович Лобзин  
194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 6  
Военно-медицинская академия  
Тел./факс: (812) 248 34 90  
Эл. почта: ylob@mail.admiral.ru

ews the recommendations that address following: oral rehydration, clinical and epidemiological evaluation, performance of selective fecal studies, administration of selective antimicrobial therapy,

contradicted antidiarrheals, and available immunizations. This document indicates, which patients to test, what tests are more effective, what medical treatment to use, and what steps

to take to ensure that appropriate public health actions are implemented.

**Key words:** infectious diarrhea, enteric infections, stool culture, antimicrobial chemotherapy.

## Введение

Последние десятилетия XX века характеризовались расширением спектра патогенных микроорганизмов, связанных с развитием заболеваний пищеварительного тракта. Наряду с сальмонеллами, шигеллами, ротавирусами все чаще в роли этиологического фактора выступают энтерогеморрагические штаммы *Escherichia coli*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, калицивирусы и другие энтеропатогенные вирусы.

Многие из этих микроорганизмов легко передаются от человека к человеку с пищей или через воду. Некоторые из них чрезвычайно опасны для лиц с иммунодефицитными состояниями и с патологией желудочно-кишечного тракта. Со вступлением в эру, когда здравоохранение все больше и чаще ориентируется на экономическую эффективность, решающим фактором развития экономически эффективных подходов к ведению больных с инфекционной диареей является целенаправленное избирательное применение методов диагностики, лечения и профилактики.

Все это, а также выделение групп кишечных инфекций, требующих специфического лечения, и инфекций, в отношении которых существуют эффективные меры эпидемиологического контроля, привело к необходимости создания для специалистов различных областей медицины единых рекомендаций по диагно-

стике и лечению инфекционной диареи.

В табл. 2 и на рис. 1–4 представлены основные рекомендации, касающиеся таких вопросов, как оральная регидратация, клиническое и эпидемиологическое обследование пациента, проведение селективных бактериологических исследований испражнений, избирательное назначение антимикробной терапии, противопоказания к применению противодиарейных препаратов, использование доступных специфических вакцин.

## Цели рекомендаций

Главная цель настоящих рекомендаций – ознакомить широкий круг врачей и работников эпидемиологической службы с документом, согласованным многими специалистами и призванным помочь в ведении пациентов с диареей.

В документе определены порядок и группы обследования пациентов, рекомендованы наиболее эффективные диагностические тесты и медикаментозное лечение, а также перечень мер, необходимых для реального выполнения соответствующих мероприятий по охране здоровья граждан. В основу рекомендаций положен опыт работы инфекционистов, педиатров, эпидемиологов и микробиологов, являющихся признанными экспертами по кишечным инфекциям, а также расширенный поиск в системе MEDLINE.

В соответствии с принципами доказательной медицины, реко-

мендации, где это оказалось возможным, основаны на доказательных данных и сопровождаются характеристикой качества доказательств (оценивались по шкале от I до III) и степени достоверности рекомендаций (оценивались по шкале от А до Е, табл. 1) [1, 2].

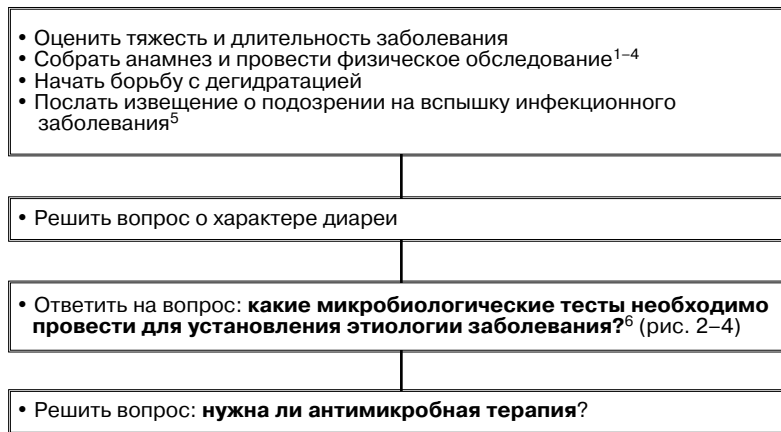
Данные рекомендации также определяют сферу исследований по ключевым вопросам диагностики, лечения и профилактики диарейных заболеваний, которые пока остаются без ответа.

Авторы рекомендаций подчеркивают, что представленная информация служит лишь рабочей основой для клиницистов и эпидемиологов и не должна восприниматься в качестве догмы, заменяющей процесс индивидуального клинического мышления врача.

## Основные понятия и определения

Под диареей понимают изменение нормальной характеристики фекалий, проявляющееся увеличением содержания жидкости, объема, или частоты дефекаций. Изменение консистенции (разжижение) фекалий и увеличение частоты стула до 3 и более раз в сутки часто используется в качестве определения диареи при проведении эпидемиологических исследований.

*Инфекционная диарея* – это диарея, обусловленная инфекционными причинами, часто сопровождающаяся тошнотой, рвотой или схваткообразными болями в животе.



<sup>1</sup>Употребление в пищу морепродуктов или пребывание на море должны служить поводом для проведения культурального исследования на микроорганизмы рода *Vibrio*, особенно у пациентов с патологией печени и страдающих алкоголизмом.

<sup>2</sup>Стойкие продолжительные боли в животе и лихорадка должны служить поводом для культурального исследования на *Y. enterocolitica*. Боли в правой половине живота на фоне невысокой лихорадки, но с кровавистой диареей (иногда без нее) должны служить поводом для культурального исследования на *E.coli* O157:H7.

<sup>3</sup>У гомосексуалистов диагноз проктита при наличии клинических симптомов может быть подтвержден при сигмоидоскопии. Вовлечение в патологический процесс только дистальных 15 см кишки позволяет предположить наличие специфической гонококковой, хламидийной или сифилитической инфекции; колит, распространяющийся на более проксимальные отделы кишки, предполагает инфекцию, вызванную *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *C. difficile* или *Chlamydia trachomatis*, а невоспалительный характер диареи позволяет предположить лямблиоз.

<sup>4</sup>Развитие такого осложнения, как гемолитико-уремический синдром должно служить поводом для культурального исследования испражнений на ЭГКП O157:H7 или определения в стуле шигеллезного токсина (*E.coli* выделенные штаммы должны быть отправлены в центральную лабораторию для типирования).

<sup>5</sup>При выявлении вспышки инфекционного заболевания должно быть отправлено экстренное извещение в санитарно-эпидемиологическую службу. Предлагается сохранить выделенные культуры и клинический материал (образцы испражнений или мазки) при температуре *минус* 70°C.

<sup>6</sup>Определение лактоферрина или лейкоцитов в испражнениях помогает подтвердить наличие воспалительного процесса, который часто бывает при колитах, вызванных *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter*, *C. difficile*, и при воспалительных заболеваниях толстой кишки.

**Рис. 1.** Мероприятия, проводимые при всех видах инфекционной диареи

**Острая диарея** – это эпизод диареи продолжительностью до 14 дней.

**Персистирующая диарея** – диарея продолжительностью более 14 дней. Несмотря на то, что в настоящих рекомендациях персистирующая диарея не классифицируется, некоторые специалисты выделяют понятие **хронической диареи** – диареи продолжительностью более 30 дней.

### Общая характеристика

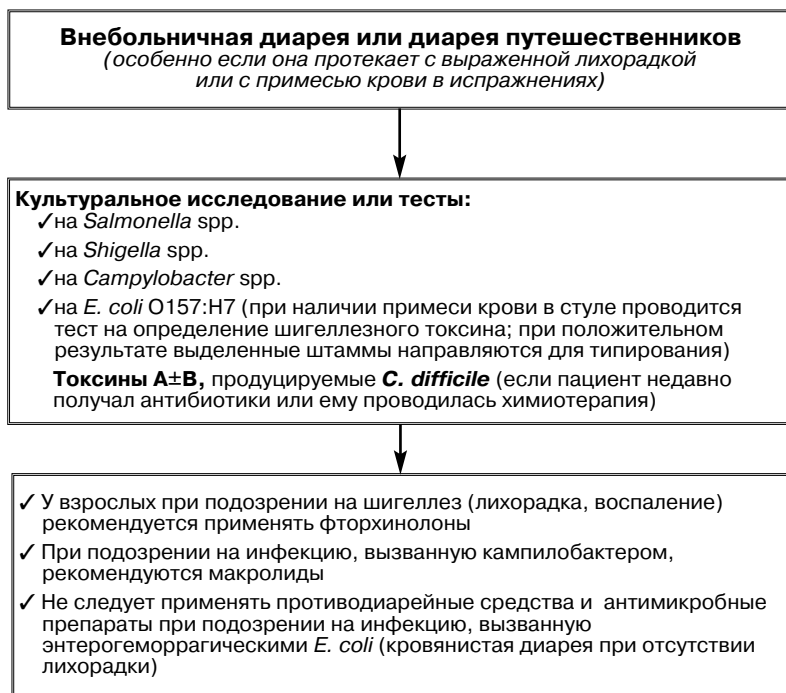
Инфекционная диарея занимает второе место по заболеваемости и смертности во всем мире [3, 4]. Только в США ежегодно регистрируется 211–375 млн случаев заболеваний, протекающих с синдромом диареи, являющихся причиной 1,8 млн госпитализаций и 3100 летальных исходов. Ежегодно в США на долю одних только заболеваний, связанных с

употреблением инфицированных продуктов, приходится 76 млн случаев заболеваний, 325 000 госпитализаций и 5000 летальных исходов [5, 6].

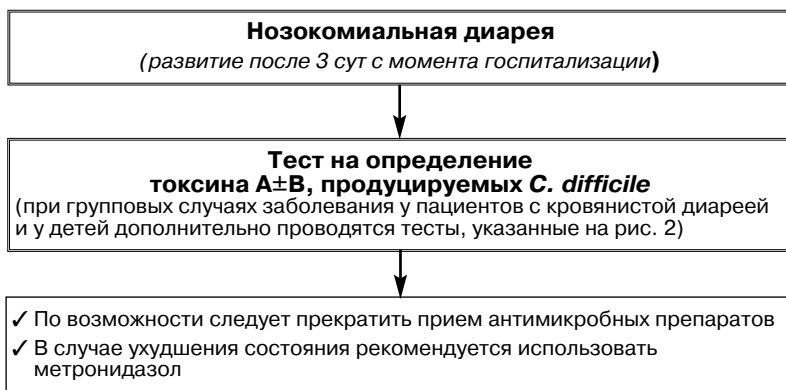
Кроме «вклада» в острую заболеваемость и летальность, некоторые возбудители инфекционной диареи вызывают развитие тяжелых, длительно протекающих осложнений, таких, как *гемолитико-уремический синдром* (ГУС) с почечной недостаточностью (при инфекции, вызванной *E. coli*, продуцирующей шигеллезный токсин, известной также под названием энтерогеморрагического эшерихиоза), синдромы Гийена–Барре при заболеваниях, вызванных *C. jejuni* [7], и мальабсорбции с диареей или без нее при инфекции, обусловленной энтероагрегативными штаммами *E. coli*, криптоспоридиями и, возможно, другими возбудителями кишечных инфекций [8, 9].

В США ежегодные экономические потери, обусловленные инфекционными заболеваниями, связанными с употреблением контаминированных продуктов, большинство из которых сопровождается развитием диареи, составляют 6 млрд долларов в год [11]. Несмотря на выраженный экономический и социальный ущерб, приносимый диарейными заболеваниями, согласованных общих практических рекомендаций по их диагностике и лечению, предназначенных как для врачей, занимающихся лечением этих больных, так и для других специалистов (микробиологов, эпидемиологов и т. д.), к сожалению, имеется мало.

В необходимости выявления и лечения пациентов с инфекционной диареей пересекаются интересы практических врачей и врачей-эпидемиологов. Для клиницистов важно как можно раньше диагностировать острую диарею, что позволит начать лечеб-



**Рис. 2.** Алгоритм диагностики и лечения пациентов с внебольничной диареей или диареей путешественников



**Рис. 3.** Алгоритм диагностики и лечения пациентов с нозокомиальной диареей

ные мероприятия по устранению симптомов заболевания и тем самым предотвратить дальнейшее его распространение. Для врачей-эпидемиологов быстрое получение извещения о случае инфекционного заболевания и идентификация возбудителя позволяют в более ранние сроки начать проведение противоэпи-

демических мероприятий по локализации инфекции и прекращению ее распространения.

Инфекционные диареи широко распространены во всем мире. Имеются существенные различия в частоте распространенности тех или иных возбудителей, в доступности способов диагностики и лечения и уровне осуществ-

ления профилактических мероприятий.

Представленные рекомендации ориентированы главным образом на развитые страны, где существуют широкие возможности для диагностики, а такие эпидемиологически опасные инфекции, как холера и брюшной тиф, находятся под контролем и фактически не встречаются. Для развивающихся стран хорошо подходят рекомендации, опубликованные ВОЗ в 1993 г. [12].

### Актуальность проблемы

Частота заболеваний кишечными инфекциями, оцененная в расширенных проспективных исследованиях за последние 50 лет в США, составляет от 1,2 до 1,9 случая на 1 человека в год. Самая высокая заболеваемость регистрируется у детей раннего возраста: 2,46 случая заболевания в год на 1 ребенка в возрасте до 3 лет. Наибольший ее подъем – в зимнее время, в период, когда в качестве возбудителей преобладают ротавирусы и другие энтеропатогенные вирусы. У детей в возрасте до 3 лет, посещающих детские дошкольные учреждения, заболеваемость еще выше и составляет 5 случаев на 1 ребенка в год [13].

По данным опроса 14,3 млн человек, посетивших сайты информационной сети FoodNet в 1997 г., в среднем отмечалось 1,4 случая диареи на 1 человека в год, 0,75 из этих эпизодов на 1 человека в год были расценены как «диарейное заболевание», под которым понималась диарея продолжительностью более 1 дня или диарея, значительно ограничивавшая ежедневную физическую активность. Из всех заболевших 116 млн (31%) человек получали противодиарейные препараты, 19 млн (5%) – антибактериальную терапию, кроме того, проведены исследования фекалий: бактериологические –



у 6 млн, паразитологические, в том числе на яйца гельминтов, – у 3 млн.

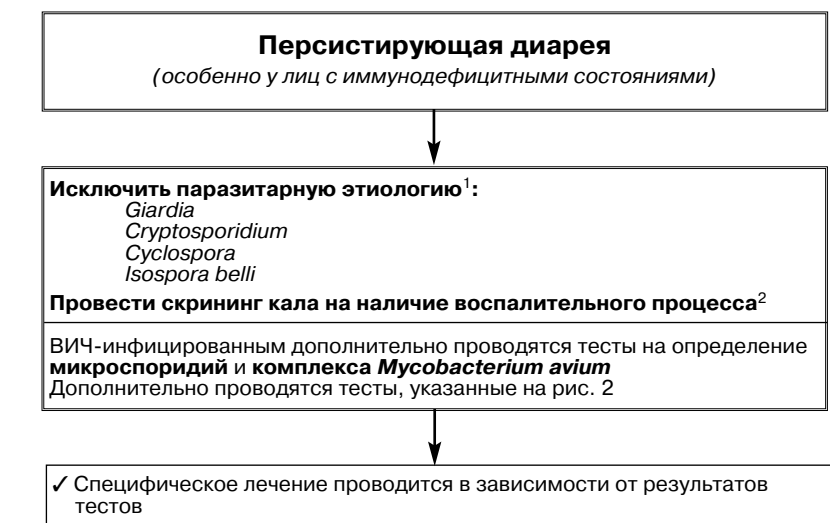
В США число летальных случаев, связанных с инфекционной диареей, колеблется от 500 в год у детей [14] до свыше 10 000 у взрослого населения (из них 5000 связаны с инфекциями, развивающимися вследствие употребления контаминированных продуктов). Наибольшее число летальных исходов регистрируется в пожилом возрасте [6, 15, 16].

Из числа летальных исходов 51% приходится на пациентов в возрасте старше 74 лет, 27% – в возрасте 55–74 лет, 11% – на детей в возрасте до 5 лет [17]. Во всем мире летальных исходов, обусловленных диареей, насчитывается 3,1 млн в год (более 8400 случаев в день), большинство из них составляют дети раннего возраста в развивающихся странах [3, 4].

### Противоречия в подходах к оценке острых диарейных заболеваний

Одна из задач практических рекомендаций – дать практическим врачам в сжатом виде наиболее полезную и доступную в настоящее время информацию. Несмотря на большое количество сведений по диагностике и лечению *острых диарейных заболеваний* (ОДЗ), содержащихся в отдельных статьях и руководствах, посвященных конкретным заболеваниям, лишь незначительное число работ рассчитано как на клиницистов, так и на эпидемиологов. Значительное разнообразие взглядов на данную проблему у работников практического здравоохранения свидетельствует о необходимости разработки подобных рекомендаций.

Тактика культурального исследования испражнений при диарее даже в тех случаях, когда имеются соответствующие кли-



<sup>1</sup>Для подтверждения диареи, вызванной простейшими, обычно используются иммунофлюоресцентные методы для обнаружения лямблий и криптоспоридий; окраска на кислотоустойчивость для выявления *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Isospora*; и использование специальных хромогенных или других красителей для выявления микроспоридий.

<sup>2</sup>Определение лактоферрина или лейкоцитов в испражнениях помогает подтвердить наличие воспалительного процесса, который часто бывает при колитах, вызванных *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter*, *C. difficile*, и при воспалительных заболеваниях толстой кишки.

Рис. 4. Алгоритм диагностики и лечения пациентов с персистирующей диареей

нические предпосылки, зависит не только от личного опыта и знаний врача, но и от влияния многих других факторов, в том числе и от географического региона, где возникло заболевание [18]. Существует множество мнений о том, что с медицинской точки зрения считать показанием для обследования лиц с диареей.

Бактериологическое исследование фекалий часто рассматривается как тест с высокой стоимостью в расчете на один положительный результат. Так как результаты лабораторных исследований часто запаздывают, а большая часть ОДЗ проходит без лечения, то данные тесты могут дать мало диагностически значимой информации, непосредственно относящейся к ведению конкретных пациентов, и вести к необоснованным затратам [19].

В то же время каждый положительный результат культурального исследования фекалий может оказаться важным для эпидемиологической службы, стремящейся своевременно выявлять вспышки инфекционных заболеваний и принимать адекватные меры.

В настоящих рекомендациях подчеркивается особая значимость микробиологического исследования образцов фекалий, выделения и идентификации возбудителей инфекций для проведения противоэпидемических мероприятий.

### Последствия неадекватной лабораторной диагностики и лечения

Несмотря на то что анамнестические и клинические данные могут предоставлять важную информацию, позволяющую судить

Таблица 1. Категории оценки степени доказательности предлагаемых рекомендаций и качества доказательств, на которых они основаны [1]

Категория	Определение
Степень доказательности	
A	Убедительные доказательства «за» использование рекомендации
B	Относительно убедительные доказательства «за» использование рекомендации
C	Слабые доказательства «за» или «против» использования рекомендации
D	Относительно убедительные доказательства «против» использования рекомендации
E	Убедительные доказательства «против» использования рекомендации
Качество доказательств	
I	Доказательства получены как минимум в одном рандомизированном контролируемом исследовании
II	Доказательства получены как минимум в одном хорошо организованном клиническом исследовании без рандомизации; из исследований на больших группах населения или из контролируемых аналитических исследований (предпочтительно многоцентровых); из многоэтапных серийных исследований или на основании «драматических» результатов, полученных в ходе неконтролируемых исследований и экспериментов
III	Доказательства получены из основанных на клиническом опыте мнений авторитетных специалистов, описательных исследований или официальных докладов экспертных комитетов

о возможной этиологии заболевания, для диагностики ряда инфекций необходимы лабораторное выделение и идентификация возбудителя.

Уменьшение доли пациентов с диареей, которым проводится микробиологическое исследование фекалий, вероятно, приведет к увеличению числа пациентов, лечение которым будет назначаться эмпирически. В ряде случаев оно будет неадекватным. Рациональная антимикробная терапия при многих бактериальных инфекциях и паразитарных болезнях может сокращать длительность их клинического течения и снижать заболеваемость, а также летальность при некоторых инвазивных инфекциях.

Появление микроорганизмов, резистентных ко многим широко используемым антимикробным препаратам, означает, что в будущем может увеличиться количество ошибок при назначении эмпирического лечения и значительно чаще будет исследоваться чувствительность возбудителей к антибиотикам.

Знание локальной картины антибиотикорезистентности может служить ориентиром в начальном выборе антибиотика.

Однако в целом успех лечения зависит от вида возбудителя, выделяемого от конкретного больного. Эмпирическая терапия антибиотиками широкого спектра действия или антибиотиками, к которым нечувствителен возбудитель, может способствовать возникновению и распространению резистентных штаммов микроорганизмов – возбудителей кишечных инфекций, например шигелл [20]. Эмпирическая терапия также может привести к неоправданному назначению дополнительных курсов антибиотикотерапии. Кроме того, использование антибиотиков может отрицательно влиять на исходы некоторых бактериальных диарей.

В ряде ситуаций лабораторное подтверждение диагноза является важным ориентиром для назначения адекватной этиотропной терапии. Например, вероятность развития ГУС у пациентов с инфекцией, вызванной *E. coli* O157:H7, может возрастать при использовании некоторых антибиотиков для начального лечения диареи [21, 22]. Лечение кишечной формы сальмонеллеза антибактериальными препаратами, включая фторхинолоны, мо-

жет увеличить срок бактерионосительства и частоту рецидивов заболевания [23].

Помимо влияния на конкретного возбудителя антимикробная терапия может повышать восприимчивость макроорганизма к другим инфекциям, например, вызванным резистентными штаммами сальмонелл при селективном давлении, трансформирующем бессимптомное носительство в инфекционный процесс с манифестацией клинических симптомов [24].

Предшествующее применение антибиотиков – твердо установленный фактор риска развития в последующем инфекции, вызванной чувствительными к антибиотикам штаммами *Salmonella* spp., что, вероятно, обусловлено изменениями состава нормальной микрофлоры [25]. Применение в стационарах метронидазола или ванкомицина для лечения пациентов с подозрением на *C. difficile*-ассоциированную диарею также является фактором, способствующим колонизации и распространению ванкомицино-резистентных штаммов энтерококков [26, 27].

Лабораторное подтверждение диагноза ОДЗ позволяет врачам

Таблица 2. Общие рекомендации по ведению пациентов с инфекционной диареей

Рекомендация	Оценка <sup>a</sup>
Начать с проведения регидратации (пероральной, если возможно)	A-I
Провести всестороннее клиническое и эпидемиологическое обследование для выявления у пациента кишечной инфекции (профузная, сопровождающаяся развитием дегидратации, кровянистая или протекающая на фоне лихорадки диарея или заболевание у детей, пожилых людей или пациентов с иммунодефицитными состояниями). То есть выяснить: характер начала заболевания; характеристику стула (частота и количество фекалий); признаки гиповолемии; сведения о путешествиях; посещает ли пациент детский сад; употреблял ли он сырое или подвергнутое недостаточной термической обработке мясо, сырые морепродукты или непастеризованное молоко; сведения о контактах пациента с больными людьми; сведения о половых контактах; сведения о приеме лекарств и проводившихся медицинских вмешательствах	A-II
Провести селективное культуральное исследование испражнений (рис. 2–4)	B-II
Избирательно назначить специфическую терапию у пациентов:	
с диареей путешественников	A-I
с шигеллезом	A-I
с кампилобактериозом	B-II
Избегать назначения противодиарейных препаратов у пациентов с кровянистой диареей или подтвержденным эшерихиозом, вызванным энтерогеморрагическими штаммами <i>E. coli</i>	E-I
Избирательно назначать доступные для использования вакцины <sup>b</sup> и применять брюшнотифозные вакцины (Vi-вакцину для парентерального применения или оральную Ty21a вакцину) у лиц, выезжающих в эндемичные по брюшному тифу районы (или постоянных жителей этих районов)	B-II

<sup>a</sup> Буквами обозначена степень доказательности рекомендаций, римскими цифрами – качество доказательств, на которых они основаны (см. табл. 1).

<sup>b</sup> Пероральная живая (103 HgR) и инактивированная (WCBS) холерные вакцины в настоящее время доступны, несмотря на то что у путешественников, соблюдающих гигиенические правила, диарея встречается очень редко.

назначать антимикробную терапию более целенаправленно [25]. Более того, отрицательные результаты бактериологического исследования также важны. Особенно это имеет значение при подтверждении воспалительного немикробного характера диареи [28].

Лабораторное подтверждение возбудителя также дает возможность воздержаться от назначения неоправданных инструментальных исследований и лечения. Например, подтвержденный диагноз инфекции, вызванной *E. coli* O157:H7, *C. jejuni* или *Entamoeba histolytica* у пациентов с выраженными схваткообразными болями в животе или кровянистыми испражнениями, позволяет предотвратить необоснованное и даже опасное в данном случае назначение колоноскопии, проведение хирургического вмешательства или использование глюкокортикоидов.

Отсутствие подозрения на ин-

фекционную природу диареи может привести к дальнейшему распространению заболевания среди населения, в том числе и среди медицинского персонала. Некорректное использование результатов лабораторной диагностики ОДЗ может отрицательно повлиять на лечение конкретного пациента.

Наконец, благодаря лабораторному подтверждению диагноза инфекционного заболевания клиницисты и эпидемиологи могут дать соответствующие дополнительные рекомендации пациентам с ОДЗ. Например, рекомендации, касающиеся медицинского персонала и работников питания о необходимости временного отстранения их от работы и дополнительного бактериологического обследования после выздоровления, контроля за развитием ГУС у пациентов с энтерогеморрагическим эшерихиозом, а также по предотвращению распространения инфекции в се-

мье и при общении со здоровыми людьми.

Отсутствие лабораторного подтверждения вида возбудителя значительно затрудняет эпидемиологический надзор за инфекциями, выявление вспышек и проведение других необходимых мероприятий по охране здоровья населения. Своевременное выявление эшерихиоза, вызванного *E. coli* O157:H7, у детей, посещающих детские учреждения, или шигеллеза у работников питания является решающим в организации предохранения здоровых людей от инфекции и предупреждения ее дальнейшего распространения. Важное значение при этом имеют соответствующее лечение больных, своевременное извещение эпидемиологической службы и проведение противоэпидемических мероприятий. Трудности эпидемиологического надзора за инфекциями могут быть сведены к минимуму при использовании соответствую-

ющих методов лабораторной диагностики у пациентов с диареей.

Эпидемиология заболеваний, связанных с употреблением контаминированных продуктов, в последнее время существенно изменяется. Растущая тенденция к массовому выпуску и широкому распространению продуктов, подвергающихся минимальной обработке, сопровождается увеличением территорий, охватываемой ОДЗ [29].

Вспышки инфекций, вызванных контаминированными продуктами, могут поражать тысячи людей и охватывать большие территории. В то же время они не могут не иметь классических характеристик (по времени и территории), наблюдаемых при очаговых вспышках, связанных с употреблением одного инфицированного продукта [30].

Выявление вспышек ОДЗ и проведение эффективных мероприятий зависит главным образом от надежности получаемых эпидемиологической службой данных, в том числе от результатов серологического и молекулярного типирования возбудителей.

Поэтому снижение числа микробиологических исследований фекалий может иметь негативные последствия для общественного здоровья [30]. Кроме того, недавно появившиеся новые возбудители ОДЗ скорее всего будут обнаруживаться в первую очередь у пациентов, охваченных массовыми вспышками заболевания. В связи с этим уменьшение количества лабораторных исследований у заболевших может существенно снизить возможности выявления патогенов. Например, мониторинг резистентности выделенных и направленных в центральную лабораторию штаммов *Salmonella* spp. способствовал выявлению нового полирезистентного штамма *S. typhimurium* DT 104 [31].

### **Результативность и экономическая эффективность выделения культуры возбудителя при исследовании испражнений**

Несмотря на то что культуральное исследование фекалий проводится повсеместно, целесообразность этого исследования остается спорной [32, 33, 34, 36], а получаемые результаты часто не имеют существенного диагностического значения.

В 1997 г. изучена работа 264 клинических лабораторий, в которых исследованы 232 212 образцов испражнений, выделено 2069 штаммов сальмонелл и 1272 штаммов шигелл, что составляет 0,9% от числа всех исследований для сальмонелл и 0,6% – для шигелл. Для кампилобактеров и *E. coli* положительные результаты составляли 1,4 и 0,3% от числа всех исследований соответственно.

По другим сообщениям, частота выделения культур при исследовании фекалий варьирует от 1,5 до 2,9% [18, 34, 35, 37]. В исследовании, проведенном в 1985–1986 гг., показано, что в 5,8% образцах фекалий были выделены возбудители кишечных инфекций [38].

Slutsker et al. [37] сообщили о 5,6% положительных результатов, полученных в 10 лабораториях США. При этом все образцы испражнений (30 463) исследовались и на *E. coli* O157:H7. Самым распространенным возбудителем оказался *C. jejuni*, затем следовали *Salmonella* spp., *Shigella* spp. и *E. coli* O157:H7 [37].

Расчет экономической эффективности с учетом только результативности и стоимости культурального исследования, предложенный впервые Koplan et al. в 1980 г., показывает, что стоимость одного положительного результата может составлять от 952

до 1200 долларов США [39]. Такая высокая стоимость обусловлена, во-первых, относительно низкой чувствительностью метода в выявлении наиболее вероятных возбудителей, во-вторых, часто необоснованным направлением фекалий на бактериологическое исследование [39].

На наш взгляд, еще одной из причин низкой результативности бактериологического исследования при диарейных инфекциях является несоблюдение медицинским персоналом правил забора материала и доставки его в лабораторию для исследования.

Несмотря на то что затраты на проведение микробиологического исследования испражнений являются важным фактором, стоимость одного положительного результата исследования – неполноценный и недостоверный критерий оценки диагностической значимости данного метода.

Поскольку результаты микробиологического исследования фекалий дают необходимую информацию не только для лечения конкретного пациента, но и для планирования мероприятий эпидемиологической службой, то для определения показаний к проведению бактериологического исследования должны использоваться наиболее адекватные прогностические факторы.

### **Подходы, повышающие экономическую эффективность микробиологического исследования испражнений**

**Выбор адекватной методики исследования.** Использование селективных методов бактериологического исследования может повысить его результативность и полезность. Например, по рекомендации центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США), у всех пациентов с острой кровавой диареей или ГУС следует заподозрить инфек-

цию, вызванную *E. coli* O157:H7. Во всех таких случаях необходимо целенаправленное бактериологическое исследование испражнений на наличие данного микроорганизма [37, 40].

В связи с отсутствием специфических сред для обнаружения *E. coli*, продуцирующей шигеллезный токсин *энтерогеморрагическая кишечная палочка* – (ЭГКП) других (не O157:H7) серотипов, во всех случаях тяжелой кровавистой диареи или ГУС, при которых возбудитель не выделен, можно использовать методы определения токсина в испражнениях или супернатанте жидкой питательной среды [41].

Хорошим способом определения ЭГКП у пациентов с кровавистой диареей или ГУС является также исследование фекалий на шигеллезный токсин методом *иммуоферментного анализа* (ИФА) после посева на жидкую питательную среду обогащения [42]. В том случае, если данный тест дает положительный результат, для эпидемиологической службы становится важным определение серотипа ЭГКП. Для этого можно посеять материал на агар МакКонки с сорбитолом (для определения *E. coli* O157:H7) или послать выделенные штаммы для исследования в центральную лабораторию.

К другим селективным методам бактериологического исследования, которыми можно воспользоваться у пациентов с диареей, относятся: выделение культуры *Vibrio* spp. при посеве на тиосульфатно-цитратную среду с добавлением солей желчи, у пациентов, употреблявших в пищу моллюсков не ранее чем за 3 дня до начала заболевания, а также исследование испражнений на *Yersinia enterocolitica* в осенне-зимний период в некоторых группах риска [43].

#### «Правило 3 дней» для госпитализированных пациентов.

Один из подходов, способствующих снижению числа необоснованных исследований и не имеющих существенного диагностического значения, – соблюдение «правила 3 дней» [20, 33]. Исследования образцов испражнений, взятых у пациентов с диареей, развившейся спустя 3 сут с момента госпитализации, дают очень низкие результаты при определении стандартных бактериальных возбудителей (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp. и др.) или простейших и яиц гельминтов.

На основании этого наблюдения несколько групп исследователей рекомендуют: если нет каких-то более веских оснований для проведения бактериологического исследования фекалий, не следует направлять в лабораторию их образцы, взятые у пациентов, госпитализированных более 3 дней назад (ранее такого рода образцы составляли 15–50% всех направленных в лабораторию). Соблюдение этого правила позволяет значительно снизить экономические затраты.

Многочисленные исследования кала на простейшие и яйца гельминтов также дают низкие результаты (у госпитализированных пациентов с нозокомиальной диареей) [44].

Конечно, соответствующее культуральное исследование необходимо проводить независимо от времени поступления всем пациентам, госпитализированным в стационар по поводу диареи, если ранее у них не исследовались испражнения в целях обнаружения указанных возбудителей или при вспышке ОДЗ, например, вызванной сальмонеллой.

Данные многоцентрового исследования, проведенного в Европе [34], свидетельствуют о том, что возраст пациентов старше 65

лет, наличие сопутствующих заболеваний, нейтропения и ВИЧ-инфекция могут служить основанием для назначения бактериологического исследования даже спустя 3 сут от момента госпитализации.

И наоборот, исследование образцов фекалий, взятых от пациентов с диареей, находящихся в стационаре 3 сут и более, в 15–20% случаев дают положительные результаты на *C. difficile*, подтверждая тем самым нозокомиальную природу диареи. Такие образцы должны быть исследованы на наличие токсина, продуцируемого *C. difficile*.

Одной из причин, снижающих результативность микробиологических исследований испражнений у пациентов, находящихся в стационаре, является применение антибактериальных и антипротозойных средств. Именно этот фактор и в меньшей степени длительность пребывания в стационаре обуславливают в основном низкую частоту выделения возбудителей инфекционных диарей, развившихся в условиях стационара. Поэтому направление материала для выделения копрокультуры у таких пациентов должно быть ограничено и проводиться лишь в случае ухудшения состояния больного, появления признаков генерализации инфекции и т. д.

**Выявление пациентов с воспалительной (инвазивной) диареей.** Кроме указанных подходов, позволяющих ограничить число лабораторных исследований испражнений, более полезным, по мнению некоторых специалистов, будет проведение микробиологического скрининга только при относительно небольшом количестве кишечных инфекций, диарея при которых носит воспалительный (инвазивный) характер [15, 45], в связи с тем, что именно при этих диареях

микробиологический диагноз (выделение культуры, например *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. или токсина, например, продуцируемого *C. difficile*) имеет наибольшее клиническое значение.

Воспалительная природа диареи может быть заподозрена на основании наличия у пациента лихорадки, тенезмов, кровянистых испражнений (то есть преобладание в клинической картине болезни синдрома колита) и может быть подтверждена обнаружением при микроскопическом исследовании кала нейтрофильных лейкоцитов или определением довольно простым иммунологическим методом маркера нейтрофилов – лактоферрина.

Недостатки микроскопического исследования состоят в том, что наиболее достоверные результаты получаются при анализе свежего материала и что образцы должны исследоваться опытным специалистом.

По мнению ряда исследователей, обнаружение лактоферрина в испражнениях является более чувствительным тестом, подтверждающим воспалительный характер диареи [20, 36]. К недостаткам метода, основанного на детекции лактоферрина, относятся высокая стоимость одного исследования и возможность получения ложноположительных результатов у детей, находящихся на грудном вскармливании. В то же время при инфекциях, вызванных неинвазивными токсинпродуцирующими микроорганизмами, такими, как ЭГКП или энтеротоксигенные штаммами *E. coli*, признаки воспалительного процесса нередко отсутствуют.

Применение более совершенных диагностических алгоритмов и скрининг-методов требует дальнейшего изучения. С усовершенствованием алгоритмов будут снижаться затраты без ущер-

ба для диагностической значимости исследований. Показано, что там, где проводится скрининг образцов испражнений в целях выявления воспалительного характера диареи, результативность культуральных исследований с целью выделения возбудителей значительно повышается [39, 36].

**Рекомендации.** Приведенные выше подходы показывают, что необходимо найти наиболее рациональный синтез всех рекомендаций, позволяющий адекватно обеспечить как оптимальное ведение отдельных пациентов, так и охрану общественного здоровья в целом.

Настоящие рекомендации согласованы и усовершенствованы в соответствии с данными педиатрической [46] и гастроэнтерологической [15] литературы и другими публикациями по вопросам клинико-лабораторных исследований. Они разделены на 2 части, в которых отдельно представлены рекомендации для практических врачей и для работников санитарно-эпидемиологической службы.

Подробное описание противоэпидемических мероприятий против различных диарейных заболеваний не входило в задачи данных рекомендаций. Приведенные здесь общие принципы касаются вопросов необходимости проведения специфического исследования испражнений, выделения возбудителя и тактики ведения пациентов, что позволяет обеспечить оптимальное лечение и охрану общественного здоровья.

### **Рекомендации для практических врачей**

**Начальная регидратация.** Наибольшую угрозу для пациентов с диарейными заболеваниями представляет развитие дегидратации. Поэтому в начале лечения решающее значение имеет

регидратация. В подавляющем большинстве случаев она может проводиться пероральным введением раствора глюкозы или полиионных растворов, содержащих крахмал (А-1). Несмотря на то что многие пациенты со среднетяжелым течением диареи могут сами предупредить развитие дегидратации приемом повышенного количества жидкости, более тяжелая диарея, бессознательное состояние и снижение диуреза требуют проведения дополнительной регидратации.

ВОЗ рекомендует применять для оральной регидратации растворы следующей прописи: 3,5 г NaCl, 2,5 г NaHCO<sub>3</sub> (или 2,9 г цитрата натрия), 1,5 г KCl и 20 г глюкозы или ее полимеров (например, 40 г сахарозы или 4 столовые ложки сахара, или 50–60 г вареного риса, кукурузы, сорго, проса, пшеницы или картофеля) на 1 л воды. Это позволяет получить раствор, содержащий приблизительно 90 ммоль Na, 20 ммоль K, 80 ммоль Cl, 30 ммоль HCO<sub>3</sub> и 111 ммоль глюкозы.

Помимо раствора, рекомендованного ВОЗ, можно использовать один из готовых растворов для оральной регидратации (цитроглюкосалан, регидрон, гастролит). Количество выпитой жидкости должно в 1,5 раза превышать потери ее с испражнениями и мочой.

Доказательства, подтверждающие эффективность приведенной рекомендации для всех пациентов с диареей, сопровождающейся развитием дегидратации, имеются во многих публикациях [47]. Применение такого раствора не только спасает жизнь пациентам с тяжелой диареей в тех случаях, когда невозможно ввести жидкость внутривенно, но и является менее болезненным, более безопасным, менее дорогостоящим и более

предпочтительным по сравнению с внутривенным способом введения тем пациентам, которые в состоянии принимать жидкость через рот.

Уменьшение жажды во время проведения регидратации может служить вспомогательным признаком, позволяющим предупредить развитие гипергидратации [48]. Потери жидкости с испражнениями в дальнейшем могут быть компенсированы назначением соответствующего дополнительного питания [49].

Следует восполнять содержание витамина А и цинка у пациентов с предполагаемым и подтвержденным дефицитом этих веществ.

Находятся в стадии разработки новые многообещающие подходы к оральной регидратации и лечебному питанию, включающие использование глутамина или его производных с целью ускорения восстановления поврежденной слизистой оболочки [50].

**Обследование пациента.** Как в широко используемых подробных алгоритмах по ведению пациентов, так и в других публикуемых материалах [34, 45, 51] указывается, что всестороннее изучение анамнеза пациента, включая клинические и эпидемиологические данные, должно быть первым шагом в обследовании пациентов, имеющих характерные признаки диарейного заболевания, а именно профузную диарею, сочетающуюся с симптомами дегидратации и лихорадкой, или кровавистую диарею, особенно у детей и пожилых пациентов или у лиц с иммунодефицитными состояниями (рис. 4, А-2). Существенное значение имеют следующие клинические особенности:

1) когда и как началось заболевание (например, внезапное или постепенное начало, продолжительность симптомов);

2) характеристика испражнений (водянистые, кровавистые, с примесью слизи или гноя, жирные и т. д.);

3) частота стула и относительное количество испражнений;

4) наличие симптомов дизентерии (лихорадка, тенезмы, примесь крови и/или гноя в испражнениях);

5) симптомы эксикоза – жажда, тахикардия, ортостатическая гипотензия, уменьшение диуреза, вялость и заторможенность, снижение тургора кожи;

6) сопутствующие симптомы, их частота и интенсивность (тошнота, рвота, боли в животе, спазмы, головная боль, мышечные боли, расстройства сознания).

Кроме того, у всех пациентов должно быть выяснено наличие эпидемиологических факторов риска развития отдельных заболеваний или их распространения. Они включают следующие обстоятельства:

1) поездки в развивающиеся страны;

2) посещение детских учреждений и род занятий (профессия);

3) употребление в пищу небезопасных продуктов (например, недостаточно термически обработанного мяса, сырых яиц или моллюсков; непастеризованного молока и соков); купание в загрязненных водоемах или использование для питья сырой воды из них (например, из озера или реки);

4) посещение ферм и «детских» зоопарков (где можно потрогать и погладить животных) или контакт с дикими или домашними животными, у которых отмечается диарея;

5) наличие в окружении больных, имеющих сходные симптомы (например, в общежитии, на работе);

6) регулярный или недавний прием лекарств (антибиотиков,

антацидных препаратов, противодиарейных средств);

7) наличие медицинских факторов, предрасполагающих к развитию инфекционной диареи (СПИД, прием иммунодепрессантов, гастрэктомия в анамнезе, ранний детский или старческий возраст);

8) анальный секс или орально-анальные половые контакты;

9) принадлежность к декретированным группам населения (работники питания, воспитатели детских учреждений).

Для пациентов со СПИДом опубликован собственный модифицированный алгоритм первичной диагностики и лечения, предусматривающий более тщательное обследование [51]. Даже в эпоху, когда существует высокоактивные антиретровирусные препараты, диарея у пациентов с ВИЧ-инфекцией остается серьезной проблемой [52].

Целенаправленное объективное обследование также может помочь правильной оценке и лечению острой диареи. Особенно важно выявлять отклонения жизненно важных показателей (в том числе лихорадку, изменения пульса в ортостазе и артериального давления), симптомы эксикоза (сухость слизистых оболочек, снижение тургора кожи, отсутствие яремного венозного пульса), болезненность при пальпации живота и расстройство сознания.

Большинство клинических симптомов, наблюдаемых при инфекционной диарее, неспецифические. Они имеют небольшое диагностическое значение при конкретных кишечных патогенах [19]. Однако для отдельных заболеваний, диагностируемых на основании результатов культурального исследования испражнений (шигеллез, сальмонеллез, кампилобактериоз), характерны некоторые признаки воспали-

тельного процесса, такие, как лихорадка, боли в животе, кровянистые испражнения, наличие в них лейкоцитов, лактоферрина или скрытой крови (II) [53, 54, 55]. То есть речь идет о преобладании в картине заболевания признаков колита или гемоколита.

#### **Исследование испражнений.**

Наибольший интерес представляет разработка оптимальных алгоритмов, основанных на сочетании клинических и эпидемиологических данных о пациенте. Например, продолжительность диареи более одного дня, особенно если она сопровождается лихорадкой, общими симптомами, носит кровянистый характер, а также недавнее применение антибиотиков в анамнезе, посещение детских дошкольных учреждений, госпитализация или наличие симптомов дегидратации (сухость слизистых оболочек, снижение диуреза, тахикардия, симптомы ортостатической гипотензии, вялость, сонливость или заторможенность) должны служить предпосылками для проведения исследования испражнений по алгоритмам, представленным на рис. 1–4.

Дополнительные лабораторно-инструментальные исследования, такие, как биохимический анализ крови, развернутый общий анализ крови, исследование ее на стерильность, общий анализ мочи, рентгенологическое исследование органов брюшной полости, ректороманоскопия и эндоскопическое исследование мягким эндоскопом, следует назначать только тогда, когда степень тяжести заболевания или клинические и эпидемиологические данные свидетельствуют о необходимости использования данных методов.

Рекомендуется избирательный подход для назначения культурального исследования испражнений (рис. 1–4). Оценива-

ется характер кишечного заболевания, затем его относят к 1-й или большей категории, для каждой из которых предусматривается набор необходимых диагностических тестов. Выделяют 3 категории:

1) внебольничную диарею или диарею путешественников, особенно если она сопровождается лихорадкой или примесью крови в испражнениях;

2) нозокомиальную инфекционную диарею, возникающую через 3 и более суток от момента госпитализации;

3) персистирующую диарею (B-II).

Несмотря на то что обнаружение в испражнениях лейкоцитов или лактоферрина дополнительно свидетельствует в пользу воспалительного характера диареи, мнения экспертов в отношении рутинного использования скрининга на наличие воспалительного процесса на начальных этапах диагностики у пациентов с внебольничной или нозокомиальной диареей расходятся.

Однако положительные результаты данного скрининга у пациентов с необъяснимой персистирующей или рецидивирующей диареей позволяют склоняться в сторону возможного диагноза воспалительного заболевания толстой кишки (то есть неспецифического язвенного колита или болезни Крона) и определяют необходимость консультации гастроэнтеролога [28]. Пациенты, инфицированные ЭГКП, часто имеют кровянистую диарею и отрицательный или низкий уровень лактоферрина, что является показанием к применению специализированного подхода к таким пациентам [56].

Госпитализированные пациенты (за исключением, как указывалось выше, необследованных, поступивших в стационар по поводу диареи), особенно при

болях в животе, должны быть обследованы на наличие в фекалиях токсина *C. difficile*.

Всех пациентов, у которых заболевание длится более 7 дней (особенно у пациентов с иммунодефицитными состояниями), следует дополнительно обследовать по алгоритму, приведенному на рис. 4. При подозрении на вспышку острого инфекционного гастроэнтерита могут понадобиться дополнительные специальные исследования испражнений и выделенных штаммов *E. coli* [57].

Быстро развивающиеся методики с использованием новых некультуральных методов – ИФА и ДНК-зонды – дают большие надежды на повышение чувствительности диагностического исследования. Рутинные культуральные исследования, традиционно считающиеся «золотым стандартом», будут иметь решающее значение для определения чувствительности возбудителя к антибиотикам, а также для установления серотипа и типирования возбудителей во время вспышек.

Ротавирусная диарея, являющаяся ведущей причиной инфекционной диареи у детей раннего возраста, может быть диагностирована с помощью коммерческих тест-систем, но, как правило, нет необходимости использовать подобные методы для ведения отдельных пациентов.

Следует подумать и о неинфекционных, или внекишечных, причинах диареи в тех случаях, когда при использовании полного набора микробиологических диагностических методов не определен конкретный возбудитель. В данную группу причин входят синдром раздраженного кишечника, воспалительные заболевания толстой кишки (если диарея носит персистирующий или рецидивирующий характер,



в испражнениях содержатся лейкоциты или лактоферрин, а природа диареи остается неустановленной), ишемическое поражение кишечника (возраст пациента старше 50 лет или наличие облитерирующего поражения периферических сосудов), употребление слабительных средств, частичная обструкция, ректосигмовидный абсцесс, болезнь Аддисона–Бирмера, синдром мальабсорбции, дивертикулы тонкой кишки, склеродермия и целиакия [15, 58].

**Рекомендации по лечению.** Возрастающая угроза инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов, наличие нежелательных реакций при применении антимикробных препаратов, суперинфекция, связанная с эрадикацией нормальной микрофлоры антибактериальными средствами, и возможность индукции антибиотиками некоторых факторов вирулентности у энтеропатогенов (например, индукция фторхинолонами фага, ответственного за продукцию шигеллезного токсина) [42], заставляют тщательно взвешивать все за и против при решении вопроса об антимикробной терапии.

Существует только одна ситуация, при которой рекомендуется эмпирическое назначение антибиотиков без культурального исследования испражнений – это пациенты с диареей путешественников, наиболее вероятным возбудителем которой являются энтеротоксигенные штаммы *E. coli* или другие бактериальные патогены. В этом случае назначают фторхинолоны, а детям – котримоксазол, применение которых может сократить длительность заболевания с 3–5 до 1–2 дней (А-1).

Некоторые специалисты предлагают также назначать эмпирическую терапию диареи, продол-

жающуюся более 10–14 дней, при подозрении на лямблиоз, если результаты всех других бактериологических исследований оказались отрицательными, особенно если в анамнезе у пациента есть указания на поездки в другие регионы или контакт с загрязненными источниками воды [15].

В других случаях у пациентов с диареей, сопровождающейся лихорадкой, особенно когда предполагается среднетяжелое или тяжелое течение инвазивной инфекционной диареи, следует назначать эмпирическое лечение (но только после взятия испражнений для исследований, описанных в алгоритме). В данном случае эмпирическая терапия может проводиться препаратами группы фторхинолонов или у детей – котримоксазолом, что позволяет уменьшить длительность заболевания по крайней мере при инфекциях, вызванных чувствительными штаммами шигелл (А-1) [59, 60], и, возможно, при инфекциях, обусловленных чувствительными штаммами *Campylobacter* spp. (В-II) [61].

Во всем мире отмечается рост числа заболеваний, вызванных штаммами *Campylobacter* spp. (в первую очередь *C. jejuni*), резистентными к хинолонам. Причем при назначении фторхинолонов течение данной инфекции может ухудшаться за счет подавления ими нормальной микрофлоры [62, 63]. Эритромицин, многими авторами считающийся препаратом выбора для терапии кампилобактериоза, может сократить длительность заболевания и сроки бактериовыделения при инфекциях, вызванных чувствительными к нему штаммами *C. jejuni* [64].

Назначение фторхинолонов или других антимикробных препаратов при сальмонеллезной инфекции может быть оправданным в случаях, когда имеется

риск генерализации процесса, а также у детей в возрасте до 6 мес (у детей рекомендован нефторированный хинолон – налидиксовая кислота). Однако следует помнить, что, подобно другим антибиотикам, хинолоны могут пролонгировать носительство нетифоидных сальмонелл [15, 23]. Согласно российским рекомендациям по лечению сальмонеллезов, антибактериальные препараты применяются также при сохраняющейся более 2 сут лихорадке и признаках генерализации инфекции.

Особенно вызывает беспокойство появление штаммов *Salmonella* spp. с множественной лекарственной устойчивостью, в том числе и к фторхинолонам [65]. Не следует назначать антибиотики только в целях профилактики дальнейшего распространения заболевания. Выполнением простых мероприятий, таких, как мытье рук, могут быть достигнуты такие же результаты, но без риска селекции резистентных штаммов.

При подозрении инфекции или при подтвержденной инфекции, вызванной ЭГКП, не следует применять противодиарейные препараты (Е-II) [38, 66]. Решение о необходимости лечения заболевания, которое предположительно могло быть вызвано ЭГКП O157:H7, антимикробными препаратами должно быть тщательно продумано, так как оно может повысить риск развития ГУС.

Результаты исследований не подтверждают, что лечение антибиотиками инфекции, вызванной ЭГКП O157:H7, купирует симптомы заболевания. В некоторых ретроспективных исследованиях даже отмечена более высокая частота развития ГУС у леченных антимикробными препаратами пациентов [21, 22]. Однако это может быть в результате изна-

Таблица 3. Рекомендации по лечению инфекционной диареи бактериальной этиологии

Возбудитель	Пациенты с нормальной иммунной системой	Пациенты с иммунодефицитными состояниями
<i>Shigella</i> spp.	Ко-тримоксазол – 0,96 г, для детей – 5 мг/кг (по триметоприму) 2 раза в день 3 дня (если возбудитель чувствителен <sup>а</sup> ) или фторхинолоны <sup>б</sup> (офлоксацин – 0,3 г, норфлоксацин – 0,4 г, цiproфлоксацин – 0,5 г) 2 раза в день 3 дня (А-I) [59, 60]; у детей налидиксовая кислота – 55 мг/(кг·сут) 5 дней или цефтриаксон [37]; азитромицин [60]	Курс антибиотикотерапии составляет 7–10 дней
Негифоидные штаммы <i>Salmonella</i> spp.	Антимикробные препараты обычно не рекомендуются (Е-I) [23], но при тяжелом течении у детей в возрасте до 6 лет и лиц старше 50 лет, у пациентов после протезирования, а также при пороках сердца, тяжелых формах атеросклероза, опухолях и уремии применяется ко-тримоксазол (если возбудитель чувствителен) или фторхинолоны <sup>б</sup> (в указанных выше дозах) 2 раза в день 5–7 дней (В-III) [15, 74]; цефтриаксон в дозе 100 мг/(кг·сут) в 1 или 2 введения	Курс антибиотикотерапии составляет 14 дней (более длительные курсы назначаются при развитии рецидивов)
<i>Campylobacter</i> spp.	Эритромицин – 0,5 г 2 раза в день 5 дней <sup>в</sup> (В-II) [61]	Такое же (может потребоваться более длительный курс лечения)
<i>Escherichia coli</i> . Штаммы: энтеротоксигенные	Ко-тримоксазол – 0,96 г 2 раза в день 3 дня (если возбудитель чувствителен) или фторхинолоны (офлоксацин – 0,3 г, норфлоксацин – 0,4 г, цiproфлоксацин – 0,5 г) 2 раза в день 3 дня (А-I) [75]	Такое же (В-III)
энтеропатогенные энтероинвазивные энтероаггративные	Как указано выше (В-II) Как указано выше (В-II) [76] Не разработано (С-III)	Такое же (В-III) Такое же (В-III) Рекомендуются фторхинолоны по схеме лечения энтеротоксигенных эшерихиозов
энтерогеморрагические	Не назначать противодиарейные средства (Е-II) [68]; роль антибиотиков остается не выясненной, поэтому следует избегать их применения <sup>г</sup> (С-II) [77]	Такое же (С-III)
<i>Aeromonas</i> spp. <i>Plesiomonas</i> spp.	Ко-тримоксазол – 0,96 г 2 раза в день 3 дня (если возбудитель чувствителен), фторхинолоны <sup>б</sup> (ципрофлоксацин – 0,5 г, офлоксацин – 0,3 г, норфлоксацин – 0,4 г) 2 раза в день 3 дня (В-III) [78, 79]	Такое же (В-III)
<i>Yersinia</i> spp.	Назначение антибиотиков обычно не требуется (С-II) [80]; лечение дефероксамином следует прекратить (В-II); при тяжелом течении или развитии бактериемии лечить пациентов с иммунодефицитами, используя комбинированную терапию доксициклином, аминогликозидами, ко-тримоксазолом или фторхинолонами <sup>б</sup> (В-III) [81]	Доксициклин, аминогликозиды (в комбинации) или ко-тримоксазол, или фторхинолоны <sup>б</sup> (В-III) [81]
<i>Vibrio cholerae</i> O1 или O139	Однократно доксициклин – 300 мг или тетрациклин – 500 мг 4 раза в день 3 дня; ко-тримоксазол – 0,96 г 2 раза в день 3 дня или однократно фторхинолоны <sup>б</sup> (А-I) [82]	Такое же (В-III)
Токсигенные штаммы <i>Clostridium difficile</i>	По возможности следует исключить «причинный» антибиотик (В-II) [70]; метронидазол – от 0,25 г 4 раза в день до 0,5 г 3 раза в день 10 дней (А-II) [83]	Такое же (В-III)

<sup>а</sup> В связи с высокой частотой резистентности шигелл к ко-тримоксазолу для эмпирической терапии шигеллеза предпочтение отдается фторхинолонам.

<sup>б</sup> Фторхинолоны не разрешены для применения в детском возрасте.

<sup>в</sup> Антибиотики оказывают максимальный эффект в том случае, если они назначаются как можно раньше от начала заболевания.

<sup>г</sup> Fosфомицин, возможно, является более безопасным и эффективным антибиотиком, но требует дальнейшего изучения [23, 42, 67].

чально более тяжелого течения заболевания у этих пациентов.

Данные, полученные при исследовании *in vitro*, указывают на

то, что некоторые антибиотики могут усиливать продукцию шигеллезного токсина, а эксперименты на животных продемонст-

рировали отрицательные эффекты применения антибиотиков для лечения энтерогеморрагического эшерихиоза [47].

Таблица 4. Рекомендации по лечению инфекционной диареи, вызванной простейшими

Возбудитель	Пациенты с нормальной функцией иммунной системы	Пациенты с иммунодефицитными состояниями
<i>Giardia lamblia</i>	Метронидазол – 0,25–0,75 г 3 раза в день 7–10 дней (А-I) [84]	Такое же (В-III)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	При тяжелом течении рекомендуется мономицин (паромомицин) – 0,5 г 3 раза в день 7 дней как при лечении пациентов с иммунодефицитами (С-III)	Мономицин – 0,5 г 3 раза в день 14–28 дней, затем при необходимости 2 раза в день (В-I) [70, 85]; пациентам со СПИДом проводится высокоактивная антиретровирусная терапия, включающая ингибиторы вирусной протеазы (А-II) [86]
<i>Isoospora</i> spp.	Ко-тримоксазол – 0,96 г 2 раза в день, 7–10 дней (В-III)	Ко-тримоксазол – 0,96 г 4 раза в день 10 дней, в последующем ко-тримоксазол три раза в неделю или сульфадоксин – 0,5 г и пириметамин 0,025 г 1 раз в неделю неопределенно долго для пациентов со СПИДом (А-I)
<i>Cyclospora</i> spp.	Ко-тримоксазол – 0,96 г 2 раза в день 7 дней (А-II) [45]	Ко-тримоксазол – 0,96 г 4 раза в день 10 дней, в последующем ко-тримоксазол 3 раза в неделю неопределенно долго (А-II)
<i>Microsporidium</i> spp.	Не разработано	Албендазол – 0,4 г 2 раза в день 3 нед (В-I) [88]; пациентам со СПИДом проводится высокоактивная антиретровирусная терапия, включающая ингибиторы вирусной протеазы (А-II) [69, 86]
<i>Entamoeba histolytica</i>	Метронидазол – 0,75 г 3 раза в день 5–10 дней в сочетании с йодохинолом – 0,65 г 3 раза в день 20 дней или мономицином – 0,5 г 3 раза в день 7 дней (А-II)	Такое же

В Японии при нерандомизированных клинических исследованиях и испытаниях *in vitro* установлено, что фосфомицин может безопасно применяться и, возможно, улучшать течение заболевания [23]. Однако данный факт требует дальнейшего изучения (С-III) [42, 67, 22, 23].

Более детальные рекомендации по диагностике и лечению отдельных инфекционных заболеваний представлены в табл. 3 и 4 [15, 51]. В связи с изменениями картины резистентности решающим при выборе тактики антимикробной терапии является знание локальных данных об антибиотико-резистентности [68, 69, 70].

Появляется все больше публикаций о том, что *Aeromonas* spp. также является энтеропатогенным микроорганизмом. С данным возбудителем обычно связывают среднетяжелую диарею, иногда даже хроническую или кровянистую. В данном случае считают необходимым назначение антимикробной терапии

ко-тримоксазолом, который в подобной ситуации является препаратом выбора.

Данные, подтверждающие патогенность *Plesiomonas* spp., довольно скудные. Однако в случаях, особенно при диарее, возникающей после поездок в другие регионы или после употребления моллюсков, если не выделено никаких возбудителей, данный микроорганизм может рассматриваться в качестве возможного этиологического фактора при дифференциальном диагнозе. Имеются отдельные сообщения о том, что в таких случаях применение ко-тримоксазола может сократить длительность заболевания.

В табл. 2 суммированы основные положения, рассмотренные в настоящих рекомендациях. Начальная регидратация, клиническое и эпидемиологическое обследование, избирательное адекватное исследование испражнений и лечение являются решающими в оптимальной диагностике

и ведении пациентов с диареей.

Извещение о подозрении на вспышку инфекционного заболевания и о случаях выявления болезней, подлежащих регистрации центральными органами эпидемиологической службы, является крайне необходимым. Оно позволяет своевременно провести выяснение степени распространения кишечной инфекции.

Для туристов, выезжающих в районы, эндемичные по брюшному тифу и холере, рекомендуются парентеральная (Vi) холерная и пероральная (Ty21a) брюшнотифозная вакцины. Новые живая и убитая пероральные холерные вакцины также уже доступны.

#### Рекомендации для эпидемиологической службы

**Культуральное исследование испражнений в эпидемиологических целях.** Культуральное исследование фекалий показано только определенным группам людей. Работники питания и медицинский персонал должны

подвергаться бактериологическому обследованию в случае возникновения у них диареи в связи с возможностью передачи инфекции большому количеству людей в процессе выполнения профессиональной деятельности.

При появлении диареи у детей, посещающих детские учреждения, работников этих учреждений, а также у лиц, постоянно находящихся в замкнутых коллективах (например, в психиатрических больницах, тюрьмах или домах престарелых), также должно быть проведено обследование на наличие у них бактериальной или паразитарной инфекции, поскольку появление заболевших с поражением желудочно-кишечного тракта в данных коллективах может свидетельствовать о начинающейся вспышке инфекции.

Врачи, заподозрившие начало вспышки инфекции на основании роста числа случаев заболеваний с диареей в определенной группе населения, должны назначить в соответствии с клиническими симптомами необходимые лабораторные исследования в целях идентификации возбудителя и установления размеров очага.

О подозрении на вспышку острого инфекционного заболевания должно быть сообщено в органы эпидемиологической службы.

**Извещение о случае инфекционного заболевания.** Извещение о случае инфекционного заболевания – краеугольный камень системы эпидемиологического надзора, организации мероприятий по выявлению вспышки инфекции, а также профилактических мер и контроля. Практические врачи и работники клинических лабораторий играют главную роль в данном процессе. Несмотря на то что форма и порядок подачи извещения несколько различаются, в большинстве го-

сударств извещение посылается в местные или центральные органы эпидемиологической службы сразу после установления диагноза инфекционного заболевания, подлежащего регистрации.

Раннее сообщение о подозрении на вспышку инфекции будет способствовать немедленному проведению необходимого эпидемиологического расследования и в конечном итоге предотвращению дальнейшего распространения заболевания.

Местные эпидемиологические органы могут обследовать отдельных пациентов, проводить расследование в очаге, участвовать в регистрации и извещении лиц, бывших в контакте, и предоставлять дополнительные рекомендации пациентам, охваченных вспышкой заболевания.

Органы эпидемиологической службы могут также предоставлять рекомендации по профилактике заболевания населению или отдельным лицам с повышенным риском развития диареи. Оптимальная форма обращения – в печатных или электронных средствах массовой информации.

**Типирование выделенных культур.** При некоторых бактериальных кишечных инфекциях выявление вспышки заболевания и проведение расследования в очаге, а также эффективность противоэпидемических мероприятий зависят от типирования выделенных штаммов возбудителя в центральной лаборатории эпидемиологической службы.

Так, например, рутинным исследованием является серотипирование выделенных штаммов сальмонелл. В настоящее время разрабатываются методики молекулярного типирования патогенных вирусов, таких, как вирус гепатита А и калицивирусы. В будущем они войдут в повседневную практику эпидемиологической службы.

**Дополнительное лабораторное обследование.** В определенных ситуациях бывает необходима гарантия того, что пациент с лабораторным подтверждением диагноза бактериальной или паразитарной кишечной инфекции излечен или не является больше носителем ее возбудителя.

Так как работники питания и медицинский персонал могут быть источниками бактериальной или паразитарной инфекции даже в том случае, когда заболевание протекает у них в скрытой (бессимптомной) форме, то рекомендуется допускать данные контингенты к работе только после получения 2 отрицательных бактериологических анализов кала, взятого с интервалом в 24 ч и не ранее чем через 48 ч после исчезновения клинических симптомов.

Если пациент получал антимикробную терапию, первый анализ кала должен быть начат не ранее чем через 48 ч после последнего приема антибиотиков [71]. Более того, если заболевание протекает с манифестацией клинических симптомов, то такие лица должны быть отстранены от работы (работники питания – от непосредственного контакта с продуктами, медицинские работники – от контактов с пациентами).

Порядок и сроки отстранения от работы, правила и порядок обследования данных контингентов зависят от вида возбудителя и регламентированы соответствующими нормативными документами.

Особенно тщательно следует контролировать кишечные инфекции, возникающие у работников детских учреждений и у детей, их посещающих, в связи с высокой вероятностью распространения в организованных коллективах таких распространенных возбудителей, как *E. coli* O157:H7 и *S. sonnei*.

Мероприятия по профилактике и контролю за ОДЗ в организованных детских коллективах требуют соблюдения следующих правил:

- не допускать больных детей в коллектив;
- проводить групповую изоляцию выздоравливающих детей;
- проводить санитарно-просветительную работу среди населения [72].

**Провещение (образование) пациентов как способ профилактики инфекционных заболеваний.** Профилактика многих кишечных инфекций достигается соблюдением простых правил личной гигиены и правил приготовления безопасной пищи.

Мытье рук с мылом – эффективная мера профилактики передачи инфекции. Оно особенно важно для лиц, осуществляющих уход за пациентами с ОДЗ. Выше отмечалось, что испражнения человека должны рассматриваться как потенциально опасные, независимо от того, имеется ли диарея и выделены или нет патогенные микроорганизмы.

Отдельным группам лиц необходимо дополнительное просвещение в вопросах безопаснос-

ти пищевых продуктов. Лица с иммунодефицитными состояниями (ВИЧ-инфицированные, длительно получающие глюкокортикоиды или иммуносупрессивную терапию, онкологические больные, проходящие курсы химиотерапии) наиболее восприимчивы к инфекции, вызванной более широким спектром кишечных патогенов. Заболевание у них, вероятнее всего, будет протекать в более тяжелой форме и чаще будет сопровождаться развитием осложнений. При этом риск развития заболевания может быть снижен при обучении и соблюдении ими гигиенических правил [73].

Лица, страдающие алкоголизмом и хроническими заболеваниями печени, представляют группу риска заражения *Vibrio spp.* (особенно *V. vulnificus*), источником которого являются сырые моллюски. Поэтому они должны избегать употребления их в пищу.

Лица с иммунодефицитными состояниями входят в группу риска заболевания инфекцией, вызванной *Listeria monocytogenes*, которая может содержаться в молоке и молочных продуктах (например, в мягких сортах сыра), непрожаренном мясе. Поэтому им сле-

дует избегать употребления этих продуктов.

Беременным следует избегать употребления недостаточно подвергнутого термической обработке мяса в связи с опасностью инфицирования *Toxoplasma gondii*, а также непастеризованного молока и продуктов из него (особенно сыра), французского мягкого сыра, непрожаренного мяса, которые могут содержать *L. monocytogenes*. Оба указанных возбудителя могут обуславливать самопроизвольные аборты.

Для детей раннего возраста и пожилых людей чрезвычайно опасными являются инфекции, вызываемые *E. coli* и сальмонеллами. Однако их развитие легко предотвратить соблюдением правил приготовления и употребления пищи.

В заключение необходимо еще раз отметить, что настоящие рекомендации могут стать практическим руководством для врачей и работников эпидемиологической службы по ведению пациентов с инфекционной диареей и рабочей основой для создания собственных рекомендаций, модифицированных с учетом региональных данных.

## Литература

1. Gross P.A., Barrett T.L., Dellinger E.P., et al. Purpose of quality standard for infectious diseases. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 1994; 18:421.
2. Bartlett J.G., Breiman R.F., Mandell L.A., Pile T.M.J. Community-acquired pneumonia in adults: guidelines for management. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 1998; 26:811-38.
3. World Health Organization. The World Health report 1996: fighting disease, fostering development. Report of the Director-General. Geneva: World Health Organization, 1996.
4. Guerrant R.L. Why America must care about tropical medicine: threats to global health and security from tropical infectious diseases. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59:3-16.
5. Herikstadt H., Vergia D., Hadler J., et al. Population-based estimate the burden of diarrheal illnesses: FoodNet 1996-1997. 1st International Conference on Emerging Infectious Diseases (Atlanta), March 1998.
6. Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., et al. Food-related illness and death the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:607-25.
7. Nachamkin I., Allos B.M., Ho T. *Campylobacter* species and Guillain Barre syndrome. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:555-67.
8. Steiner T.S., Lima A.A.M., Nataro J.P., Guerrant R.L. Enterotoxigenic *Escherichia coli* produce intestinal inflammation and growth impairment and cause interleukin-8 release from intestinal epithelial cells. *J Infect Dis* 1998; 177:88-96.
9. Checkley W., Gilman R.H., Epstein L.D., et al. The adverse effects of *Cryptosporidium parvum* infection on the growth of children. In: Program of the 5th Annual Meeting of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) International Centers for Tropical Research (ICTDR), 24–26 April

1996. Bethesda, Maryland: NIAID 1996.
10. Guerrant D.I., Moore S.R., Lima A.A.M., Patrick P., Schorling J.B., Guerrant R.L. Association of early childhood diarrhea and cryptosporidiosis with impaired physical fitness and cognitive function 4–7 years later in poor-urban community in Northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61:707-13.
  11. National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Foodborne disease fact sheet. 1999. Available at: <http://www.niaid.nih.gov/factsheets/foodbornedis.htm>. Accessed 23 January 2001.
  12. World Health Organization. The management and prevention of acute diarrhea: practical guidelines. 3d ed. Geneva: WHO, 1993.
  13. Bartlett A.V., Moore M., Gary G.W., Starko K.M., Erben J.J., Meredith B.A. Diarrheal illness among infants and toddlers in day care centers. II. Comparison with day care homes and households. *J Pediatr* 1985; 107:503-9.
  14. Ho M-S, Glass R.I., Pinsky P.R., et al. Diarrheal deaths in American children: are they preventable? *JAMA* 1988;260(22):3281-5.
  15. DuPont H.L. Guidelines on acute infectious diarrhea in adults. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1997;92:1962-75.
  16. Glass R.I., Lew J.P., Gangarosa R.E., Lebaron C.W., Ho M.S. Estimates of morbidity and mortality rates for diarrheal diseases in American children. *J Pediatr* 1991; 118:S27-33.
  17. Lew J.F., Glass W., Gangarosa R.E., Cohen I.P., Bern C., Moe C.L. Diarrheal deaths in the United States, 1979 through 1987: a special problem for the elderly. *JAMA* 1991; 265:3280-4.
  18. Van Gilder T., Christensen D., Shallow S., et al. Variations in stool handling and culturing practices among clinical microbiology laboratories within the Foodborne Active Surveillance Network (FoodNet): do we need practice guidelines? 99th American Society for Microbiology (Chicago), July 1999.
  19. Cheney C.P., Wong R.K. Acute infectious diarrhea. *Med Clin N Am* 1993; 77:1169-96.
  20. Hines J., Nachamkin I. Effective use of the clinical microbiology laboratory for diagnosing diarrheal diseases. *Clin Infect Dis* 1996; 23:1292-301.
  21. Wong C.S., Jelacic S., Habeeb R.L., Watkins S.L., Tarr P.I. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med* 2000;342:1930-6.
  22. Ikeda K., Ida O., Kimoto K., Takatorige T., Nakanishi N., Tatara K. Effect of early fosfomycin treatment on prevention of hemolytic uremic syndrome accompanying *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Clin Nephrol* 1999; 52:357-62.
  23. Neill M.A., Opal S.M., Heelan J., et al. Failure of ciprofloxacin to eradicate convalescent fecal excretion after acute salmonellosis: experience during and outbreak in health care workers. *Ann Intern Med* 1991;114:195-9.
  24. Cohen M.L., Tauxe R.V. Drug-resistant Salmonella in the United States: an epidemiologic perspective. *Science* 1986; 234:964-9.
  25. Pavia A.T., Shipman L.D., Wells J.G., et al. Epidemiologic evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive Salmonella. *J Infect Dis* 1990; 161:255-60.
  26. Edmond M.B., Ober J.F., Weinbaum D.L., et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia; risk factors for infection. *Clin Infect Dis* 1995;20:1126-33.
  27. Edmond M.B., Ober I.F., Weinbaum D.L., et al. Risk factors for vancomycin-resistant enterococcal bacteremia [abstract 47]. In: Program and abstract of the 34th International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1994.
  28. Fine K.D., Ogunji F., George J., Niehaus M.D., Guerrant R.L. Utility of a rapid fecal latex agglutination test detecting the neutrophil protein, lactoferrin, for diagnosing inflammatory causes of chronic diarrhea. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:1300-5.
  29. Hedberg C.W., MacDonald K.L., Osterholm M.T. Changing epidemiology of food-home disease: a Minnesota perspective. *Clin Infect Dis* 1994; 18:671-80.
  30. Hedberg C.W., Hirschhorn N. Why foodborne disease surveillance is critical to the safety of our food supply. *Am J Public Health* 1996; 86:1076-7.
  31. Glynn M.K., Bopp C., Dewitt W., Dabney P., Mokhtar M., Angulo F.J. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* DT104 infections in the United States. *N Engl J Med* 1998; 338:1333-8.
  32. Talan D.A., Moran G.J., Ong S., et al. Prevalence of *E. coli* O157:H7 and other enteropathogens among patients presenting to US emergency departments with bloody diarrhea [abstract]. In: Abstracts of the International Conference on Emerging Infectious Diseases (Atlanta), 8–11 March 1998.
  33. Morris A.J., Murray P.R., Reller L.B. Contemporary testing for enteric pathogens: the potential for cost, time, and health care savings. *J Clin Microbiol* 1996; 34:1776-8.
  34. Bauer T.M., Lalvani A., Fahrenbach J., et al. Derivation and validation of guidelines for stool cultures for enteropathogenic bacteria other than *Clostridium difficile* in hospitalized adults. *JAMA* 2001; 285:313-19.
  35. Siegel D.L., Edelstein P.H., Nachamkin I. Inappropriate testing for diarrheal diseases in the hospital. *JAMA* 1990; 263:979-82.
  36. Choi S.W., Park C.H., Silva T.M.J., Zaenker E.I., Guerrant R.L. To culture or not to culture: fecal lactoferrin screening for inflammatory bacterial diarrhea. *J Clin Microbiol* 1996; 34:928-32.
  37. Eidlitz-Marcus T., Cohen Y.H., Nussinovitch M., Elian I., Varsano I. Comparative efficacy of two- and five-day courses of ceftriaxone for treatment of severe shigellosis in children. *J Pediatr* 1993; 123:822-4.
  38. Slutsker L., Ries A.A., Greene K.D., Wells J.G., Hutwagner L., Griffin P.M. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical

- and epidemiologic features. *Ann Intern Med* 1997; 126:505-13.
39. Guerrant R.L., Wanke C.A., Barren L.J., Schwartzman J.D. A cost effective and effective approach to the diagnosis and management of acute infectious diarrhea. *Bull NY Acad Med* 1987; 63:484-99.
  40. Mead P.S., Griffin P.M. *Escherichia coli* O157-H7. *Lancet* 1998; 352:1207-12.
  41. Tarr P.I., Neill M.A. Perspective: the problem of non-O157:H7 Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1996;174:1136-9.
  42. Kehl K.S., Havens P., Behnke C.E., Acheson D.W. Evaluation of the premier EHEC assay for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2051-4.
  43. Lee L.A., Taylor J., Carter G.P., Quinn B., Fanner J.J., Tauxe R.V. *Yersinia enterocolitica* O:3: an emerging cause of pediatric gastroenteritis in the United States. The *Yersinia enterocolitica* Collaborative Study Group. *J Infect Dis* 1991; 163:660-3.
  44. Morris A.J., Wilson M.L., Reller L.B. Application of rejection criteria for stool ovum and parasite examinations. *J Clin Microbiol* 1992; 30:3213-6.
  45. Guerrant R.L., Bobak D.A. Bacterial and protozoal gastroenteritis. *N Engl J Med* 1991; 325:327-40.
  46. Subcommittee on Acute Gastroenteritis. Practice parameter: the management of acute gastroenteritis in young children. American Academy of Pediatrics, Provisional Committee on Quality Improvement. *Pediatrics* 1996;97:424-35.
  47. Anonymous. Water with sugar and salt [editorial]. *Lancet* 1978; 2:300-1.
  48. Avery M.E., Snyder J.D. Oral therapy for acute diarrhea: the under-used simple solution. *N Engl J Med* 1990; 323:891-4.
  49. Molla A.M., Molla A., Nath S.K., Khatun M. Food-based oral rehydration salt solutions for acute childhood diarrhoea. *Lancet* 1989; 2:429-31.
  50. Silva A.C., Santos-Neto M.S., Scares A.M., Fonteles M.C., Guerrant R.L., Lima A.A.M. Efficacy of a glutamine-based oral rehydration solution on the electrolyte and water absorption in a rabbit model of secretory diarrhea induced by cholera toxin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26:513-9;533-5.
  51. Thielman N.M., Guerrant R.L. An algorithmic approach to the workup and management of HIV-related diarrhea. *J Clin Outcomes Management* 1997; 4:36-47.
  52. Tacconel E., Tumbarello M., Donati K.D., Leone F., Mazzella P., Cauda R. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in human immunodeficiency virus infection: a changing scenario. *Clin Infect Dis* 1999; 28:936-7.
  53. McNeely W.S., DuPont H.L., Mathewson J.J., Oberhelman R.A., Ericsson C.D. Occult blood versus fecal leukocytes in the diagnosis of bacterial diarrhea: a study of US travelers to Mexico and Mexican children. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55:430-3.
  54. Munoz C., Baqar S., van de Verg L., et al. Characteristics of *Shigella sonnei* infection of volunteers: signs, symptoms, immune responses, changes in selected cytokines and acute-phase substances. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53:47-54.
  55. Speelman P., McGlaughlin R., Kabir I., Butler T. Differential clinical features and stool findings in shigellosis and amoebic dysentery. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1987; 81:549-51.
  56. Iida T., Naka A., Suthienkul O., Sakaue Y., Guerrant R.L., Honda T. Measurement of fecal lactoferrin for rapid diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. *Clin Infect Dis* 1997; 25:167.
  57. Centers for Disease Control and Prevention. Foodborne outbreaks of enterotoxigenic *Escherichia coli*; Rhode Island and New Hampshire, 1993 [published erratum appears in *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994; 43:127]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994; 43:81-9.
  58. Donowitz M., Kokke F.T., Saidi R. Evaluation of patients with chronic diarrhea. *N Engl J Med* 1995; 332:725-9.
  59. Bennish M.L., Salam M.A., Khan W.A., Khan A.M. Treatment of shigellosis: III. Comparison of one- or two-dose ciprofloxacin with standard 5-day therapy. A randomized, blinded trial. *Ann Intern Med* 1992; 117:727-34.
  60. Khan W.A., Seas C., Dhar U., Salam M.A., Bennish M.L. Treatment of shigellosis: V. Comparison of azithromycin and ciprofloxacin. A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1997; 126:697-703.
  61. Mandal B.K., Ellis M.E., Dunbar E.M., Whale K. Double-blind placebo-controlled trial of erythromycin in the treatment of clinical *Campylobacter* infection. *J Antimicrob Chemother* 1984; 13:619-23.
  62. Smith K.E., Besser J.M., Hedberg C.W., et al. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. *N Engl J Med* 1999; 340:1525-32.
  63. Segreti J., Gootz T.D., Goodman L.J., et al. High-level quinolone resistance in clinical isolates of *Campylobacter jejuni*. *J Infect Dis* 1992; 165:667-70.
  64. Williams M.D., Schorling J.B., Barrett L.J., et al. Early treatment of *Campylobacter jejuni* enteritis [published erratum appears in *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33 (7):1129]. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:248-50.
  65. Olsen S.J., Debess E., Marano N., et al. Transmission of multidrug-resistant *Salmonella* associated with fluoroquinolone use in a nursing home [abstract 61]. In: Program and abstracts of the 37th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. Alexandria, Virginia; Infectious Diseases Society of America, 1999:34.
  66. Bell B.P., Griffin P.M., Lozano P., Christie D.L., Kobayashi J.M., Tarr P.I. Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *Pediatrics* 1997; 100:E12.
  67. Zhang X.P., McDaniel A.D., Wolf L.E., Keusch G.T., Waldor M.K., Acheson D.K. Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *J Infect Dis* 2000; 181:664-70.

68. Cimolai N., Morrison B.J., Carter J.E. Risk factors for the central nervous system manifestations of gastroenteritis-associated hemolytic-uremic syndrome. *Pediatrics* 1992; 90:616-21.
69. Conteas C.N., Berlin O.G., Speck C.E., Pandhumas S.S., Lariviere M.I., Fu C. Modification of the clinical course of intestinal microsporidiosis in acquired immunodeficiency syndrome patients by immune status and anti-human immunodeficiency virus therapy. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58:555-8.
70. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. American College of Gastroenterology Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:739-50.
71. Benenson A.S. Salmonellosis. In: American Public Health Association, ed. Control of communicable diseases manual. Washington, DC: American Public Health Association, 1995:410-5.
72. American Academy of Pediatrics. Report of the Committee on Infectious Diseases. Evanston, IL: American Academy of Pediatrics, 1997.
73. Angulo F.J., Swerdlow D.L. Bacterial enteric infections in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1995;21(Suppl):93.
74. Mandal B.K. Treatment of multiresistant typhoid fever. *Lancet* 1990; 336:1383.
75. Mattila L., Peltola H., Siitonen A., Kyronseppa H., Simula I., Kataja M. Short-term treatment of traveler's diarrhea with norfloxacin: a double-blind, placebo-controlled study during two seasons. *Clin Infect Dis* 1993; 17:779-82.
76. Prado D., Lopez E., Liu H., et al. Ceftibuten and trimethoprim-sulfamethoxazole for treatment of shigella and enteroinvasive *Escherichia coli* disease. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:644-7.
77. Proulx F., Turgeon J.P., Delage G., Lafleur L., Chicoine L. Randomized, controlled trial of antibiotic therapy for *Escherichia coli* O157:H7 enteritis. *J Pediatr* 1992; 121:299-303.
78. Kain K.C., Kelly M.T. Clinical features, epidemiology, and treatment of *Plesiomonas shigelloides* diarrhea. *J Clin Microbiol* 1989; 27:998-1001.
79. Nathwani D., Laing R.B., Harvey G., Smith C.C. Treatment of symptomatic enteric *Aeromonas hydrophila* infection with ciprofloxacin. *Scand J Infect Dis* 1991; 23:653-4.
80. Ostroff S.M., Kapperud G., Lassen J., Aasen S., Tauxe R.V. Clinical features of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway. *J Infect Dis* 1992; 166:812-7.
81. Scavizzi M. *Yersinia enterocolitica*. In: Yu V.L., Merlgan T.C., Barrie S.L., eds. Antimicrobial therapy and vaccines. Baltimore: Williams Wilkins; 1999:481-8.
82. Khan W.A., Bennish M.L., Seas C., et al. Randomised controlled comparison of single-dose Ciprofloxacin and doxycycline for cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 or O139. *Lancet* 1996; 348:296-300.
83. Wenisch C., Parschalk B., Hasenhundl M., Hirschl A.M., Graninger W. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea [published erratum appears in *Clin Infect Dis* 1996;23(2):423]. *Clin Infect Dis* 1996; 22:813-8.
84. Lerman S.J., Walker R.A. Treatment of giardiasis: literature review and recommendations. *Clin Pediatr (Phila)* 1982; 21:409-14.
85. Wanke C.A., Gerrior J., Blais V., Mayer H., Acheson D. Successful treatment of diarrheal disease associated with enteroaggregative *Escherichia coli* in adults infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1998;178:1369-72.
86. Foudraire N.A., Weverling G.J., van Gool T., et al. Improvement of chronic diarrhoea in patients with advanced HIV-1 infection during potent antiretroviral therapy. *AIDS* 1998; 12:35-41.
87. Hoge C.W., Shilm D.R., Ghimire M., et al. Placebo-controlled trial of co-trimoxazole for cyclospora infections among travellers and foreign residents in Nepal [published erratum appears in *Lancet* 1995; 345:1060]. *Lancet* 1995; 345:691-3.
88. Molina J.M., Chastang C., Goguel J., et al. Albendazole for treatment and prophylaxis of microsporidiosis due to *Encephalitozoon intestina* in patients with AIDS: a randomized double-blind controlled trial. *Infect Dis* 1998; 177:1373-7.



УДК 579.84.017.7:577.152.3

## Выявление $\beta$ -лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов

### Методические рекомендации\*

Продукция  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) – один из наиболее распространенных и клинически значимых механизмов резистентности энтеробактерий к современным  $\beta$ -лактамным антибиотикам. Однако эффективность выявления устойчивос-

ти, связанной с продукцией БЛРС, с помощью традиционных методов оценки чувствительности остается крайне низкой. В связи с этим ниже представлены рекомендации по использованию специальных фенотипических методов выявления БЛРС, описаны их

преимущества и ограничения. Для врачей-микробиологов, эпидемиологов, лаборантов.

**Ключевые слова:**  $\beta$ -лактамазы, БЛРС, грамотрицательные бактерии, микробиологическая диагностика, антибиотикорезистентность.

## Detection of Extended Spectrum $\beta$ -lactamases by Phenotypic Methods in Gram-negative Bacteria

Production of *extended-spectrum  $\beta$ -lactamases* (ESBL) is the one of most widespread and clinically significant mechanism of resistance to modern  $\beta$ -lactams in members of the family *Enterobacteriaceae*. But the effectiveness of routine methods

of antimicrobial susceptibility testing for detection of ESBL production remains extremely low. In connection with this the recommendations for use of special phenotypic methods with their advantages and limitations for detection of ESBL are described.

This guidelines are designed for microbiologists, epidemiologists, and laboratory assistants.

**Key words:**  $\beta$ -lactamases, ESBL, Gram-negative bacteria, microbiological diagnostics, antimicrobial resistance.

### 1. Введение

#### Что такое $\beta$ -лактамазы расширенного спектра?

Термин « $\beta$ -лактамазы расширенного спектра» (от англ. *extended-spectrum  $\beta$ -lactamases* – ESBL) объединяет большое число бактериальных ферментов, которые отличаются способностью

расщеплять оксиимино- $\beta$ -лактамы (цефалоспорины III–IV поколений и азтреонам) наряду с пенициллинами и ранними цефалоспоридами и проявляют чувствительность к ингибиторам (клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму).

Большинство БЛРС являются производными широко рас-

пространенных плазмидно кодируемых пенициллиназ TEM-1, TEM-2 и SHV-1 и отличаются от них единичными аминокислотными заменами, расширяющими спектр ферментативной активности. Согласно классификации К. Bush, G. Jacoby и A. Medeiros, ферменты этого типа относятся к функциональной группе 2be.

\*Подготовлены **М.В. Эйдельштейном** (НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии). Рекомендованы Межрегиональной ассоциацией по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), Научно-исследовательским институтом антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Научно-методическим центром Министерства здравоохранения РФ по мониторингу антибиотикорезистентности.

Характерную для БЛРС активность могут проявлять и некоторые другие плазмидные  $\beta$ -лактамазы, например ферменты СТХ-М- и ОХА-типа (последние в меньшей степени подавляются клавулановой кислотой), а также видоспецифические хромосомные  $\beta$ -лактамазы *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris* и *Citrobacter diversus*. Вопрос о возможности включения видоспецифических  $\beta$ -лактамаз в группу БЛРС пока остается спорным.

### Распространенность БЛРС

БЛРС, впервые обнаруженные в Англии, Германии и Франции в середине 80-х годов, в настоящее время широко распространены в большинстве стран мира. Наиболее частыми продуцентами БЛРС являются нозокомиальные штаммы *Klebsiella* spp., в меньшей степени – *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis*. Реже продукция БЛРС отмечается у других представителей семейства *Enterobacteriaceae*, а также у некоторых неферментирующих грамотрицательных палочек, включая *Pseudomonas aeruginosa*.

Встречаемость БЛРС у нозокомиальных штаммов *Klebsiella pneumoniae* составляет в различных странах от 7 до 75%. В отдельных стационарах лечебно-профилактических учреждений России частота выявления этих ферментов у клебсиелл достигает 90%.

### Почему необходимо выявлять продукцию БЛРС?

Данные многочисленных исследований показывают, что продукция БЛРС приводит к формированию устойчивости ко всем пенициллинам, цефалоспорином и монобактамам и часто является причиной их клинической неэффективности. Вместе с тем стандартные методы определения чувствительности не все-

гда позволяют выявить истинную резистентность БЛРС-продуцирующих штаммов, поскольку такие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к современным цефалоспорином ниже установленных пограничных значений (чувствительность – умеренная резистентность).

Своевременная и регулярная диагностика БЛРС способствует таким образом проведению рациональной и эффективной антибиотикотерапии.

### Какие штаммы нужно тестировать на наличие БЛРС?

В настоящее время не существует общепринятых рекомендаций относительно выбора штаммов, которые необходимо тестировать на наличие БЛРС. Однако, учитывая распространенность ферментов этой группы, представляется целесообразным использовать специальные методы их диагностики у следующих микроорганизмов:

- всех нозокомиальных штаммов *Klebsiella* spp. и *E. coli*;
- любых штаммов энтеробактерий, которые по данным предварительного тестирования проявляют пониженную чувствительность (МПК  $\geq$  мг/л) к одному из цефалоспоринов III поколения.

### 2. Методы выявления БЛРС

Различные фенотипические методы, применяемые в настоящее время для обнаружения продукции БЛРС, основаны на эффекте подавления их активности в отношении оксиимино- $\beta$ -лактамов в присутствии клавулановой кислоты. Выбор конкретного метода определяется целями и возможностями лаборатории.

### 2.1. Метод «двойных дисков»

#### Принцип

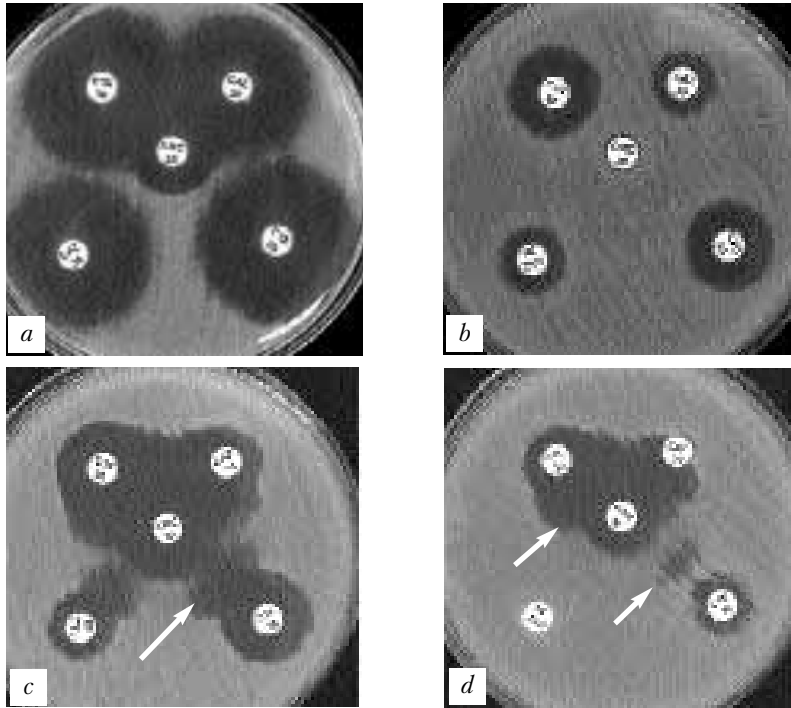
Метод «двойных дисков» представляет собой вариант классического дискодиффузионного метода определения чувствительности, который позволяет обнаружить продукцию БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином III поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (синергизм отмечается в участке пересечения зон диффузии двух дисков, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга).

#### Материалы

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильные пробирки, пипетки, чашки Петри.
3. Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду (эквивалент  $\approx 1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл).
4. Агар Мюллера–Хинтона.
5. Диски с антибиотиками: азтреонам (30 мкг), цефотаксим (30 мкг), цефтазидим (30 мкг), цефтриаксон (30 мкг), цефепим (30 мкг), цефпиром (30 мкг), амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг).
6. Термостат.
7. Контрольные штаммы:
  - *E. coli* ATCC® 25922 – отрицательный контроль (БЛРС–);
  - *K. pneumoniae* ATCC® 700603 – положительный контроль (БЛРС+).
8. Суточные культуры исследуемых микроорганизмов.

#### Постановка теста

Для приготовления инокулюма используют чистую суточную культуру исследуемого микроорганизма, выращенную на агаризованной среде. Несколько колоний стерильным тампоном или петлей переносят в пробирку с



**Рис. 1.** Выявление продукции БЛРС с помощью метода «двойных дисков». Отрицательные результаты (БЛРС-): *a* – *E. coli* (TEM-1), *b* – *E. cloacae* (гиперпродукция AmpC). Положительные результаты (БЛРС+): *c* – *K. pneumoniae* (SHV-2); *d* – *K. pneumoniae* (SHV-5). Обозначения дисков: AMC – амоксициллин/клавулановая кислота (20/10 мкг), CAZ – цефтазидим (30 мкг), CTX – цефотаксим (30 мкг), CPO – цефпиром (30 мкг)

3 мл стерильного физиологического раствора. Взвесь бактериальных клеток доводят до мутности 0,5 по МакФарланду и наносят стерильным ватным тампоном на поверхность агар Мюллера–Хинтона в трех различных направлениях.

Через 5–10 мин после инокулирования на подсыхшую поверхность агар накладывают диски с антибиотиками: в центр – диск, содержащий клавулановую кислоту, обычно в виде комбинации амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг), по бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков – диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефотаксимом (30 мкг).

Использование двух дисков каждого антибиотика, расположенных на разном расстоянии от диска с клавулановой кислотой, позволяет повысить эффектив-

ность обнаружения БЛРС (рис. 1).

Чашки инкубируют в термостате при температуре 35°C в течение 18–20 ч.

Параллельно с анализом испытуемых культур исследуют контрольные штаммы.

#### **Учет и интерпретация результатов**

Расширение зоны подавления роста между одним или несколькими дисками с оксимино- $\beta$ -лактамами и диском, содержащим клавулановую кислоту, указывает на наличие БЛРС (рис. 1, *c* и *d*).

Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, цефалоспорином (за исключением цефамицинов) и монобактамам.

#### **Примечание**

1. Использование дисков с разными оксимино- $\beta$ -лактамами позволяет повысить чувствительность обнаружения БЛРС, поскольку ферменты этой группы могут проявлять различную субстратную специфичность. Помимо рекомендуемых дисков с цефтазидимом и цефотаксимом в исследование могут быть включены диски с цефподоксимом, цефтриаксоном, цефепимом, цефпиромом, азтреонамом.

2. Для выявления БЛРС у штаммов *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri* предпочтительно использовать диски с цефалоспоридами IV поколения (цефепимом и/или цефпиромом), которые в меньшей степени расщепляются хромосомными цефалоспоридазами этих видов бактерий.

3. У штаммов *K. oxytoca* положительный результат тестирования с дисками, содержащими цефотаксим, цефтриаксон и азтреонам, может быть вызван гиперпродукцией хромосомных  $\beta$ -лактамаз (K1, OXY). Для дифференциации плазмидных БЛРС у *K. oxytoca* рекомендуется использовать диски с цефтазидимом.

4. При использовании дисков с цефотаксимом и цефтриаксоном для тестирования *Proteus vulgaris*, *P. penneri* и *Citrobacter diversus* возможен ложноположительный результат вследствие гиперпродукции хромосомных  $\beta$ -лактамаз. Для выявления плазмидных БЛРС у этих видов рекомендуется использовать диски с цефтазидимом и азтреонамом.

5. При наличии предварительных данных о чувствительности исследуемых штаммов расстояние между дисками может быть изменено для облегчения обнаружения БЛРС. Например, при тестировании высокорезистентных штаммов *E. cloacae* расстоя-

ние между дисками с цефалоспоридами и клавулановой кислотой может быть сокращено до 15 мм, а при анализе «чувствительных» штаммов *P. mirabilis* увеличено до 35 мм.

6. Благодаря возможности использования разных субстратов метод «двойных дисков» является наиболее чувствительным. Однако его недостатком является субъективность интерпретации результатов.

## 2.2. Метод Е-тестов

### Принцип

Е-тесты, выпускаемые компанией АВ BIODISK (Швеция), представляют собой пластиковые полоски, на внутренней (обращенной к агару) стороне которых нанесен антибиотик в заданном градиенте концентрации, а на внешней стороне – шкала соответствующих значений МПК.

Е-тесты, используемые для выявления БЛРС, содержат на противоположных концах полоски два убывающих по направлению к центру градиента концентрации: цефтазидима (диапазон МПК – 0,5–32 мг/л) и комбинации цефтазидима (диапазон МПК – 0,125–8 мг/л) с клавулановой кислотой, нанесенной в фиксированной концентрации (4 мг/л) вдоль градиента (рис. 2).

Определение продукции БЛРС с помощью Е-тестов основано на количественном сравнении МПК цефтазидима и цефтазидима/клавулановой кислоты.

### Материалы

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильные пробирки, пипетки, чашки Петри.
3. Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду.
4. Агар Мюллера–Хинтона.
5. Комбинированные полоски Е-тестов – TZ/TZL (кат.

№ 5100–2820, 5100–2828).

6. Термостат.

7. Контрольные штаммы:

– *E. coli* ATCC® 25922 – отрицательный контроль (БЛРС–);  
– *K. pneumoniae* ATCC® 700603 – положительный контроль (БЛРС+).

8. Суточные культуры исследуемых микроорганизмов.

### Постановка теста

Приготовление суспензии бактериальных клеток и инокулирование чашек с агаром проводят в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.1. На поверхность агара накладывают полоски Е-тестов. Чашки инкубируют в термостате при температуре 35°C в течение 18–20 ч. Значения МПК считывают по шкале цифровых значений в участке ее пересечения контуром зоны подавления роста.

### Интерпретация результатов

Соотношение МПК цефтазидима (TZ) и цефтазидима/клавулановой кислоты (TZL) большее либо равное 8 ( $\text{МПК}_{\text{TZ}}/\text{МПК}_{\text{TZL}} \geq 8$ ) указывает на наличие БЛРС.

### Примечание

Отдельные  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра, проявляющие невысокую активность в отношении цефтазидима, не могут быть обнаружены с помощью данного метода. Соотношение  $\text{МПК}_{\text{TZ}}/\text{МПК}_{\text{TZL}}$  для штаммов, продуцирующих такие ферменты, может быть меньше 8.

## 2.3. Тест OXOID

### Принцип

Метод основан на количественном сравнении диаметров зон подавления роста вокруг дисков, содержащих цефподоксим и комбинацию цефподоксима с клавулановой кислотой.

### Материалы

1. Стерильный физиологический раствор.
2. Стерильные пробирки, пипетки, чашки Петри.
3. Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду.
4. Агар Мюллера–Хинтона.
5. Диски с цефподоксимом (CPD – 10 мкг) и цефподоксимом/клавулановой кислотой (CD01 – 10/1 мкг).
6. Термостат.
7. Контрольные штаммы:

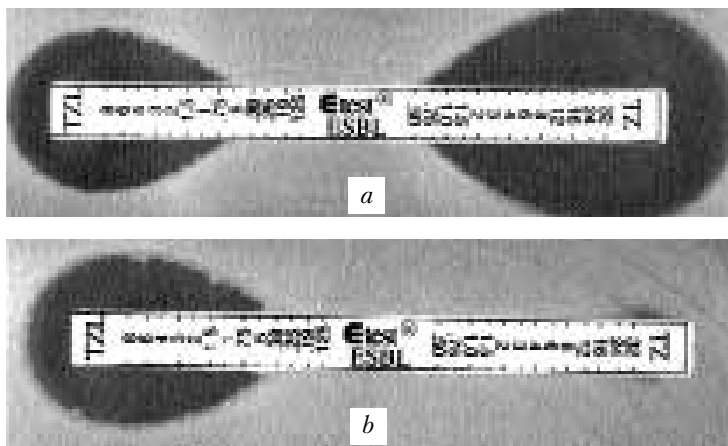


Рис. 2. Выявление продукции БЛРС с помощью Е-тестов: *a* – *E. coli* (TEM-1), отрицательный результат –  $\text{МПК}_{\text{TZ}} = \text{МПК}_{\text{TZL}} = 1$ ,  $\text{МПК}_{\text{TZ}}/\text{МПК}_{\text{TZL}} = 1$ ; *b* – *E. coli* (TEM-3), положительный результат –  $\text{МПК}_{\text{TZ}} = 32$ ,  $\text{МПК}_{\text{TZL}} = 0,5$ ,  $\text{МПК}_{\text{TZ}}/\text{МПК}_{\text{TZL}} = 64$

– *E. coli* ATCC® 25922 – отрицательный контроль (БЛРС–),  
– *K. pneumoniae* ATCC® 700603 – положительный контроль (БЛРС+).

8. Суточные культуры исследуемых микроорганизмов.

### **Постановка теста**

Приготовление суспензии бактериальных клеток и инокулирование чашек с агаром проводятся в соответствии с методикой, описанной в разделе 2.1. На поверхность агара накладывают диски с цефподоксимом и цефподоксимом/клавулановой кислотой. Чашки инкубируют в термостате при температуре 35°C в течение 18–20 ч.

### **Интерпретация результатов**

Различие в диаметрах зон подавления роста для дисков с цефподоксимом/клавулановой кислотой и цефподоксимом на 6 мм и более (CD01 – CPD  $\geq$  6 мм) свидетельствует о наличии БЛРС.

### **Примечание**

Данный метод является высокочувствительным и экономичным, однако допускает возможность получения ложноположительных результатов.

## **2.2. Метод, рекомендуемый Национальным комитетом по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS)**

### **Принцип**

Процедура выявления БЛРС у штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae* и *K. oxytoca*, рекомендуемая NCCLS, включает два последовательных этапа:

1) скрининг БЛРС на основании определения чувствительности с помощью дискодиффузионного метода или роста в бульоне, содержащем оксимино- $\beta$ -лактам;

мы;

2) подтверждающий тест с использованием комбинаций оксимино- $\beta$ -лактамов с клавулановой кислотой.

### **Материалы**

1. Стерильный физиологический раствор.

2. Стерильные пробирки, пипетки, чашки Петри.

3. Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду.

4. Термостат.

5. Контрольные штаммы:

– *E. coli* ATCC® 25922 – отрицательный контроль (БЛРС–);

– *K. pneumoniae* ATCC® 700603 – положительный контроль (БЛРС+).

6. Суточные культуры исследуемых микроорганизмов.

7. Для дискодиффузионного метода:

– агар Мюллера–Хинтона;

– диски с антибиотиками – азтреонам (30 мкг), цефотаксим (30 мкг), цефподоксим (10 мкг), цефтазидим (30 мкг), цефтриаксон (30 мкг), цефтазидим/клавуланат (30/10 мкг), цефотаксим/клавуланат (30/10 мкг).

8. Для метода разведений в бульоне:

– бульон Мюллера–Хинтона со стандартизированным содержанием катионов;

– субстанции антибиотиков с известной активностью – азтреонам, цефотаксим, цефподоксим, цефтазидим, цефтриаксон, клавулановая кислота.

### **Постановка теста**

Поскольку БЛРС-продуцирующие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к цефалоспорином III поколения и монобактамам ниже установленных пограничных значений (чувствительность – умеренная резистентность), в 1999 г. NCCLS были предложены менее строгие критерии вы-

явления штаммов, предположительно экспрессирующих БЛРС (табл. 1).

*1-й этап. Скрининг возможных продуцентов БЛРС.* Поскольку БЛРС-продуцирующие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к цефалоспорином III поколения и монобактамам ниже установленных пограничных значений (чувствительность – умеренная резистентность), в 1999 г. NCCLS были предложены менее строгие критерии выявления штаммов, предположительно экспрессирующих БЛРС (табл. 1).

Тест проводится в стандартных условиях, рекомендуемых NCCLS для определения чувствительности аэробных грамотрицательных бактерий:

– инокулом – суспензия бактериальных клеток в физиологическом растворе, эквивалентная стандарту мутности 0,5 по МакФарланду;

– инокулирование на агаре Мюллера–Хинтона (для скрининга с использованием дисков) или в бульоне Мюллера–Хинтона, содержащем антибиотики, перечисленные в табл. 1, в концентрации 1 мг/л, в течение 18–20 ч при температуре 35°C.

### **Интерпретация результатов**

Штаммы, устойчивые хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения или азтреонаму в концентрации 1 мг/л рассматриваются как потенциальные продуценты БЛРС. Окончательная интерпретация чувствительности таких штаммов осуществляется на основании результатов теста, подтверждающих наличие БЛРС (2-й этап).

*2-й этап. Подтверждающий тест.* При использовании дискодиффузионного метода дополнительно определяются диаметры зон подавления роста вокруг дис-

Таблица 1. Сравнение стандартных пограничных значений и критериев выявления продукции БЛРС на основании оценки МПК и диаметров зон подавления роста\*

Антибиотик, доза	Дискодиффузионный метод		Рост в бульоне с антибиотиком	
	Диаметр зоны подавления роста для чувствительных штаммов, мм**	Диаметр зоны подавления роста для возможных продуцентов БЛРС, мм	МПК для чувствительных штаммов, мг/л**	МПК для возможных продуцентов БЛРС, мг/л
Азтреонам, 30 мкг	≥22	≤27	≤8	≥2
Цефотаксим, 30 мкг	≥23	≤27	≤8	≥2
Цефподоксим, 10 мкг	≥21	≤22	≤8	≥2
Цефтазидим, 30 мкг	≥18	≤22	≤8	≥2
Цефтриаксон, 30 мкг	≥21	≤25	≤8	≥2

\*Адаптировано из рекомендаций NCCLS (документы M100-S8, M100-S9).

\*\*Стандартные пограничные значения.

ков, содержащих цефтазидим/клавулановую кислоту (30/10 мкг) и цефотаксим/клавулановую кислоту (30/10 мкг). Для любой из двух перечисленных комбинаций увеличение зоны подавления роста не менее чем на 5 мм по сравнению с таковой при использовании дисков без ингибитора свидетельствует о наличии БЛРС.

При использовании метода разведений в бульоне для штаммов, устойчивых к оксимино-β-лактамам в концентрации 1 мг/л, определяются точные значения МПК цефтазидима, цефотаксима, а также их комбинаций с клавулановой кислотой в фиксированной концентрации

(4 мг/л). Снижение МПК цефтазидима или цефотаксима не менее чем в 8 раз (на 3 последовательных двукратных разведения) в присутствии ингибитора свидетельствует о наличии БЛРС.

#### Интерпретация результатов

Штаммы с подтвержденным наличием БЛРС рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, цефалоспорином (за исключением цефамицинов) и монобактамам независимо от абсолютных значений МПК и диаметров зон подавления роста вокруг дисков с цефалоспорином III поколения.

#### Контроль качества

Анализ испытуемых культур проводят при обязательном параллельном тестировании контрольных штаммов (табл. 2).

#### Примечание

1. Процедура, рекомендуемая NCCLS, может быть использована для обнаружения БЛРС только у штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae* и *K. oxytoca*. Критерии оценки МПК и диаметров зон подавления роста, используемые для выявления БЛРС у этих видов, не являются оптимальными для других представителей семейства *Enterobacteriaceae*.

2. Эффективность обнаружения БЛРС у штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae* с помощью данно-

Таблица 2. Допустимые значения МПК и зон подавления роста для контрольных штаммов *E. coli* ATCC® 25922 и *K. pneumoniae* ATCC® 700603

Этап, антибиотик и его доза	<i>E. coli</i> ATCC® 25922 (БЛРС-)	<i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 (БЛРС+)	<i>E. coli</i> ATCC® 25922 (БЛРС-)	<i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603 (БЛРС+)
<i>1-й этап: скрининговый тест</i>	Диаметр зоны подавления роста, мм		Рост в присутствии 1 мг/л антибиотика	
Цефтазидим, 30 мкг	25–32	10–18	–	+
Цефотаксим, 30 мкг	29–35	17–25	–	+
Цефтриаксон, 30 мкг	29–35	16–24	–	+
Цефподоксим, 10 мкг	23–28	9–16	–	+
Азтреонам, 30 мкг	28–36	9–17	–	+
<i>2-й этап: подтверждающий тест</i>	Увеличение зоны подавления роста: разница ЦС/клав и ЦС, мм*		Снижение МПК: частное ЦС и ЦС/клав*	
Цефотаксим, цефотаксим/клавуланат	≤3	≥5	–	≥8
Цефтазидим, цефтазидим/клавуланат	≤3	≥5	–	≥8

\*ЦС – цефалоспорин (цефотаксим или цефтазидим), клав – клавулановая кислота.

го метода составляет  $\approx 80\%$ .

3. Для наиболее эффектив-

ного выявления БЛРС на этапе скрининга необходимо использование всех оксимино-

$\beta$ -лактамов, перечисленных в табл. 1.

#### Л и т е р а т у р а

- |  |   |  |
|--|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Appleton A. Evaluation of a Novel Diagnostic Disc Method for Detection of Extended Spectrum <math>\beta</math>-lactamases. Proceedings of 3rd ECC. Madrid; 2000. Abstract T304.</li> <li>2. Bush K. Is It Important to Identify Extended-Spectrum <math>\beta</math>-lactamase-Producing Isolates? Eur J Clin Microbiol Inf Dis 1996;15:361-4.</li> <li>3. Cormican M.G., Marshall S.A., Jones R.N. Detection of Extended-Spectrum <math>\beta</math>-lactamase (ESBL)-producing strains by the E-test ESBL Screen. J Clin Microbiol 1996;34:1880-4.</li> <li>4. Coudron P.E., Moland E.S., Sanders C.C. Occurrence and Detection of Extended-Spectrum <math>\beta</math>-lactamases in Members of the Family</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li><i>Enterobacteriaceae</i> at a Veterans Medical Center: Seek and You May Find. J Clin Microbiol 1997;35:2593-7.</li> <li>5. Jacoby G.A., Han P. Detection of Extended-Spectrum <math>\beta</math>-lactamases in Clinical Isolates of <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i>. J Clin Microbiol 1996;34:908-11.</li> <li>6. Jarlier V., Nicolas M.-H., Fournier G., Philippon A. Extended broad-spectrum <math>\beta</math>-lactamases conferring transferable to newer <math>\beta</math>-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988;10:867-78.</li> <li>7. Katsanis G.P., Spargo J., Ferraro J., Sutton L., Jacoby G.A. Detection of</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li><i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Escherichia coli</i> Strains Producing Extended-Spectrum <math>\beta</math>-lactamases. J Clin Microbiol 1994;32:691-6.</li> <li>8. Livermore D.M. <math>\beta</math>-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8:557-84.</li> <li>9. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighth Informational Supplement. NCCLS document M100-S9. NCCLS, Wayne, PA 1999.</li> <li>10. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighth Informational Supplement. NCCLS document M100-S8. NCCLS, Wayne, PA 1998.</li> </ol> |
|--|---|--|

УДК 618.15-008.87-078

## Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища

А.С. Анкирская, В.В. Муравьева

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Россия

Представлены критерии оценки состояния вагинального микроценоза, применяемые в Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН. Диагностика включает следующие этапы: 1) исключение инфекций, передающихся преимущественно половым путем, 2) микроскопия окрашенного по Граму вагинального мазка (оценивается состояние вагинального эпителия, лейкоцитарная реакция, морфология микрофлоры), 3) культуральное исследование.

Указаны критерии нормоценоза, бактериального вагиноза, вагинального кандидоза, неспецифического вагинита, цитолитического вагиноза, промежуточного варианта микроценоза, вагинальной атрофии.

**Ключевые слова:** гинекология, вагиноз, вагинит, вагинальный кандидоз, микробиологическая диагностика

### Microbiological Diagnosis of Opportunistic Vaginal Infections

A.S. Ankirskaya, V.V. Muravyeva

Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Criteria for the evaluation of vaginal biocenosis developed in the Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Russian Academy of Medical Sciences (Moscow, Russia) are presented. According to these criteria the microbiological diagnostic of opportunistic vaginal infections includes: 1) exclusion of the STDs, 2)

Gram stain of vaginal smear (vaginal epithelium, leucocytes and microorganisms are evaluated), 3) culture of vaginal discharge. Criteria for normal biocenosis, bacterial vaginosis, vaginal candidosis, non-specific vaginitis, vaginal atrophy are given.

**Key words:** gynecology, vaginosis, vaginitis, vaginal candidosis, microbiological diagnostic.

Публикации последних лет свидетельствуют об устойчивой тенденции к росту числа больных с инфекциями влагалища [1, 2]. Ее причины тесно связаны с общими факторами, влияющими на структуру патологии человека. Урбанизация, экологиче-

ские проблемы, психологические стрессы, применение антибиотиков – эти мощные селективные факторы активно вмешиваются в процессы, определяющие структуру и уровень заболеваемости.

С другой стороны, научно-технический прогресс в области медицины привел к значительному усовершенствованию лабораторных диагностических технологий, в частности к разработке молекулярно-биологических методов, что, в свою очередь, послужило поводом для пересмотра критериев диагностики многих заболеваний человека, подняв ее на качественно более высокий уровень.

---

Контактный адрес:  
Алла Семеновна Анкирская  
117815, Москва, ул. Опарина, 4  
Научный центр акушерства, гинекологии  
и перинатологии РАМН  
Тел./факс (095) 438-25-10



В клинической микробиологии технологическая революция привела к созданию автоматизированных систем идентификации микроорганизмов, индикации их минимальных количеств в патологическом материале с помощью иммуноферментных и молекулярных методов диагностики. Не менее значительный прогресс достигнут в технике культивирования микроорганизмов, что позволило сформироваться новому микрoэкологическому направлению исследований. Это привело к расширению, а иногда и к пересмотру наших представлений об участии *условно-патогенных микроорганизмов* (УПМ) в патологии человека вообще и при вагинальных инфекциях в частности [3, 4].

С микрoэкологических позиций стала очевидной несостоятельность сложившихся представлений о вагинальных инфекциях как о моноинфекциях. Классический постулат «*один микроб – одно заболевание*» в современных условиях часто не находит подтверждения в клинической практике. Стало ясно, что новые диагностические тесты индикации микроорганизмов (иммуноферментный анализ, ДНК- и ПЦР-диагностика) часто не обеспечивают адекватной этиологической диагностики.

Все больше накапливается данных о значении в развитии вагинальных инфекций полимикробных ассоциаций с различной степенью этиологической значимости ассоциатов, например, бактериальный вагиноз. В настоящее время уже недопустимо основывать диагностику вагинальных инфекций только по результатам выявления одного какого-либо микроорганизма, который потенциально может быть возбудителем воспалительного процесса.

Смешанные инфекции или инфекции, развившиеся на фоне выраженного дисбаланса состава микроценоза влагалища, наблюдаются в 20–30% случаев клинически выраженных инфекций влагалища. Около 50% нарушений состава микроценоза влагалища протекают без клинических проявлений, хотя влияние бессимптомных форм заболевания на репродуктивное здоровье женщин едва ли не более значимое, чем при наличии жалоб, так как они остаются невыявленными и, следовательно, без лечения.

Поэтому диагностика оппортунистических вагинальных инфекций, то есть инфекций, вызванных УПМ, принципиально отличается от диагностики инфекций, вызванных облигатными патогенами (*инфекции, передающиеся половым путем* – ИППП). Выделение УПМ из патологического материала или их индикация еще не является доказательством их этиологической роли, так как те же самые микроорганизмы колонизируют влагалище в норме. Только учет количественных соотношений

отдельных видов микроорганизмов в составе микроценоза может характеризовать состояние вагинального микроценоза и степень его нарушения.

Клиническая практика также показала, что успех терапии и особенно отдаленные результаты лечения вагинальных инфекций зависят не только от элиминации бактерий, вызвавших заболевание, но и от полноты восстановления состояния нормоценоза.

На основании комплексного микрoбиологического обследования более 1000 женщин нами разработаны критерии оценки состояния вагинального микроценоза, которые могут быть использованы в повседневной работе клинических микрoбиологов.

Согласно этим критериям этиологическая диагностика инфекционной патологии влагалища наряду с выявлением облигатных патогенов (возбудителей ИППП) должна включать интегральную характеристику состава вагинального микроценоза. Диагностика включает следующие три этапа:

- 1) исключение ИППП;
- 2) микроскопию вагинального мазка, окрашенного по Граму;
- 3) посев вагинального отделяемого на факультативно-анаэробную группу микроорганизмов и микроаэрофилы.

При микроскопии вагинального мазка, окрашенного по Граму, оценивают:

- 1) *состояние вагинального эпителия* – преобладают клетки поверхностных, промежуточного или парабазального слоев, наличие «ключевых» клеток;
- 2) *лейкоцитарную реакцию* – ее наличие, степень выраженности, проявление фагоцитоза, его завершенность;
- 3) *состав микрофлоры* – количественная и качественная оценка по морфотипам и тинкториальным свойствам.

При количественной характеристике микрофлоры использовали критерии R.P. Nugent et al. [5], несколько нами модифицированные. Оценка общей микробной обсемененности вагинального отделяемого проводится по 4-балльной системе – по числу микробных клеток, обнаруживаемых в одном поле зрения при микроскопии с иммерсией:

- + – до 10 микробных клеток в поле зрения, незначительное их количество («скудный» рост);
- ++ (2+) – от 11 до 100 микробных клеток в поле зрения, умеренное их количество;
- +++ (3+) – от 100 до 1000 микробных клеток в поле зрения, большое их количество;
- ++++ (4+) – более 1000 микробных клеток в поле зрения, массивное их количество.

Качественная оценка микрофлоры включает дифференциацию всех морфотипов по их тинкто-

риальным и морфологическим признакам. Различают морфотипы лактобацилл, фузобактерий, бактероидов, мобилункусов, лептотрихий, гарднереллы, вейллонеллы, а также грамположительных кокков, колиформных палочек, дрожжеподобных грибов. В мазке могут быть обнаружены трихомонады и другие паразиты.

Учитывая, что при микроскопии мазков можно выявить микроорганизмы, присутствующие в биоматериале в количестве, обычно превышающем  $10^5$  КОЕ/мл, диагностику бактериального вагиноза обоснованно можно базировать на данных микроскопии, так как при этой патологии морфотипы грамотрицательных анаэробных бактерий (бактероиды, мобилункус) и гарднерелла выявляются в мазках в массивном количестве (4+), как ни при какой другой патологии.

Что касается факультативно-анаэробных бактерий, то диагностическая ценность микроскопического исследования вагинального отделяемого резко снижается.

Это связано, в первую очередь, с тем, что патогенные потенции этих бактерий могут проявляться при сравнительно небольшом их количестве (на уровне  $10^4$ – $10^5$  КОЕ/мл), которое не выявляется при микроскопии.

Во вторых, даже если морфотипы факультативно-анаэробных бактерий обнаруживаются в нативных мазках вагинального отделяемого (чаще это единичные микробные клетки в поле зрения), эти морфотипы однотипны у многих видов и родов (колиформные палочки или грамположительные кокки), тогда как их патогенные свойства и чувствительность к антибиотикам могут отличаться заметным разнообразием (в отличие от строгих анаэробов).

Игнорирование этих особенностей может стать причиной неэффективности лечения. Поэтому для характеристики факультативно-анаэробной части микроценоза, а также микроаэрофилов, в первую очередь лактобацилл, которые по морфологии бывают сходными со многими видами грамположительных облигатно-анаэробных бактерий, такими, как клостридии, эубактерии, пропионибактерии и другими, необходим посев вагинального отделяемого. Для этой цели используют 5% кровяной агар (наиболее универсальная питательная среда), среду Сабуро (для выделения грибов), среду МРС (для культивирования лактобацилл), среду для выделения генитальных микоплазм.

Результаты культурального исследования дают возможность оценить видовой состав и количество факультативных анаэробов, в том числе грибов, а также лактобацилл, и тем самым подтвердить при-

надлежность к роду лактобацилл лактоморфотипов, обнаруженных при микроскопии мазков вагинального отделяемого, окрашенного по Граму.

Выделение из патологического материала и идентификация различных видов семейства *Enterobacteriaceae*, стафилококков, стрептококков различных серогрупп, неферментирующих бактерий, коринебактерий, нейссерий, грибов и других микроорганизмов после количественной оценки их роста позволит определить степень их этиологической значимости у конкретной пациентки.

Кроме того, в случаях, когда диагноз бактериального вагиноза установлен при микроскопии вагинального мазка, результаты посева могут определить повышенные титры УПМ (грибы, энтерококки, колиформные бактерии и др.), которые могут стать причиной осложнений после этиотропной терапии.

Особенно следует иметь в виду микроорганизмы, которые даже в низких титрах являются фактором повышенного риска для внутриутробного плода (листерии, стрептококки групп А и В).

Кроме диагностики бактериального вагиноза, микроскопический метод имеет преимущества перед культуральным исследованием также при диагностике таких относительно редко встречающихся в репродуктивном возрасте состояний вагинальной микроэкологии, как цитолитический вагиноз, промежуточная форма микроценоза и вагинальная атрофия.

### **Микробиологические критерии оценки состояния микроценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста**

#### **Нормоценоз**

##### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, реже встречаются клетки промежуточного слоя; «ключевые» клетки отсутствуют, иногда встречаются «ложноключевые» клетки;

2) лейкоцитарная реакция отсутствует или слабо выражена – единичные лейкоциты в поле зрения;

3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;

4) доминирующий морфотип – лактобациллы, другие морфотипы либо отсутствуют, либо их количество исчисляется единичными микробными клетками в редких полях зрения.

##### *Б. Культуральный метод:*

1) общая микробная обсемененность –  $10^6$ – $10^8$  КОЕ/мл;

- 2) абсолютно преобладают лактобациллы;
- 3) УПМ в низком титре ( $10^4$  КОЕ/мл) или отсутствуют.

### Бактериальный вагиноз

#### А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:

- 1) вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, редко встречаются промежуточные клетки, часто – «ключевые» клетки;
- 2) лейкоцитарная реакция, как правило, отсутствует;
- 3) общее количество микроорганизмов «массивное», реже – «большое»;
- 4) преобладают морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, лактоморфотипы отсутствуют или определяются как единичные не во всех полях зрения.

#### Б. Культуральный метод:

- 1) общая микробная обсемененность превышает  $10^9$  КОЕ/мл; при использовании только аэробных условий культивирования рост микроорганизмов отсутствует или наблюдается рост сопутствующих УПМ, чаще в небольшом титре;
- 2) полимикробный характер микрофлоры с абсолютным преобладанием облигатно-анаэробных видов и гарднереллы;
- 3) отсутствие роста лактобацилл или титр их резко снижен ( $<10^4$  КОЕ/мл).

### Вагинальный кандидоз

В зависимости от концентрации грибов в отделяемом влагалища и сопутствующей микрофлоры вагинального биотопа мы выделяем 3 формы инфекции влагалища грибами рода *Candida*.

#### 1. Кандидозный вагинит

##### А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:

- 1) вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, но может быть много промежуточных и даже парабазальных клеток (пропорционально тяжести течения клинического воспалительного процесса);
- 2) лейкоцитарная реакция от умеренной (10–15 лейкоцитов в поле зрения) до резко выраженной (30–50 и более лейкоцитов в поле зрения);
- 3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;
- 4) доминирует морфотип лактобацилл, присутствуют дрожжевые клетки, фрагменты псевдомицелия с бластоспорами.

##### Б. Культуральный метод:

- 1) общее количество микроорганизмов не превышает  $10^8$  КОЕ/мл;

- 2) дрожжеподобные грибы присутствуют в титре более  $10^4$  КОЕ/мл;
- 3) лактобациллы выделяются в титре более  $10^6$  КОЕ/мл.

### 2. Сочетание бактериального вагиноза и кандидозного вагинита

#### А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:

- 1) вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, могут встречаться промежуточные и парабазальные клетки; присутствуют «ключевые» эпителиальные клетки;
- 2) умеренная или выраженная лейкоцитарная реакция;
- 3) общее количество микроорганизмов «массивное», реже – «большое»;
- 4) доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, присутствуют дрожжевые клетки и/или фрагменты псевдомицелия гриба;
- 5) лактобациллы отсутствуют или выявляются единичные лактоморфотипы в поле зрения.

#### Б. Культуральный метод:

- 1) общее количество микроорганизмов «массивное», превышает  $10^9$  КОЕ/мл, но при культивировании только в аэробных условиях отмечается рост лишь дрожжеподобных грибов в умеренном или высоком титре ( $10^4$ – $10^7$  КОЕ/мл);
- 2) рост лактобацилл отсутствует или их титр низкий ( $<10^4$  КОЕ/мл);
- 3) доминирующая микрофлора – бактериоиды, гарднереллы, анаэробные кокки.

### 3. Бессимптомное носительство грибов

#### А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:

- 1) вагинальный эпителий представлен преимущественно клетками поверхностных слоев;
- 2) лейкоцитарная реакция не выражена, единичные лейкоциты в поле зрения;
- 3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;
- 4) доминируют морфотипы лактобацилл, элементы дрожжеподобного гриба чаще всего не выявляются или обнаруживаются единичные дрожжевые клетки в редких полях зрения.

#### Б. Культуральный метод:

- 1) общее количество микроорганизмов не превышает  $10^8$  КОЕ/мл;
- 2) доминируют лактобациллы;
- 3) рост дрожжеподобного гриба в низком титре ( $<10^4$  КОЕ/мл).

### Неспецифический вагинит

#### А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:

- 1) вагинальный эпителий представлен клетками

поверхностного и промежуточного слоев, при выраженном воспалительном процессе встречаются парабазальные клетки;

2) выражена (в разной степени) лейкоцитарная реакция (более 10 лейкоцитов в поле зрения);

3) общее количество микроорганизмов «умеренное»;

4) лактобациллы отсутствуют или их количество резко снижено (до единичных в поле зрения);

5) преобладают морфотипы УПМ (колиформные палочки или грамположительные кокки).

#### *Б. Культуральный метод:*

1) отсутствие роста лактобацилл или их количество минимальное ( $<10^4$  КОЕ/мл);

2) рост факультативно-анаэробных УПМ, чаще одного какого-либо вида в высоком титре ( $10^5$ – $10^8$  КОЕ/мл).

### **Цитолитический вагиноз**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) эпителиальные клетки в подавляющем большинстве подвергнуты цитолизу, в мазке преобладают элементы деструкции клеток – детрит, обнаженные ядра промежуточных и поверхностных эпителиальных клеток;

2) лейкоциты отсутствуют или их количество не превышает 10 в поле зрения;

3) микрофлора в «большом» количестве, представлена морфотипом типичных лактобацилл.

*Б. Культуральный метод:* обильный рост только лактобацилл, сопутствующая микрофлора, как правило, отсутствует.

### **Промежуточный вариант микроценоза**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) вагинальный эпителий представлен поверхностными клетками, могут встречаться единичные «ключевые» клетки или отмечена склонность к их формированию;

2) количество лейкоцитов не более 10 в поле зрения;

3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;

4) доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы в сочетании со сниженным титром морфотипов лактобацилл.

#### *Б. Культуральный метод:*

1) общее количество микроорганизмов колеблется от  $10^7$  до  $10^9$  КОЕ/мл;

2) титр лактобацилл снижен, но может достигать умеренных величин –  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл;

3) присутствие лактобацилл сочетается с умеренным или высоким титром облигатных анаэробов и гарднереллы ( $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл).

### **Вагинальная атрофия**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) в зависимости от степени атрофии слизистой оболочки влагалища эпителий представлен различным соотношением числа промежуточных и парабазальных клеток, по мере нарастания атрофии увеличивается число парабазальных и базальных клеток;

2) количество лейкоцитов чаще в пределах 10 в поле зрения

3) микрофлора «скудная», практически отсутствует, могут встречаться единичные лактоморфотипы или морфотипы УПМ в редких полях зрения.

#### *Б. Культуральный метод:*

1) низкая общая микробная обсемененность вагинального отделяемого –  $10^2$ – $10^4$  КОЕ/мл;

2) низкий титр как лактобацилл, так и УПМ.

Заключение о результатах этиологической диагностики дается на основании *интегральной оценки* результатов комплексного микробиологического исследования отделяемого влагалища, включающего микроскопию нативных мазков, окрашенных по Граму, и посев с учетом видового и количественного состава компонентов микроценоза.

## **Литература**

1. Sweet R.L., Gibbs R.S. Infections Diseases of the Female Genital Tract. 3rd edition. Baltimore: USA; 1995.
2. Беликова З.Ф. Комплексная терапия урогенитального кандидоза у женщин репродуктивного возраста с учетом состояния вагинального и кишечного микроценоза: Автореф. дис. ... канд мед наук. Москва; 2000.

3. Воробьев А.А., Абрамов Н.А., Бондаренко В.М., Шендеров Б.А. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины. Вестн. РАМН. 1997; 3:3-9.
4. Larson B. Vaginal flora in health and disease. Clin Obstet Gynec 1993; 36:107-21.
5. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier A.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by standardized method of Gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29:297-301.