

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 3000 экз.

Подписные индексы:

38290 – для индивидуальных
подписчиков

38041 – для предприятий и
организаций (по объединенному
каталогу «Подписка-2002», том I)

КМ 1003 – для индивидуальных
подписчиков

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

Адрес для корреспонденции:

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

Адрес электронной почты:

cmac@antibiotic.ru

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

Присланные в редакцию статьи
рецензируются

Ответственность за достоверность
рекламных публикаций несут
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал
обязательна

© Клиническая микробиология
и антимикробная химиотерапия

Содержание

У. Чек – Долгий путь в клинические лаборатории тестов,
основанных на определении нуклеиновых кислот96

Болезни и возбудители

Ю.В. Лобзин, В.М. Волжанин, С.М. Захаренко – Сибирская язва104

В.А. Шкитин, А.И. Шпирна, Г.Н. Старовойтов – Роль *Helicobacter
pylori* в патологии человека128

Р.Г. Мастертон, К.Д. Барли, группа исследователей – Рандомизиро-
ванное двойное слепое сравнительное исследование
эффективности 5- и 7-дневного курсов перорального
приема левофлоксацина у пациентов с обострением
хронического бронхита146

Антибиотикорезистентность

Л.С. Стречунский, А.В. Дехнич, Ю.А. Белькова, группа исследователей
проекта СтЭнт – Сравнительная активность антибактериальных
препаратов, входящих в лекарственные формы для местного
применения, в отношении *Staphylococcus aureus*:
результаты российского многоцентрового исследования157

Методические рекомендации для клиницистов

А.С.Ф. Лок, Б.Дж. МакМахон – Хронический гепатит В:
практические рекомендации Американской ассоциации
по изучению заболеваний печени164

Информация

Краткие правила для авторов194

Главный редактор:
Синопальников А.И. Москва

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

Исполнительный директор:
Пискунов Г.Г. Москва

Production Manager:
Piskunov G.G. Moscow

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

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

Ответственный секретарь: Дехнич А.В.

Editorial Manager: Dekhnich A.V.

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

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
Rokitcki 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

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

International Editorial Council:
Acar J. Paris, France
Bartlett J. Baltimore, USA
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. Hudinge, Sweden
Rubinstein E. Tel-Aviv, Israel
Semenov V. Vitebsk, Byelorussia

Редактор номера:
Ляшенко Н.И. Москва

Editor of Issue:
Ljashenko N.I. Moscow

Contents

W. Check – Nucleic Acid-Based Tests Move Slowly into Clinical Labs96

Diseases and Pathogens

Yu.V. Lobzin, V.M.Volzhanin, S.M. Zakharenko – The Anthrax104

V.A. Schkitin, A.I. Schpirna, G.N. Starovoytov – Role of *Helicobacter pylori* in human pathology128

R.G. Masterton, C.J. Burley, Study Group – Randomized, Double-Blind Study Comparing 5- and 7-Day Regimens of Oral Levofloxacin in Patients with Acute Exacerbation of Chronic Bronchitis146

Antimicrobial Resistance

L.S. Stratchounski, A.V. Dekhnitch, Ju.A. Belkova, The StEnt Study Group – Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Hospitalised Patients Topical Antimicrobials in Russia157

Guideline for Clinicians

A.S.F. Lok, B.J. McMahon – Chronic Hepatitis B: AASLD Practice Guidelines164

Information

Rules for Authors194

УДК 616-074:577.113

Долгий путь в клинические лаборатории тестов, основанных на определении нуклеиновых кислот

Проблемы подготовки образцов, риск контаминации и консервативные взгляды тормозят, но уже не могут остановить начавшееся внедрение в практику аналитических диагностических методов

У. Чек

Независимый медицинский и научный писатель, Вильмет, Иллинойс, США

Переведена и печатается с согласия автора и редакции «ASM News» 2001; 67:560-5.

Nucleic Acid-Based Tests Move Slowly into Clinical Labs

Sample preparation problems, contamination, and entrenched attitudes slow but cannot stop adoption of analytically diagnostic methods

W. Check

Freelance medical and science writer, Willmette, Illinois, USA

Translated and reprinted with permission from «ASM News» 2001; 67:560-5.

Диагностические методы, основанные на гибридизации и амплификации нуклеиновых кислот, постепенно внедряются в практику клинических микробиологических лабораторий. Совсем недавно стало казаться, что даже секвенирование ДНК патогенных микроорганизмов также со временем найдет свое клиническое применение.

Тем не менее до настоящего времени молекулярные методы диагностики не заняли на практике своих обещанных позиций, в частности потому, что они весьма трудоемки и дорогостоящи, а для интерпретации результатов исследований требуются опытные высококвалифицированные специалисты, число которых, как правило, ограничено, а их услуги требуют больших экономических затрат.

Однако в связи с тем, что новые молекулярные методы исследования нередко позволяют обнаружить возбудителей, для которых диагностические тесты либо малоинформативны, либо отсутствуют вообще, они прочно вошли в практику некоторых

наиболее крупных научно-исследовательских клинических лабораторий. Накопление в этих лабораториях современных научных знаний, в свою очередь, облегчает процесс внедрения в практику новых молекулярно-биологических методов в целях диагностики.

Трудности, с которыми до сих пор сталкиваются молекулярные методы диагностики патогенных микроорганизмов

«С внедрением в практику диагностического набора для определения уровня вирусной нагрузки у инфицированных ВИЧ пациентов молекулярно-биологические тесты стали в определенной степени рутинными методами», – говорит Тим Алькорн, директор отдела инфекционных болезней (LabCorp центр молекулярной биологии и патологии, Исследовательский треугольный парк, Северная Каролина, США). Появление тестов, обеспечивающих возможность количественного определения вируса у

инфицированных ВИЧ пациентов, повлекло за собой разработку амплификационных методов для выявления *вируса гепатита С* (HCV).

Используемые в настоящее время культуральные методы исследования не позволяют быстро выделить из клинического материала, взятого у пациента, ни один из этих вирусов. Т. Алькорн рассматривает молекулярные методы определения *цитомегаловируса* (CMV), *вируса простого герпеса* (HSV) и *вируса гепатита В* (HBV) в качестве следующего этапа на пути широкого внедрения в практику клинических лабораторий молекулярно-биологических аналитических тестов.

Молекулярные тесты определения CMV и HSV являются примером перехода от традиционных к новым методам исследования. «В связи с тем, что все большее число производителей расширяет списки выпускаемых ими наборов для проведения молекулярно-биологических тестов, эти методы широко распространяются на всех уровнях – от крупных референтных до небольших клинических лабораторий», – говорит Т. Алькорн.

Однако в настоящее время еще существуют определенные трудности, которые необходимо преодолеть, прежде чем методы, основанные на определении нуклеиновых кислот, достигнут обещанных их сторонниками целей. «Я остаюсь полным оптимизма относительно диагностических возможностей молекулярно-биологических методов исследования», – говорит Дэвид Релман, доцент микробиологии, иммунологии и медицины (Медицинский факультет Стэнфордского университета, Стэнфорд, Калифорния, США). «В то же время я буду первым, кто согласится с тем, что обещанные преимущества еще в значительной степени несовершенны и до конца не реализованы на практике. Я считаю, что частично эта проблема состоит в том, что в некоторых случаях новая технология в чистом виде опередила развитие отдельных периферических методов, которые являются необходимым условием распространения этих тестов в практике клинических лабораторий».

Более того, необходимо понимать различия между чувствительностью и специфичностью метода с позиций анализа и этими же понятиями с клинической точки зрения. «Очень часто превосходные результаты, о которых можно услышать на различных конференциях, касаются в большей степени аналитических возможностей метода, чем его клинической значимости», – обращает внимание Д. Релман. «На самом деле для нас необходимо и то, и другое».

Патрик Мюррэй, директор отдела клинической микробиологии (Университет медицинской систе-

мы штата Мэриленд, Балтимор, Мэриленд, США) сравнивает настоящее положение диагностических методов, основанных на определении нуклеиновых кислот, с первой волной тестов для *иммуноферментного анализа* (ИФА), ставших доступными для широкого применения около 15–20 лет назад. В самом начале проведение иммунологических аналитических тестов было очень трудоемким и занимало около 4–5 ч. «Я думаю, что многие лаборатории ... испытывали трудности, пытаясь доказать целесообразность проведения многих из этих иммунологических тестов или необходимость замены ими на рынке медицинских товаров существовавших в то время традиционных методов исследования», – вспоминает П. Мюррэй. В настоящее время используется множество быстрых и надежных иммунологических методов диагностики в клинических лабораториях и даже в кабинетах частнопрактикующих врачей.

Так же, как ИФА несколько лет назад, методы молекулярной диагностики, основанные на определении нуклеиновых кислот, в настоящее время представляют собой первое поколение новой технологии, встречающей на своем пути множество проблем. «Нельзя говорить о том, что они не найдут своего широкого применения в будущем», – говорит П. Мюррэй, – «я в этом убежден». Однако на данном этапе требуется совершенствование этих методов.

Особенности работы с клиническими образцами и другие важные проблемы должны быть решены, прежде чем новые методы найдут свое широкое применение

П. Мюррэй подчеркивает, что значительно более важным, чем выделение необходимых нуклеиновых кислот, их амплификация и использование сложных методик, позволяющих провести их идентификацию, является доаналитический этап исследования, на котором осуществляется подготовка клинического материала, позволяющая использовать его для дальнейшего тестирования. Ингибиторы, присутствующие в клинических образцах, могут препятствовать проведению решающих аналитических реакций. Более того, в ходе исследования могут возникать трудности при попытке создания более высоких концентраций микроорганизмов, присутствующих в клиническом материале в небольшом количестве. Другой серьезной проблемой до сих пор остается возможность перекрестной контаминации компонентов реакции.

Любая, даже усовершенствованная молекулярная технология будет иметь ограниченные возможности, обусловленные сущностью самого ме-

тогда. Так, Эллен Джо Барон, директор лаборатории клинической микробиологии и вирусологии, доцент патологии (Медицинский центр Стэнфордского университета, Стэнфорд, Калифорния, США) говорит о том, что «молекулярные технологии не создаются с целью ответить на любой вопрос, касающийся этиологии инфекционных болезней». Один из примеров этому – пневмония: в дыхательных путях здорового человека присутствует большое количество различных инфекционных агентов. При проведении высокочувствительного амплификационного анализа может создаться ситуация, при которой система окажется перегруженной микроорганизмами, не играющими роли в этиологии и патогенезе болезни. «Неправильным было бы считать, что в будущем с помощью амплификационных методов исследования будет возможно все», – говорит она.

Определение последовательности нуклеиновых кислот (*секвенирование*), самый многообещающий метод идентификации патогенных микроорганизмов в условиях клиники, только сейчас вышел за пределы научно-исследовательских лабораторий. Стив Дэй, управляющий по медицинским вопросам компании «Визибл Джинетикс» (Visible Genetics, Атланта, Джорджия, США) говорит о том, что в настоящее время начинает разрабатываться оборудование, специально предназначенное для использования в клинических лабораториях с целью диагностики, а соответствующие тесты для них совершенствуются таким образом, чтобы обеспечить более высокую надежность.

Тем не менее до сих пор существует острая необходимость проведения стандартизации как самих методов, так и образцов контрольных последовательностей ДНК, а также методик интерпретации результатов исследования. Однако он добавляет, что «методы, основанные на секвенировании нуклеиновых кислот и принципах, используемых в фармакогеномике, явились революционными в области диагностики инфекционных болезней и лечения заболеваний в целом и останутся таковыми и в будущем».

Помимо коммерческих наборов, созданных для применения молекулярных технологий с целью диагностики, некоторые клинические микробиологи разрабатывают собственные амплификационные аналитические тесты для определения менее распространенных, но клинически значимых возбудителей, таких, как вирус Эпштейна–Барра, энтеровирусы, эрлихии, риккетсии и токсоплазмы. Наличие такого потенциала является одним из преимуществ тех лабораторий, которые возглавляются хорошо подготовленным и опытным микробиологом.

Подход одной из лабораторий к внедрению методов диагностики, основанных на определении нуклеиновых кислот

Стандартным набором молекулярных методов исследования может быть набор тестов, введенный в практику несколько лет назад Лиззи Харрел, помощником директора клинической микробиологической лаборатории, доцентом микробиологии и патологии (Медицинский центр Дьюкского университета, Роли, Северная Каролина, США). «Нашим основным молекулярным методом диагностики уже сейчас является определение вирусной нагрузки у пациентов с ВИЧ-инфекцией», – говорит Л. Харрел. Лаборатория предлагает как стандартный метод, обычно необходимый клиницистам для определения исходного показателя вирусной нагрузки до назначения терапии, так и высокочувствительный тест, требуемый, как правило, после завершения лечения, когда предполагается снижение уровня вирусной нагрузки.

Для определения ДНК цитомегаловируса Л. Харрел предложила использовать неамплификационный анализ, основанный на гибридизации ДНК (*Digene's hybrid capture DNA*), который выполняется непосредственно на образцах, взятых от пациентов. В связи с тем, что Л. Харрел использует тесты, одобренные *Администрацией по контролю за лекарствами и пищевыми продуктами США* (FDA), в ее лаборатории проводится только качественный, а не количественный анализ. «Некоторые лаборатории используют количественные методы исследования, однако это увеличивает экономические затраты», – говорит она. Исследование на CMV-инфекцию проводится главным образом у пациентов с клиническими симптомами, развившимися после трансплантации органов, и помогает клиницисту исключить реакцию отторжения трансплантата в качестве возможной причины патологического состояния у конкретного пациента.

В своей лаборатории Л. Харрел заменила тесты выявления антигенемии на молекулярный метод, основанный на определении нуклеиновых кислот. Количественные методы определения CMV позволяют установить степень риска развития инфекции. В связи с тем, что эти тесты уже одобрены для применения, в будущем они быстро заменят тесты определения антигенемии и будут использоваться для выявления ранних симптомов инфекции, что, в свою очередь, позволит назначать наиболее предпочтительную терапию.

Л. Харрел также предлагает использовать *электрофорез в пульсирующем электрическом поле* (PFGE) для молекулярно-эпидемиологических ис-

следований, проводимых службами инфекционного контроля, которые могли бы использовать его для эпидемиологического анализа вспышек нозокомиальных инфекций. Использование PFGE позволяет детектировать специфические участки целой хромосомы микроорганизма после рестрикции ее редкощепящими рестрикционными эндонуклеазами. Профиль идентичности достаточно легко определяется и указывает на общий источник вспышки инфекционного заболевания.

Также Л. Харрел обращает внимание как на количественные, так и на качественные методы диагностики и мониторинга пациентов с HCV-инфекцией. В конечном итоге это позволит определить возможность использования амплификационных тестов в условиях собственной лаборатории. Амплификационные методы исследования позволяют подтвердить наличие HCV-инфекции у пациентов с повышенным уровнем активности печеночных аминотрансфераз, а также у пациентов с обнаруживаемыми при проведении ИФА антителами к HCV. Клиницисты, занимающиеся лечением ВИЧ-инфицированных, а также пациентов после трансплантации печени, будут основными пользователями этих тестов.

В лаборатории Л. Харрел также используется набор для неамплификационного анализа – GenProbe, необходимый для идентификации различных микобактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* и *Mycobacterium gordonae*. В США наиболее распространенными среди лиц с ВИЧ-инфекцией и клинически значимыми являются *M. avium*, представляющие собой относительно «инертные» микроорганизмы. Их идентификация с использованием традиционных биохимических тестов может занимать несколько недель или даже месяцев, в то время как молекулярные методы позволяют провести ее в течение нескольких часов с момента появления роста колоний. Л. Харрел рассматривает также возможность использования амплификационного метода для выявления *M. tuberculosis* непосредственно в клиническом материале, взятом у пациента.

Одним из первых, оправдавших себя диагностических приложений технологии, основанной на определении нуклеиновых кислот, стало использование ее для обнаружения *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae* в клинических образцах. Амплификационные методы быстро доказали более высокую чувствительность по сравнению с культуральными методами, и в настоящее время рассматриваются в качестве стандарта для идентификации указанных возбудителей болезней, передающихся половым путем. В Дьюке, говорит Л. Харрел, этот

тест проводится уже в двух клинических лабораториях. «Мы твердо убеждены в том, что этот метод исследования должен использоваться в микробиологических лабораториях», – сообщает Л. Харрел. «Диагностические тесты должны группироваться по областям их применения, а не по используемым методам».

Исключением может быть использование амплификационного метода для определения вируса папилломы человека в мазках отделяемого шейки матки, который был включен многими учреждениями в программу скринингового обследования с целью идентификации сомнительных мазков, исследованных с помощью световой микроскопии. В Дьюке этот тест проводится в патологоанатомической лаборатории с целью установления корреляции с результатами гистологического исследования.

Тесты, основанные на определении нуклеиновых кислот, иногда вводят в заблуждение

Несмотря на то что амплификационные методы повышают качество диагностики инфекционных болезней, в определенных случаях они становятся причиной ряда проблем. До переезда в Мэриленд П. Мюррэй работал в Вашингтонском университете (Сент-Луис, Миссури, США), где однажды произошел следующий случай. При использовании лигазной цепной реакции для определения *C. trachomatis* и *N. gonorrhoeae* были получены результаты, находившиеся непосредственно на уровне пороговой чувствительности метода в так называемой «серой зоне». Данную ситуацию П. Мюррэй назвал «очень тревожной», поскольку в конечном итоге она привела к ложноположительным результатам.

В ходе дальнейшего наблюдения было выявлено, что данная проблема возникала постоянно на протяжении всего исследования. Были также получены ложноотрицательные результаты, связанные, в частности, с исследованием образцов мочи, которая, как известно, является ингибитором лигазной цепной реакции. П. Мюррэй объясняет эти неудачи техническими проблемами, существовавшими при проведении исследования. После повторного анализа каждого полученного положительного результата исследователи решили использовать диагностические наборы, выпускаемые фирмой «Becton Dickinson», в связи с тем, что в них применялся внутренний амплификационный контроль, позволяющий определить присутствие в образце ингибиторов реакции.

Однако при работе с данными диагностикумами обнаружилась другая проблема – возможность контаминации амплификационным контролем. Поставщик оборудования оказал большую по-

мощь, но в конечном итоге исследователям все равно пришлось заменить оборудование и тестировать в другом помещении. «Мы не могли деконтаминировать лабораторию», – говорит П. Мюррей. «С такими же проблемами столкнулись и в других лабораториях, использовавших оба вышеуказанных метода». Тем не менее П. Мюррей остается оптимистичным по поводу того, что диагностические системы будут усовершенствованы, считая при этом, что подобные проблемы не устраивают многих пользователей.

Кроме выявления генетических маркеров резистентности к антибиотикам у *C. trachomatis* и *N. gonorrhoeae*, другие методы, основанные на определении нуклеиновых кислот и предназначенные для выявления таких маркеров резистентности, как ген *mecA* у метициллинорезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* и *van* гены у ванкомицинорезистентных энтерококков, в определенных ситуациях обладают огромным преимуществом перед традиционными методами исследования. «Аmplификация генов резистентности представляет собой самый чувствительный метод ее выявления у этих микроорганизмов», – говорит П. Мюррей.

Действительно, определение резистентности к оксациллину и ванкомицину у этих возбудителей стандартными методами – дисков и пограничных концентраций – часто оказывается затруднительным, что связано с их гетерорезистентными свойствами, заключающимися в том, что не у всех бактерий, несущих ген резистентности, будет наблюдаться его экспрессия.

Э. Барон подчеркивает, что амплификационные методы могут вводить в заблуждение в том случае, когда они используются, например, для диагностики пневмонии. «Многие думают, что пневмония является болезнью, при которой молекулярная технология может заполнить серьезный пробел в тех случаях, когда не удается установить этиологический диагноз», – констатирует Джон Бартлетт, заведующий кафедрой инфекционных болезней (Университет Джона Хопкинса, Балтимор, Мэриленд, США). Однако использование амплификационных методов следует ограничить только определением микроорганизмов, не являющихся представителями нормальной микрофлоры дыхательных путей, таких, как легионеллы, *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae*. Наиболее распространенные возбудители пневмонии – пневмококк и *Haemophilus influenzae* – будут присутствовать в качестве контаминантов слишком часто, чтобы считать результаты амплификационных методов их исследования достоверными для постановки диагноза.

Традиционные клинические лабораторные тесты плачут под звон фанфар в честь новых методов

Несмотря на ажиотаж вокруг применения молекулярных тестов, основанных на определении нуклеиновых кислот, в условиях клинической лаборатории традиционные методы микробиологического исследования остаются неотъемлемой частью программы качественного ведения пациентов, – утверждает Дж. Бартлетт. «Традиционным микробиологическим методам в последние годы был нанесен огромный удар», – говорит он. «Качество микробиологических исследований ухудшается, однако это связано не со снижением квалификации микробиологов, а со страховою медициной, переводом микробиологии на коммерческие проекты, а также с внедрением положений программы CLIA (Мероприятия по усовершенствованию клинических лабораторных исследований), отдаляющих клиническую микробиологию от практических врачей. Уровень клинической микробиологии в госпиталях США в настоящее время не настолько высок, как это было 20–30 лет назад».

Дж. Бартлетт считает «до известной степени парадоксальной» ситуацию, при которой наряду с большим энтузиазмом, проявляемым к развитию высокотехнологичных методов исследования, забываются ценные простые методики. Традиционные методы следует сохранить в клинической практике, однако их необходимо усовершенствовать. «Я полагаю, что достаточно странно выглядит ситуация, когда вы приходите в лабораторию и видите микробиолога, работающего так же, как Луи Пастер работал 100 лет назад», – говорит Дж. Бартлетт. Другая ситуация наблюдается в химических лабораториях, которые были радикально модернизированы в последние 10 лет. «Я могу понять энтузиазм, проявляемый к высокотехнологичным методам исследования», – говорит Дж. Бартлетт, – «но я считаю, что нам нужны как высокотехнологичные, так и наиболее совершенные простые тесты».

Традиционные методы, «особенно культуральное исследование, представляют большую ценность», – соглашается Дэвид Рэлман, доцент микробиологии, иммунологии и медицины (Медицинский факультет Стэнфордского университета, Стэнфорд, Калифорния, США). «Очень важно иметь жизнеспособные культуры микроорганизмов в морозильной камере или в пробирке». Тщательное изучение микроорганизмов может пролить свет на природу заболеваний и эпидемиологические характеристики вновь возникающих инфекций. Более того, некоторые методы диагностики, основан-

ные на определении нуклеиновых кислот, на начальных этапах требуют использования живых неповрежденных культур микроорганизмов. Например, методы идентификации, основанные на анализе всего генома с помощью микрогибридизационных матриц, прежде всего зависят от того, сможет ли кто-нибудь типировать штаммы возбудителя и установить их возможное родство.

По поводу сниженного финансирования традиционной микробиологии и дефицита высококвалифицированных лаборантов Д. Рэлман говорит следующее: «Мне хочется верить, что это – временный феномен и что когда-нибудь люди осознают нанесенный ими ущерб. Возможно, для этого потребуются громкие протесты некоторых специалистов, работающих в данной области медицины».

Подготовка образцов и другие технические проблемы также требуют внимания

Прежде чем амплификационные методы станут рутинными в практике клинических лабораторий, необходимо будет преодолеть ряд серьезных препятствий. Важный момент – подготовка клинических образцов, позволяющая выделить необходимую нуклеиновую кислоту и избежать при этом действия ингибиторов, а также обеспечивающая высокую концентрацию нуклеиновой кислоты в образцах без накопления ингибиторов реакции. Выбор клинического материала для исследования также требует внимания. «Мы думаем, что знаем, где найти микроорганизмы», – говорит Д. Рэлман. «Но я не уверен в том, что мы четко представляем себе, какие виды образцов могут оказаться диагностически полезными, а какие – неподходящими для исследования».

Э. Барон подчеркивает, что до сих пор нет удобных автоматизированных методов выделения нуклеиновых кислот, позволяющих получить образцы для амплификационного анализа. В ее лаборатории в настоящее время проходят испытание два коммерческих набора. «Они не настолько чувствительны, как мануальные методы, однако мануальные методы имеют недостатки с точки зрения эргономики», – говорит она, имея в виду многократное пипетирование, которое иногда становится проблемой для лаборантов.

Д. Рэлман также говорит об обширной проблеме, связанной с фоновой сигнальной контаминацией, которую, по его мнению, более точно следует называть эндогенным микробным молекулярным фоном организма человека. «Имея в распоряжении молекулярные методы, мы в еще меньшей степени, чем при использовании стандартных методов культивирования микроорганизмов, представляем себе,

что нам следует искать у здоровых людей», – говорит он. «Разнообразие последовательностей нуклеиновых кислот намного шире, чем культуральные различия микроорганизмов». Понимание особенностей эндогенной микробной «молекулярной флоры» является решающим при условии, что клинические микробиологи будут правильно интерпретировать результаты молекулярных методов исследования клинических образцов, полученных от различных пациентов.

Недостаток квалифицированного персонала еще больше усложняет процесс внедрения молекулярных технологий в практику

Даже в настоящее время существует дефицит специалистов, соответствующим образом подготовленных в области молекулярных технологий. Э. Барон приводит данные о том, что ежегодная потребность в специалистах лаборатории в последующие 10 лет будет составлять 9300 человек, однако получить профессию смогут всего около 5000 человек в год. Со временем введение автоматизированных систем уменьшит влияние дефицита специалистов, однако это не решит проблему до конца. Что же можно предпринять в последующие 5–10 лет, пока новая технология постепенно распространится в лабораторную практику? «Нам еще придется некоторое время зависеть от людей, умеющих интерпретировать мазки по Граму, определять чувствительность стандартными методами, анализировать результаты посева на питательные среды и оценивать цитопатический эффект вирусов в культуре клеток», – говорит Э. Барон. «Мы не достигли очень важной цели: не сделали работу в клинических лабораториях привлекательной для людей. Мы мало им платим».

Но это представляет лишь часть большой проблемы. «Система здравоохранения имеет серьезные проблемы, связанные с привлечением людей для работы во вспомогательных областях медицины, и не только в микробиологии, но также и в фармации, и сестринском деле», – говорит Дж. Бартлетт. «В настоящее время сложилось критическое положение с обеспеченностью системы здравоохранения вспомогательным персоналом, и я пока не вижу, чтобы кто-нибудь нашел выход из этой ситуации».

В течение нескольких последующих лет, пока амплификационные методы исследования не станут полностью автоматизированными, внедрение этой технологии будет усугублять дефицит квалифицированного персонала. «Я бы рассматривал это как главную проблему», – говорит Л. Харрел. «Причина заключается в том, что наблюдается раз-

личное отношение к проводимым молекулярным тестам».

В традиционной клинической микробиологии технологи обучены асептической технике манипуляций и правилам работы, позволяющим избежать контаминацию.

Однако, когда дело доходит до работы с ампликонами, которые могут присутствовать в количестве нескольких миллионов и миллиардов копий, обычная проблема контаминации становится на несколько порядков сложнее. Даже при работе с наборами, в которых предусмотрены специальные биохимические меры защиты, позволяющие снизить риск контаминации в процессе проведения реакции, «вы все еще хотите убедиться, что вы очень аккуратны, иначе вы не будете знать, получите ли вы ложноположительные результаты», – говорит Л. Харрел. Особенно важно избежать ложноположительных результатов при исследовании на HCV-инфекцию, которое является основанием для постановки диагноза. В то же время тесты на ВИЧ-инфекцию позволяют всего лишь количественно оценить уровень вирусной нагрузки у инфицированных пациентов.

Наличие отдельных помещений для подготовки и непосредственного проведения амплификации – часть решения проблемы, поскольку подобное размещение является оптимальным для предотвращения контаминации используемых в реакции клинических образцов. Тем не менее решающим фактором является высокая бдительность персонала лаборатории, что, в свою очередь, требует привлечения максимально возможного числа сертифицированных медицинских лаборантов.

В связи с этим многим уже работающим лаборантам, проходившим подготовку еще по программам, не включавшим или незначительно касавшимся изучения молекулярных методов исследования, необходимо пройти по месту работы курсы по овладению амплификационными методиками. Л. Харрел реализует эту идею, проводя индивидуальное обучение в лаборатории, а также используя выездные курсы и подготовку на местах, которые проводят сотрудники фирм-изготовителей диагностических наборов и оборудования.

Применение методов секвенирования нуклеиновых кислот расширяется, несмотря на существующие трудности

Несмотря на то что секвенирование нуклеиновых кислот до сих пор остается еще более сложной задачей по сравнению с амплификационным анализом, оно уже прошло длинный путь от того момента, когда представляло собой сугубо научно-исследовательский метод, при проведении которого ис-

пользовались реагенты, содержащие опасные химические вещества и радионуклиды. В настоящее время этот метод достаточно автоматизирован, а визуализация результатов осуществляется с помощью флюоресцентных красителей, заменивших использовавшиеся ранее радионуклиды.

Тем не менее новые методы, основанные на секвенировании нуклеиновых кислот, все еще используют *электрофорез в полиакриламидном геле* (PAGE), зависят от оборудования, в большей степени созданного для исследовательских целей, занимающего много места, и требуют использования трудоемких методов формирования геля с большим временем полимеризации. Однако секвенирование уже применяется по крайней мере в некоторых наиболее крупных лабораториях, где используется в первую очередь с целью изучения механизмов резистентности у ВИЧ и определения генотипов HCV.

С. Дэй говорит, что компания «Visible Genetics» разработала первую, специально созданную для клинического использования систему для секвенирования ДНК – OpenGene, которая позволяет проводить быструю и удобную отливку геля и содержит справочное программное обеспечение. 27 сентября 2001 г. эта система была одобрена FDA в качестве набора для определения генотипа ВИЧ. «Мы усовершенствовали процесс, который ранее занимал два с половиной часа, и теперь вы можете сделать это менее чем за 5 минут», – сказал Дэй о времени, затрачиваемом на подготовку системы.

Секвенаторы, использующие принципы капиллярного электрофореза для разделения фрагментов ДНК, в настоящее время также доступны для использования в научно-исследовательских целях. Капиллярные секвенаторы более легко автоматизируются; основным требованием при проведении исследования является необходимость замены капилляров после каждых 100 анализов.

«Я смотрю на секвенирование нуклеиновых кислот как на метод, который завоевывает медицинский рынок», – говорит Т. Алькорн. «Когда нам удастся перевести этот метод в формат коммерческих наборов для лабораторий, он «сломает лед», как это сделали наборы для определения вирусной нагрузки на основе амплификационного анализа». И секвенирование, и методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот, позволяют распознавать гены, отвечающие за резистентность возбудителей к антибиотикам, а также идентифицировать виды микроорганизмов, плохо растущие на питательных средах.

Заглядывая в будущее, Т. Алькорн считает, что как микрогибридизационные матрицы, так и микроочипы для анализа экспрессии генов «имеют

огромную возможность стать рутинными клинико-диагностическими методами». В связи с тем, что секвенирование нуклеиновых кислот применяется главным образом в условиях клинических лабораторий, его пользователи потребуют создания более быстрых методов его проведения, при этом с такой же необходимостью могут столкнуться и микрогибридизационные матрицы. В первую очередь должны быть преодолены такие проблемы, как стоимость и технические трудности. Однако в конечном итоге возможно даже в течение 5 лет, предполагает он: «Я думаю, что они станут стандартными методами диагностики».

Молекулярные методы исследования также помогут раскрыть фундаментальные вопросы, что позволит микробиологии перейти на новый уровень развития. «Я являюсь ревностным сторонни-

ком того, что скоро нам придется приложить огромные усилия, чтобы изучить и охарактеризовать нормальное микробное сообщество организма человека», – говорит Д. Рэлман. Молекулярные методы идеально подходят для получения данных о разнообразии идентификационных маркеров, таких, как последовательности микробной ДНК, обнаруживаемые обычно в организме здорового человека в наиболее распространенных местах локализации инфекции – полость рта, пищеварительный тракт, влагалище, кожа, а также в органах и тканях, обычно считающихся стерильными, таких, как кровь, печень и селезенка. «Я думаю, что мы найдем там последовательности нуклеиновых кислот, которые помогут нам при установлении этиологии инфекционных болезней», – говорит Д. Рэлман.

УДК 616.98:579.843.98

Сибирская язва

Ю.В. Лобзин, В.М. Волжанин, С.М. Захаренко

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Возбудитель сибирской язвы наряду с вирусом натуральной оспы и *Yersinia pestis* является одним из наиболее эффективных агентов, которые могут быть использованы в качестве биологического оружия. Об этом свидетельствуют события, связанные с биотеррористическими актами в США осенью 2001 г. В настоящей статье рассматриваются вопросы этиологии, эпидемиологии и патогенеза инфекции, вызванной *B. anthracis*. Подробно описана клиническая картина различных форм болезни и представлены основные критерии ее диагностики. Проанализированы методы

лабораторного подтверждения диагноза. Особое внимание уделено вопросам лечения сибирской язвы как в естественных условиях, так и в условиях применения *B. anthracis* в качестве биологического оружия. Обсуждаются также вопросы плановой и экстренной вакцинации. Изложены рекомендации по проведению превентивной антибактериальной терапии лиц, подвергшихся воздействию бактериального аэрозоля.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, биологическое оружие, биотерроризм, фторхинолоны, сибиреязвенная вакцина.

The Anthrax

Yu.V. Lobzin, V.M. Volzhanin, S.M. Zakharenko

Academy of Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia

Anthrax, along with smallpox and plague, is considered one of the most potential biological warfare agents. It has been proved during the recent bioterroristic events in the USA in the fall last year. This article presents the questions of etiology, epidemiology and pathogenesis of *Bacillus anthracis* infection. Clinical features of the different forms and major criteria for diagnosis of anthrax are described in details. Different microbiological diagnostics for confirmation of anthrax infection are analyzed.

Management of the naturally occurring anthrax as well as patients with anthrax in mass casualty setting is emphasized. Routine preexposure and post-exposure vaccination are also discussed. Recommendations for postexposure prophylaxis following an aerosol exposure to *B. anthracis* spores are presented.

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, bio-weapon, bioterrorism, fluoroquinolones, anthrax vaccine.

Контактный адрес:
Валерий Михайлович Волжанин
Тел.: (812) 248-3381
Эл. почта: 12160603@gelio.spb.ru

Сибирская язва (anthrax, pustula maligna) – острая инфекционная болезнь, протекающая преимущественно в виде кожной формы, реже наблюдаются ингаляционная и гастроинтестинальная формы.

Ежегодно в мире регистрируется от 2000 до 20 000 случаев заболеваний сибирской язвой [1]. Болезнь широко распространена во многих странах Африки, Азии, Южной и Центральной Америки, Среднего Востока и Карибского бассейна; в США и странах Европы наблюдаются единичные случаи. Вместе с тем сообщения о вспышках сибирской язвы появляются регулярно во всех частях мира, в том числе и в европейских странах [2, 3, 4, 5]. В 95% sporadических случаев сибирской язвы, регистрирующихся в том числе и в эндемичных регионах, наблюдается кожная форма болезни.

Bacillus anthracis является одним из наиболее вероятных патогенов, используемых для создания высокоэффективного бактериологического оружия [6]. Особую актуальность эта инфекция приобрела после появления сообщений о применении спор этого микроорганизма в качестве бактериологического оружия в США осенью 2001 г. По данным *Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC)* по состоянию на 5 декабря 2001 г., в США зарегистрированы 22 случая сибирской язвы. У 18 пациентов диагноз был подтвержден, у 4 установлен предварительный диагноз. Были зарегистрированы 11 случаев легочной и 11 случаев кожной формы болезни; из них 5 пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы умерли [7]. Новых случаев заболеваний пока не зарегистрировано.

Научный и практический интерес к проблемам, связанным с сибирской язвой, достаточно высок. Только на изучение генома *B. anthracis* одним из научных центров США в 2001 г. было выделено 200 тыс. долларов США [8].

Исторические сведения

Под различными названиями сибирская язва известна еще со времен Гиппократа. Русский врач Н. Ножевицкий в 1762 г. описал кожную форму болезни. Современное название «сибирская язва» предложено С.С. Андриевским, который в 1788 г. опытом самозаражения доказал идентичность этой болезни у животных и человека.

Возбудитель сибирской язвы впервые был обнаружен в 1849–1850 гг. одновременно в России, Франции и Германии, а чистую его культуру впервые выделил Р. Кох в 1876 г.

Этиология

Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis* – принадлежит к семейству *Bacillaceae* и представ-

ляет собой аэробную грамположительную палочку длиной 6–10 мкм и шириной 1–2 мкм, неподвижную, образующую споры и капсулу. Образование капсулы кодируется плазмидой 60 kDa.

B. anthracis хорошо растет на простых питательных средах и кровяном агаре, не требует использования специальных культуральных методик и образует характерные колонии в виде «головы медузы». На агаре Мак-Конки и других селективных питательных средах, содержащих соли желчных кислот, микроорганизм не растет. Культуры возбудителя не обладают гемолитическими свойствами.

Вегетативные формы *B. anthracis* быстро погибают в анаэробных условиях, при нагревании и действии дезинфицирующих средств. Споры *B. anthracis* имеют центральное расположение в клетке и являются термостабильными. Как и у многих других представителей рода *Bacillus*, они обладают высокой устойчивостью к действию факторов внешней среды и могут сохраняться в почве многие десятки лет.

Капсула *B. anthracis* состоит из поли- γ -D-глутаминовой кислоты и может быть легко обнаружена при соответствующем окрашивании препаратов.

B. anthracis продуцирует 3 термолабильных белка: *отечный фактор* (EF), *летальный фактор* (LF) и *протективный антиген* (PA), каждый из которых в отдельности не обладает патогенными свойствами; токсический эффект возникает лишь в комбинации друг с другом. К капсуле, отечному и летальному токсинам и протективному антигену в организме человека и животных вырабатываются специфические антитела.

Лабораторная идентификация *B. anthracis* основана на следующих критериях: наличие капсулы, отсутствие подвижности, каталазная активность, чувствительность к пенициллину, способность к образованию эндоспор в аэробных условиях. Для дифференциальной диагностики микроорганизмов рода *Bacillus* существуют различные коммерческие тест-системы, например API 20E и автоматический биохимический анализатор Vitek (bioMerieux, Франция) [9].

Эпидемиология

Основным резервуаром возбудителя сибирской язвы является почва. Споры *B. anthracis* могут годами персистировать в ней, сохраняя жизнеспособность и патогенные свойства. В течение этого времени они представляют собой потенциальный источник инфекции для крупного рогатого скота, но в то же время для человека не представляют непосредственного риска развития заболевания даже в регионах с высокой контаминацией почвы данным возбудителем. Это, в частности, связано с образова-

нием крупных агрегатов спор размером более 6 мкм с компонентами почвы, неспособных проникать в терминальные отделы дыхательных путей, а также с высокой минимальной инфицирующей дозой, составляющей 8000–10 000 спор. Споры попадают в организм преимущественно травоядных животных, где превращаются в вегетативные формы, которые способны вызвать болезнь.

Источником инфекции чаще всего являются домашние животные – крупный рогатый скот, овцы, козы, верблюды, свиньи. Человек может заразиться при уходе за инфицированными животными, забое скота, обработке мяса и при контакте с контаминированными продуктами животноводства (шкура, кожа, меховые изделия, шерсть, щетина). Заражение носит преимущественно профессиональный характер. Споры проникают в кожу через микротравмы и ссадины, что приводит к развитию кожной формы болезни. При алиментарном пути поступления возбудителя, например при употреблении сырого или недостаточно термически обработанного мяса инфицированных животных, возникает орофарингеальная или кишечная (гастроинтестинальная) форма сибирской язвы.

От животного к человеку инфекция может передаваться и аэрогенным путем, в частности при вдыхании инфицированной пыли, костной муки, что наблюдается в настоящее время крайне редко. В этих случаях возникает ингаляционная форма сибирской язвы. Согласно данным Лабораторной службы системы здравоохранения Великобритании, не исключается возможность передачи инфекции от человека к человеку путем непосредственного контакта с участками поражения у пациента с кожной формой сибирской язвы [10]. В то же время подчеркивается, что пока не зарегистрированы случаи передачи инфекции от человека к человеку аэрогенным путем.

***B. anthracis* как агент биологического оружия**

Применение спор сибирской язвы в качестве биологического оружия обусловлено относительной легкостью получения большого количества биологического материала, возможностью его скрытного применения, высокой эффективностью [6]. Наиболее вероятный способ применения сибирской язвы в виде бактериологического оружия – распыление аэрозоля, содержащего жизнеспособные споры возбудителя. В связи с этим среди пораженных будут преобладать пациенты с легочной формой болезни, сопровождающейся высокой летальностью [11].

По официальным данным, возбудителем сибирской язвы как агентом бактериологического ору-

жия обладают Великобритания, Япония, Ирак, Россия и США. Однако, по оценкам экспертов, на сегодняшний день как минимум 17 стран или уже располагают готовым биологическим оружием, или завершают разработки в этой области [12].

Расчетной ID_{50} для человека принято считать 8000–10 000 спор [13]. Экспертами ВОЗ вычислено, что через 3 дня после применения 50 кг спор возбудителя на протяжении двухкилометровой зоны по направлению ветра в сторону города с населением 500 000 человек будут поражены 125 000 (25%) жителей с 95 000 (76%) летальных исходов [13].

Заражение людей сибирской язвой, связанное с ингаляционным путем поступления возбудителя в организм, описано также как результат аварийных ситуаций в специальных лабораториях, занимающихся разработкой биологического оружия [14, 15].

С помощью генной инженерии возможно встраивание генов, кодирующих синтез токсинов у *B. anthracis*, в геном других микроорганизмов рода *Bacillus*, например *B. cereus* [16]. В то же время пока не разработано эффективных вакцин, способных защитить от инфекции, вызванной *B. cereus*. Более того, возможна селекция штаммов *B. anthracis*, обладающих устойчивостью к различным антимикробным препаратам.

Токсины

Для того чтобы штамм *B. anthracis* был достаточно вирулентным, он должен продуцировать оба токсина (летальный и отечный) и обладать способностью к образованию капсулы. Такие штаммы имеют в своем составе *две* плазмиды патогенности:

- рХО1 – кодирует синтез токсинов;
- рХО2 – отвечает за образование антифагоцитарной капсулы, позволяющей возбудителю избежать воздействия иммунной системы [17, 18].

Выработка этих факторов патогенности зависит от ряда условий: концентрации в окружающей среде гидрокарбонатов, определенного температурного режима и др. [19]. Как указывалось, *B. anthracis* вырабатывает *три* термолабильных белка:

- протективный антиген;
- летальный фактор;
- отечный фактор.

Последние 2 белка попарно соединяются с протективным антигеном и образуют 2 экзотоксина, известных как летальный и отечный токсины. Отечный токсин состоит из отечного фактора (89 кД) и протективного антигена (83 кД). Летальный токсин, в свою очередь, также состоит из двух компонентов – летального фактора (90 кД) и протективного антигена [20]. Протективный антиген,

выполняя роль молекулы-переносчика, является необходимым компонентом при реализации токсических эффектов, обусловленных обоими токсинами.

Основная функция протективного антигена – формирование в мембране клетки каналов. Через них внутрь проникают остальные компоненты токсина – отечный и летальный факторы. На первом этапе протективный антиген связывается со специфическими рецепторами на поверхности мембраны клеток млекопитающих – главным образом макрофагов. Они называются АТХ-рецепторами (*anthrax toxin receptor*) и относятся к мембранным белкам I типа [21]. После закрепления на мембране клетки-мишени под действием мембранной протеазы происходит олигомеризация протективного антигена с образованием гептамера (63 кД), который последовательно связывается с отечным или летальным фактором [22]. Образовавшийся комплекс проникает в цитоплазму клетки посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза.

В настоящее время с помощью генно-инженерных методов получен дефектный (мутантный) протективный антиген. Введение экспериментальным животным такого антигена предотвращает развитие болезни из-за нарушения встраивания собственного протективного антигена *B. anthracis* в мембрану клетки-мишени [23].

Летальный токсин – основной фактор патогенности *B. anthracis* – является одной из ведущих причин смерти инфицированных животных. Внутривенное введение его крысам в эксперименте приводит к гибели животных менее чем через 38 мин [24]. Обладая выраженной протеолитической активностью, летальный токсин в сочетании с отечным индуцирует лизис макрофагов, вызывает отек и ингибирует рост клеток в культуре тканей.

После связывания с рецепторами на поверхности макрофагов летальный токсин индуцирует поглощение клеткой кальция и нарушает внутриклеточный синтез макромолекул. Воздействуя на протеинфосфатазы, летальный токсин вызывает апоптоз и некроз клеток, что в конечном итоге приводит к быстрому, в течение 2 ч, лизису макрофагов [25].

Летальный фактор является цинкзависимой протеазой, имеет сложную химическую структуру и состоит из 4 доменов, каждый из которых выполняет специфическую функцию [26].

Отечный фактор представляет собой кальций- и кальмодулинзависимую аденилатциклазу [27, 28], при участии которой синтезируется цАМФ в цитоплазме эукариотических клеток.

Компоненты токсинов *B. anthracis* обладают способностью блокировать фагоцитоз опсонизированных бактерий. Наряду с подавлением фагоцитоза

оба токсина в комбинации ингибируют кислородозависимые бактерицидные системы полиморфноядерных лейкоцитов (нейтрофилов) [16].

Эффекты летального токсина реализуются через активацию ряда цитокинов, в том числе интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли, выделяемых из поврежденных макрофагов и приводящих к нарушению свертывающей системы крови, а также способствующих развитию септического шока и распространенного отека тканей.

Применение антагонистов рецепторов интерлейкина-1 позволяет частично блокировать эффекты летального токсина. Антагонистической активностью в отношении летального токсина обладают и некоторые другие препараты, такие, как каптоприл и хлорохин, а также синтетические белковые структуры, например Vcl-XL-протеин [29, 30]. Более того, в недавних экспериментах на мышах был обнаружен ген *Ltxs1*, кодирующий синтез особого белка (*kinesin-like motor protein*), ответственного за устойчивость макрофагов к летальному фактору *B. anthracis* [31].

Патогенез

Входными воротами инфекции при кожной форме сибирской язвы чаще всего являются микротравмы и повреждения кожи верхних конечностей (50%) и головы (до 30%), реже туловища (3–8%) и нижних конечностей (1–2%). Поражаются в основном открытые участки кожи, имеющие наибольшую вероятность контакта с инфицированным материалом.

Уже через несколько часов после инфицирования начинаются прорастание спор в вегетативные формы и размножение возбудителя в области входных ворот. Лимфогенным путем возбудитель достигает регионарных лимфатических узлов. В них также микроорганизм размножается и продуцирует летальный и отечный токсины, вызывающие соответственно местный некроз и распространенный отек тканей, являющиеся основными характеристиками кожной формы болезни. По мере размножения возбудителя в лимфатических узлах нарастает токсемия, а в ряде случаев развивается бактериемия, сопровождающаяся гематогенным его распространением в различные органы и системы [32].

При ингаляционном поступлении спор возбудителя сибирской язвы в организм не происходит их немедленного прорастания в вегетативные формы. В экспериментах на приматах установлено, что споры могут находиться в альвеолах в неактивном состоянии в течение нескольких недель до тех пор, пока не будут захвачены альвеолярными макрофагами.

Лейкоциты и макрофаги, фагоцитировавшие споры, переносят их в трахеобронхиальные и медиастинальные лимфатические узлы. Здесь споры *B. anthracis* находят благоприятные условия для прорастания в вегетативные формы и размножения возбудителя. Микроорганизмы начинают продуцировать токсины, в результате действия которых возникают отек и характерные для сибирской язвы некротические изменения. Развиваются выраженный медиастинит, геморрагические и некротические изменения плевры с образованием геморрагического выпота. Нарастает отек средостения. Отек может быть значительно выраженным и распространяться по клетчаточным пространствам на шею. Вторичным является поражение трахеи, приводящее к появлению мучительного кашля и стридора.

В результате некроза лимфатической ткани под действием токсинов возбудитель попадает в кровеносное русло. Развивается септическое состояние, сопровождающегося генерализованным поражением различных органов и систем. На аутопсии обнаруживаются распространенные геморрагические и некротические изменения во многих органах и тканях.

Распространяясь гематогенным путем, *B. anthracis* поражает слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта: возникают язвы с развитием желудочно-кишечных кровотечений и образованием мелены. В некоторых случаях развиваются отек и некроз мезентериальных лимфатических узлов.

Гематогенное распространение инфекции в мозговые оболочки приводит к развитию гнойного менингита, который как осложнение наблюдается у 50% пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы [33]. Выброс из поврежденных макрофагов большого количества медиаторов воспаления обуславливает развитие септического шока и ДВС-синдрома.

При алиментарном пути заражения (употребление инфицированного мяса, содержащего большое количество спор), развивается гастроинтестинальная форма сибирской язвы, при которой возбудитель размножается в области входных ворот инфекции и в регионарных лимфатических узлах, что сопровождается воспалительными изменениями в пищевом тракте или кишечнике. В ряде случаев возбудитель проникает в системный кровоток, и болезнь прогрессирует в генерализованную септическую форму, заканчивающуюся у большинства больных летальным исходом.

После перенесенной сибирской язвы образуется стойкий иммунитет.

Клиническая картина

Инкубационный период при сибирской язве зависит от пути передачи инфекции, инфицирующей

дозы возбудителя и колеблется от 1 до 6–7 дней (чаще 2–3 дня). Однако иногда при ингаляционном пути поступления возбудителя в организм инкубационный период может удлиняться до 8 нед. Так, данные, полученные в исследованиях на лабораторных животных, свидетельствуют о том, что длительность инкубационного периода при ингаляционной форме сибирской язвы обратно пропорциональна количеству поступившего в организм возбудителя. Более того, споры *B. anthracis* могут вегетировать в альвеолах организма хозяина еще несколько недель после инфицирования, а назначение антибактериальных препаратов способно увеличивать продолжительность инкубационного периода.

Различают кожную, ингаляционную (легочную) и гастроинтестинальную (кишечную) формы сибирской язвы. Около 95% всех спорадических случаев заболеваний сибирской язвой приходится на кожную форму и лишь 5% – на ингаляционную. Гастроинтестинальная (кишечная) форма сибирской язвы встречается в развивающихся странах. В настоящее время она регистрируется крайне редко: около 1% случаев.

Кожная форма

Различают следующие клинические разновидности кожной формы: сибиреязвенный карбункул, эдематозная, буллезная и эризипелоидная.

Чаще других встречается *сибиреязвенный карбункул*.

Инкубационный период составляет 3–10 дней. Около 80% случаев кожной формы сибирской язвы протекает в виде самоограничивающейся локализованной инфекции, которая через несколько недель даже при отсутствии лечения заканчивается выздоровлением. В ряде случаев процесс может локализоваться на лице, в том числе и на веках [34], приводя к последующей их деформации, требующей проведения сложных косметических операций [35].

Вместе с тем в 20% случаев кожной формы сибирской язвы наблюдается гематогенное и/или лимфогенное распространение инфекции за пределы первичного очага [3]. Развившаяся генерализованная инфекция хорошо поддается антибактериальной терапии, за исключением тех случаев, когда она была начата уже после развития выраженной токсемии. При назначении соответствующей антимикробной терапии летальность составляет менее 1%, в то время как при отсутствии лечения достигает 20% [36].

Клинические проявления кожной формы сибирской язвы настолько типичны, что диагностика ее, как правило, не вызывает затруднений. Клиническая ее картина складывается из местных изменений в области входных ворот инфекции.

Сибиреязвенный карбункул. Вначале появляется красное пятно, которое постепенно начинает вышиться над уровнем кожи и становится внешне похожим на укус насекомого. Образовавшаяся папула превращается в везикулу, затем спустя некоторое время – в пустулу и в конечном итоге формирует язву.

Процесс протекает стремительно. С момента появления пятна до образования пустулы проходит всего несколько часов. Субъективно пациенты отмечают зуд и жжение в месте поражения кожи. Содержимое пустулы имеет темный цвет за счет геморрагического содержимого. При нарушении целостности пустулы образуется язва, покрытая черной коркой. Вокруг центрального струпа в виде ожерелья располагаются вторичные пустулы, при разрушении которых размеры язвы увеличиваются. Вокруг язвенного поражения наблюдаются отек и гиперемия кожи, особенно сильно выраженные при локализации процесса на лице.

Типичный симптом – снижение или полное отсутствие чувствительности в области язвы. Чаще всего язва имеет округлую форму размером от 1 до 3 см в диаметре и характерный черный цвет. Ткани вокруг язвы, как правило, отечны. Период полного развития кожных элементов при данной форме сибирской язвы длится 1–2 дня. В редких случаях язва со струпом окончательно формируется лишь к 6-м суткам болезни. Местные изменения в области язвы постепенно регрессируют, и к концу 2–3-й недели струп отторгается (табл. 1).

Обычно у пациентов наблюдается единичная язва, но иногда поражение может быть множественным (до 10 элементов и более). Увеличение числа язв не влияет на степень тяжести течения и прогноз болезни. У части пациентов развиваются регионар-

ный лимфаденит и лимфаденопатия. Образование газа в глубине мягких тканей и абсцедирование кожных поражений совершенно нехарактерны для сибирской язвы.

Признаки общей интоксикации (лихорадка до 40 °С, общая слабость, головная боль, адинамия, тахикардия) выражены лишь у 50% пациентов и появляются к концу первых – началу вторых суток болезни. Параллельно в крови отмечается лейкоцитоз до $(12-13) \times 10^9/\text{л}$ и выше со сдвигом лейкоцитарной формулы влево. Лихорадка сохраняется, как правило, в течение 5–7 дней. Температура тела снижается критически. У вакцинированных против сибирской язвы людей кожные изменения могут быть незначительными и напоминать обычный фурункул, а общая интоксикация вообще отсутствовать. При локализации первичных кожных элементов на шее у некоторых пациентов резко ухудшается самочувствие, развиваются инфекционно-токсический шок, диспротеинемия, гематурия и электролитные нарушения [37].

Эдематозная (отечная) разновидность кожной формы сибирской язвы наблюдается редко. На начальных этапах болезни она характеризуется развитием отека без поражения кожи в виде карбункула. Протекает более тяжело по сравнению с другими разновидностями кожной формы и сопровождается выраженными симптомами общей интоксикации. Позднее на месте плотного безболезненного отека развивается некроз кожи, который покрывается черным струпом.

Буллезная разновидность кожной формы сибирской язвы бывает редко. При этой форме на месте входных ворот инфекции образуются пузыри, заполненные геморрагической жидкостью. Буллы вскрываются на 5–10-й день от начала болезни.

Таблица 1. Динамика местных изменений при кожной форме сибирской язвы

День болезни	Местные изменения
1–2-й	Инфицирование <i>B. anthracis</i> через повреждения кожи (порезы, ссадины и т. д.). В месте внедрения возбудителя появляется пятно, затем формируется папула до 1 см в диаметре
2–4-й	Появление везикул вокруг папулы. Возможен разрыв везикул с выделением прозрачного содержимого, в котором при окраске метиленовым синим можно обнаружить <i>B. anthracis</i> . Содержимое везикул становится геморрагическим, появляются пустулы. Выраженный отек мягких тканей. При отсутствии вторичной инфекции гной отсутствует. Пораженный участок кожи малоболлезненный или безболезненный при пальпации. Может появляться регионарный лимфаденит. Иногда лимфатические узлы чувствительны при пальпации
5–7-й	После вскрытия пустул формируется характерная язва. При отсутствии вторичной инфекции боль отсутствует, гноя мало, отделяемое геморрагического характера. Нарастает отек, распространяясь на окружающие ткани. При выраженном отеке аффе́кт приобретает характерный черный цвет. При расположении первичного аффе́кта на лице, шее или верхней половине груди выраженность клинических проявлений больше
10-й	Начало разрешения первичного аффе́кта. Процесс может продолжаться до 6 нед (чаще – 2–3 нед)

На их месте образуется обширное некротическое (язвенное) поражение кожи.

Наиболее редко встречается *эризипеллоидная* форма сибирской язвы.

Ингаляционная (легочная) форма

Инкубационный период варьирует в среднем от 3 до 6 дней [38]. Наибольшая его продолжительность зарегистрирована во время вспышки сибирской язвы в Свердловске в 1979 г. – 43 дня [14].

В продромальный период, продолжающийся 1–3 дня, наблюдается клиническая картина умеренно выраженного гриппоподобного синдрома, проявляющегося такими неспецифическими симптомами, как общая слабость, повышение температуры тела до субфебрильного уровня, головная боль, миалгии, непродуктивный кашель, иногда неприятные ощущения в грудной клетке. В отдельных случаях в течение 1–3 дней после появления продромальных симптомов может отмечаться период «мнимого благополучия». Однако у большинства больных резко и быстро прогрессирует ухудшение состояния.

Вторая клиническая фаза болезни характеризуется высокой лихорадкой (40 °С и выше), профузным потоотделением, выраженной одышкой и цианозом в покое, стридором, тахипноэ и кашлем с геморрагической мокротой. В легких выслушивается крепитация, а также выявляются другие признаки пневмонии и экссудативного плеврита. Более того, могут наблюдаться такие симптомы, как тахикардия, кровоточивость, вплоть до появления мелены или маточных кровотечений, острые боли в животе, связанные с кровоизлияниями в слизистую оболочку кишечника.

При дальнейшем прогрессировании болезни формируется картина острого *респираторного дистресс-синдрома* (РДС) и септического шока, приводящих в течение короткого периода (от нескольких часов до 2 сут) к летальному исходу. У части пациентов (до 50%) развивается геморрагический менингит, сопровождающийся нарушением сознания вплоть до делирия и комы. Это осложнение является, как правило, фатальным, поскольку к моменту установления диагноза менингита продукция токсинов уже достигает значительного уровня, вызывающего в организме изменения, несовместимые с жизнью.

Причиной смерти при ингаляционной форме сибирской язвы является инфекционно-токсический шок. При развитии инфекционно-токсического шока летальность составляет 100% при отсутствии лечения, а если терапия была начата позднее 48 ч с момента появления первых клинических симптомов бактериемии – 95% [13].

Гастроинтестинальная форма

Гастроинтестинальная форма сибирской язвы характеризуется признаками острого воспаления верхних и/или нижних отделов желудочно-кишечного тракта. Инкубационный период составляет 1–7 дней. Выделяют *два* типичных варианта гастроинтестинальной формы – кишечный и орофарингеальный.

Клиническая картина *кишечного варианта* гастроинтестинальной формы сибирской язвы представлена неспецифическими симптомами воспаления тонкой кишки и в большей степени толстой – тошнотой, рвотой, анорексией и лихорадкой. Постепенно к ним присоединяются боли в животе различной локализации, рвота с примесью крови, кровавистая диарея.

При обследовании пациента выявляются вздутие и резкая разлитая болезненность живота, положительные симптомы раздражения брюшины. По мере прогрессирования болезни развивается инфекционно-токсический шок, приводящий к гибели пациентов.

В целом время развертывания клинической картины от первых симптомов болезни до гибели пациента составляет 2–5 дней. На аутопсии местные воспалительные и некротические изменения чаще всего обнаруживаются в области слепой кишки и прилегающих к ней отделах кишечника [16].

При *орофарингеальном варианте* гастроинтестинальной формы сибирской язвы отек и некроз тканей развиваются в области шеи [39]. Некоторыми авторами описаны местные воспалительные изменения в ротовой полости, похожие на первичный аффе́кт при кожной форме сибирской язвы. Процесс обычно локализуется на задней стенке глотки, основании языка или миндалин, реже – на твердом небе. Характерными являются такие клинические симптомы, как лихорадка, дисфагия и регионарная лимфаденопатия. Также могут отмечаться боль в грудной клетке и одышка. Наиболее частой причиной смерти пациентов являются токсемия и септический шок.

Частота летальных исходов при гастроинтестинальной форме сибирской язвы остается неизвестной. Однако, по данным разных авторов, колеблется от 25 до 60% [40, 41].

Диагностика сибирской язвы

Кожная форма

Предварительный диагноз кожной формы сибирской язвы может быть поставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (профессия

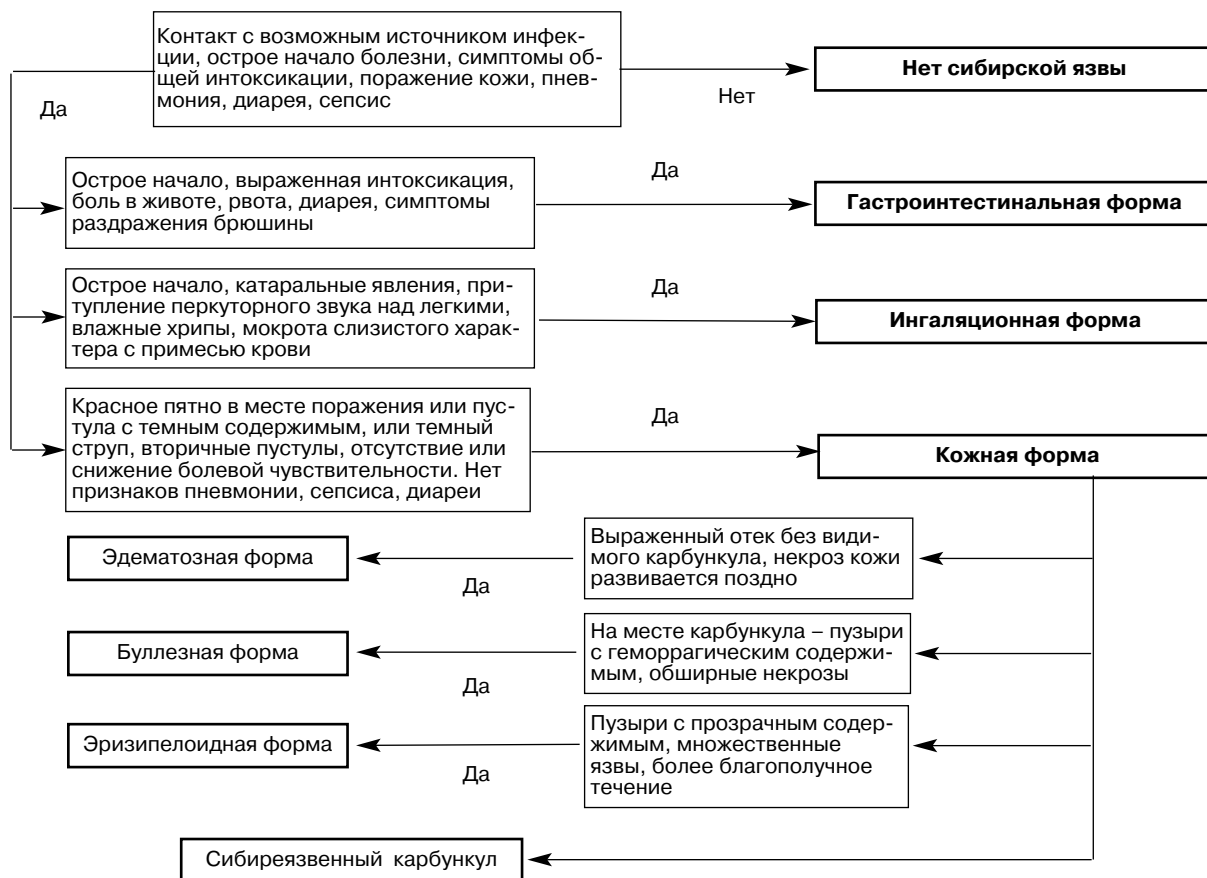
пациента, подозрение на контакт с инфицированными продуктами животноводства или инфицированными животными), типичной клинической картины болезни (безболезненная язва, локализуемая на открытом участке кожи, покрытая черным струпом, напоминающим уголь, окруженная зоной гиперемии и отека, а в некоторых случаях – венчиком из пустул) и динамики развития кожных изменений (см. рисунок).

Для подтверждения диагноза используются традиционные микробиологические методы. Предварительные результаты могут быть получены при окрашивании по Граму мазков клинического материала, взятого с пораженного участка, в которых обнаруживаются крупные грамположительные палочки. Исследуют содержимое везикул или мазки, взятые со дна язвенного дефекта или из-под некротического струпа.

Для окончательного подтверждения диагноза проводят культуральное исследование полученного материала. Вероятность получения положитель-

ных результатов при культуральном исследовании невысока и составляет от 10 до 40% в первые 3 нед болезни [16]. На результаты культурального исследования неблагоприятно влияет предшествующая антибактериальная терапия, которая уже в течение первых 24 ч приводит к эрадикации вегетативных форм *B. anthracis*. В связи с этим у пациентов, получающих antimicrobные препараты, а также при отрицательных результатах микроскопии и культурального исследования для диагностики кожной формы сибирской язвы используют серологические методы.

Диагностические титры специфических антител более чем у 90% пациентов с кожной формой сибирской язвы начинают выявляться с 3-й недели и определяются на протяжении 6 мес от начала болезни [42]. Более того, в данной ситуации можно выполнить пункционную биопсию кожи в центре первичного аффекта с последующим иммуногистохимическим исследованием полученного материала или окраской его серебром [43].



Клиническая диагностика различных форм сибирской язвы

Ингаляционная форма

Ранняя клиническая диагностика ингаляционной формы сибирской язвы крайне затруднительна в связи с неспецифичностью начальных симптомов и их сходством с другими болезнями верхних дыхательных путей.

Внезапное появление в регионе большого количества пациентов с острым началом заболевания, протекающим в виде умеренно выраженного гриппоподобного синдрома, и последующим резким ухудшением состояния, нарастанием дыхательной недостаточности и прогрессирующим развитием бактериемии, сепсиса и токсического шока, высокой (до 80%) частотой летальных исходов, половина из которых возникает в течение 24–48 ч, позволяет с высокой степенью вероятности предположить диагноз ингаляционной формы сибирской язвы или легочной формы чумы. Затрудняет постановку диагноза относительно удовлетворительное состояние пациентов на ранней стадии болезни.

Тем не менее диагноз ингаляционной формы сибирской язвы может быть поставлен на основании комплексной оценки необычных рентгенологических данных, результатов микробиологического исследования и распознавания специфических патогистологических изменений, обнаруживаемых на аутопсии.

Рентгенологические изменения, представленные плевритом и выраженным расширением тени средостения, при высокой лихорадке и соответствующей клинической картине гриппоподобного синдрома у ранее здоровых пациентов в отсутствие других очевидных причин (тупая травма легкого, послеоперационная инфекция) являются патогномоничными для более поздних стадий сибирской язвы. Лишь в редких случаях на рентгенограмме выявляются признаки истинной пневмонии, представленные инфильтративными тенями. Однако перечисленные рентгенологические изменения могут отсутствовать или быть незначительными при первичном обследовании пациента и развиваются лишь на более поздних стадиях болезни. Несмотря на то что они обнаруживаются на той стадии, когда исход болезни у конкретного пациента уже определен, это может способствовать ранней диагностике сибирской язвы у других больных.

По сравнению с традиционным рентгенологическим исследованием компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки обладает большей чувствительностью и достоверностью получаемых результатов. Этот метод позволяет выявить геморрагические изменения в медиастинальных лимфа-

тических узлах, отек средостения, перибронхиальное уплотнение и плевральный выпот, характерные для ингаляционной формы сибирской язвы. Увеличение на КТ плотности медиастинальных и трахеобронхиальных лимфатических узлов в сочетании с признаками отека средостения позволяет предположить диагноз сибирской язвы.

В полученном с помощью плевральной пункции выпоте при окраске по Граму и культуральном исследовании также могут обнаруживаться *B. anthracis*. Однако геморрагический плеврит развивается, как правило, уже после госпитализации пациента, то есть в поздние сроки болезни.

Основными в диагностике ингаляционной формы сибирской язвы являются традиционные методы микробиологического исследования. На более поздних стадиях болезни при отсутствии лечения количество возбудителя в крови, как правило, велико, в связи с чем он может обнаруживаться при микроскопии нативных мазков крови, окрашенных по Граму. В то же время с учетом отсутствия истинного пневмонического процесса обнаружение возбудителя при окраске по Граму и культуральном исследовании мокроты маловероятно [6].

Наиболее ценным диагностическим тестом, подтверждающим диагноз ингаляционной формы сибирской язвы, является культуральное исследование крови, при котором рост возбудителя обнаруживается уже через 6–24 ч. При условии, что лаборатория подготовлена к возможному поступлению материала от пациентов с сибирской язвой, проведение биохимических тестов и определение морфологии возбудителя позволяют дать предварительный ответ уже в течение 12–24 ч.

Для получения окончательного диагноза требуется проведение дополнительных тестов, занимающих от 24 до 48 ч. Однако в обычных условиях лаборатории способны идентифицировать микроорганизмы рода *Bacillus* только после 24 ч с момента появления роста колоний. Большинство же лабораторий вообще не проводит идентификацию до вида при отсутствии специального запроса, что связано с частым присутствием в образцах в качестве контаминанта *B. cereus*.

Серологическая диагностика сибирской язвы основана на обнаружении специфических антител к летальному и отечному токсинам, а также протективному антигену.

Иммуноферментный анализ (ИФА), используемый для определения IgG-антител к протективному антигену *B. anthracis*, является высокочувствительным (98,6%) методом, однако специфичность его составляет около 80%. Для повышения специфичности в качестве второго подтверждающего

этапа используется ИФА с конкурентным ингибированием протективного антигена. Предварительные исследования показывают, что специфические IgG-антитела к протективному антигену определяются уже на 10-е сутки от начала болезни, в то время как максимальная концентрация антител может не развиваться в крови вплоть до 40-х суток.

Обнаружение методом ИФА 4-кратного нарастания титра специфических антител к летальному токсину *B. anthracis* в парных сыворотках, взятых с интервалом в 4 нед, или однократное обнаружение антител в титре ≥ 32 также свидетельствует о сибирской язве [1, 44].

Важную роль в диагностике ингаляционной формы сибирской язвы может играть иммуногистохимическое исследование плеврального выпота или материала, полученного при трансбронхиальной биопсии, в котором используются антитела к клеточной стенке и капсуле *B. anthracis*. Более того, с помощью этого метода можно обнаружить как сам возбудитель, так и его отдельные антигены.

Такие методы быстрой диагностики, как ИФА с определением антител к протективному антигену, полимеразная цепная реакция и иммуногистохимические тесты, в настоящее время доступны только крупным референтным лабораториям. Учитывая это, а также время, необходимое для пересылки материала и проведения анализа, эти методы главным образом должны использоваться для подтверждения диагноза сибирской язвы и определения чувствительности возбудителя к антибиотикам.

Использование современных молекулярно-биологических методов исследования позволяет не только быстро и достоверно обнаруживать *B. anthracis* в различных биологических материалах и почве, но и типировать штаммы с целью установления общего источника инфекции [45].

Так, изучение последовательности ДНК *вариабельного участка гена vrrA* (VNTR) *B. anthracis* позволило установить существование 5 генотипов возбудителя сибирской язвы. Наибольшее распространение в Европе имеют штаммы с генотипами VNTR₃ и VNTR₄. Исследование штаммов *B. anthracis*, циркулирующих в Южной Африке, также выявило неоднородность популяции возбудителя в этом регионе [46].

Диагноз ингаляционной формы сибирской язвы может быть поставлен во время аутопсии пациента, умершего от необъяснимого фульминантно протекавшего заболевания. Геморрагический некротизирующий лимфаденит торакобронхиальных лимфатических узлов и геморрагический некротизирующий медиастинит у ранее здорового человека являются патогномоничными патогистологиче-

скими признаками ингаляционной формы сибирской язвы [33].

Изменения, характерные для геморрагического менингита, также с высокой степенью вероятности позволяют заподозрить сибирскую язву. Однако в связи с редкой встречаемостью сибирской язвы маловероятно, что патологоанатом уже на аутопсии правильно распознает эти изменения. Если во время вскрытия диагноз не был поставлен, то для подтверждения этиологии болезни потребуется несколько дней, пока не будут получены результаты микроскопического исследования мазков, взятых из органов и тканей.

Гастроинтестинальная форма

Клиническая диагностика гастроинтестинальной формы сибирской язвы, проявляющейся неспецифическими симптомами острого инфекционного гастроэнтерита или энтероколита, как и ингаляционной формы, возможна только при подозрении на использование бактериального аэрозоля или наличии эпидемиологических данных о возможном употреблении пациентом мяса инфицированных животных.

Подтверждением диагноза служит выделение культуры *B. anthracis* из рвотных масс и испражнений. С учетом того, что гастроинтестинальная форма протекает в виде системной инфекции, для диагностики ее может быть использовано выделение гемокультуры *B. anthracis*.

Еще одним тестом, используемым для диагностики инфекции, вызванной *B. anthracis*, является *тест на определение уровня токсиннейтрализующих антител* (TNA-test – *toxin-neutralizing antibody assays*) [47, 48].

Кожная аллергическая проба. В 1962 г. в СССР для оценки приобретенного иммунитета против сибирской язвы было предложено использовать кожную аллергическую пробу с антраксином [16].

Антраксин вводят внутривожно в дозе 0,1 мл. Результаты пробы учитывают через 24 и 48 ч. Реакция считается положительной, если образуются гиперемия и инфильтрат диаметром 10 мм и более, которые сохраняются при оценке через 48 ч. В первые 3 сут болезни положительная реакция может быть выявлена в 81,8% случаев, на 2–3-й неделе – в 97–99%. Кожная аллергическая проба остается положительной в течение 1,5 мес у 98,5% реконвалесцентов сибирской язвы, в последующие 3 года – у 92,8%, 4–15 лет – у 82,8%, через 16–31 год – у 72,7%.

Таким образом, кожная проба с антраксином теоретически может быть использована как для ранней, так и ретроспективной диагностики сибирской язвы у людей [49].

Дифференциальный диагноз

Кожную форму сибирской язвы необходимо дифференцировать с другими зоонозами – с бубонной формой туляремии и чумы, сапом, натуральной оспой, укусом коричневого паука-отшельника, некротической формой простого герпеса (табл. 2).

Следует помнить, что у пациентов с кожной формой сибирской язвы возможно присоединение вторичной бактериальной инфекции, вызванной стафило- или стрептококками, в связи с чем возможны увеличение лихорадки, боль в области первичного аффекта, обильное гноетечение и формирование абсцессов. В таких случаях кожную форму следует также дифференцировать от стафило- и стрептодермий, фурункула, карбункула, эктимы, рожистого воспаления.

Ингаляционная форма сибирской язвы на ранних стадиях протекает в виде умеренно выраженного гриппоподобного синдрома. Однако дифференциальный диагноз его с гриппом и другими *остры-*

ми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) на основании клинических данных практически невозможен. Частота развития некоторых симптомов может оказать некоторую помощь в дифференциальной диагностике сибирской язвы, однако в целом она не имеет решающего значения.

Так, в отличие от ингаляционной формы сибирской язвы у взрослых пациентов с гриппом или другими ОРВИ относительно редко наблюдаются одышка и рвота (у 6 и 12% соответственно). В то же время в подавляющем большинстве случаев (в отличие от пациентов с сибирской язвой) у них имеются воспалительные изменения в ротоглотке, заложенность носа и ринит.

Наличие в анамнезе у пациента вакцинации против гриппа не может окончательно исключить ОРВИ при дифференциальной диагностике сибирской язвы, так как гриппоподобный синдром может развиваться и при инфекциях, вызванных другими возбудителями. Более того, вакцина против гриппа не обладает 100% эффективностью. Результаты

Таблица 2. Дифференциальный диагноз кожной формы сибирской язвы

Диагностический критерий	Сибирская язва	Чума	Туляремия	Болезнь «кошачьей царапины»
Эпидемиологические данные	Профессиональный контакт с животными, продуктами животноводства (шкура, шерсть, мясо и т. д.) из эндемического очага, контакт с больными и павшими животными	Пребывание в эндемичном по чуме очаге, контакт с возможными источниками и переносчиками инфекции (грызуны, зайцы, зайцеобразные, блохи, больные люди)	Пребывание в эндемичном очаге по туляремии, укусы кровососущих насекомых, контакт с грызунами	Контакт с кошкой (95%). Неэндемичное заболевание
Начало болезни	Острое	Внезапное	Острое	Постепенное
Первичный аффект и динамика его развития	Четкая динамика развития: пятно – папула – везикула – пустула – язва; появление вторичных пустулезных элементов вокруг первичного очага, резкое снижение чувствительности, вплоть до анестезии	В большинстве случаев четкая динамика развития: пятно – папула – везикула – пустула – язва; резкая болезненность, ограничение подвижности конечности	Рубец (70%)	Длительно незаживающая царапина с последующим развитием лимфаденита, часто без интоксикации
Лимфаденит	Не характерен	Интоксикация опережает развитие бубона (чаще в паховой и подмышечной областях). Контуры нечеткие, спаяны с кожей, окружающими тканями (периаденит). Частое нагноение, вскрытие, формирование чумных фликтен и вторичных бубонов. Исход в склероз наблюдается редко	Бубон часто развивается одновременно с усилением интоксикации, более медленно. Четкие контуры, нет периаденита, чаще медленное обратное развитие с исходом в склероз	Шейный, подмышечный лимфаденит возникает через 2–4 нед после инфицирования, в 70% случаев без интоксикации. Лимфатические узлы болезненные, не спаяны с окружающими тканями, нагнаиваются в 50% случаев

различных экспресс-методов диагностики гриппа также не могут быть основанием для дифференциальной диагностики в связи с большими колебаниями чувствительности и специфичности (45–90 и 60–95% соответственно) [50].

Ингаляционную форму сибирской язвы в «развернутой» стадии болезни дифференцируют с легочной формой чумы, туляремии, мелиоидозом, легионеллезом и тяжелыми внебольничными пневмониями различной этиологии (табл. 3).

Классические рентгенологические признаки сибирской язвы – расширение тени средостения и плевральный выпот – не являются специфичными и требуют проведения дифференциальной диагностики с гистоплазмозом, саркоидозом, туберкулезом легких и лимфомой средостения.

Гастроинтестинальную форму сибирской язвы, учитывая неспецифичность ее ранних клинических проявлений, необходимо дифференцировать с язвенным кровотечением, брюшным тифом, кишечной формой туляремии, острыми инфекционными диареями различной этиологии.

Сибирезявенный геморрагический менингит в некоторых случаях необходимо дифференцировать с субарахноидальным кровоизлиянием.

Лечение

Природные штаммы *B. anthracis*, в том числе и штаммы, выделенные в США осенью 2001 г., чувст-

вительны ко многим антибиотикам, включая пенициллин, амоксициллин, доксициклин, тетрациклин, кларитромицин, клиндамицин, рифампицин, ванкомицин, хлорамфеникол и цiproфлоксацин.

По данным *in vitro* исследований, цефазолин и другие цефалоспорины I поколения также активны в отношении *B. anthracis*. Выделенные в США осенью 2001 г. 11 штаммов возбудителя сибирской язвы оказались умеренно резистентными к эритромицину и азитромицину.

Несмотря на то что долгое время пенициллин был препаратом выбора для лечения сибирской язвы, встречаются, хотя и в редких случаях, природные штаммы *B. anthracis*, резистентные к пенициллину. В связи с этим пенициллин уже не может считаться препаратом выбора для лечения различных форм сибирской язвы. Более того, уже описаны случаи развития резистентности у штаммов *B. anthracis* при культивировании ее на средах, содержащих субингибирующие концентрации некоторых антибиотиков (доксициклин, эритромицин, азитромицин, кларитромицин, цiproфлоксацин, алатрофлоксацин, гатифлоксацин).

Так, в одном исследовании после нескольких пассажей возбудителя на среде с каким-либо фторхинолоном наблюдалось повышение МПК для всех антибиотиков этой группы, также были получены штаммы, резистентные к доксициклину [51]. Устойчивые к доксициклину штаммы, хотя и

Таблица 3. Дифференциальный диагноз ингаляционной формы сибирской язвы

Диагностический критерий	Сибирская язва	Чума	Крупозная пневмония
Начало болезни	Острое	Острейшее при первичной чуме, на фоне кожной и кожно-бубонной форм – острое	Острое
Катаральные явления	Редко	Отсутствуют	Часто
Инфекционно-токсическая энцефалопатия	Менее выражена	Резко выражена, в динамике заболевания выходит на первый план	Умеренно выражена
Аускультативные данные	Разнообразные	Скудные	Типичные для пневмонии
Болевой синдром	Умеренно выражен	Не выражен или отсутствует	Выражен
Характер мокроты	Слизистая, примесь крови незначительная, при бактериоскопии выявляются большие грамположительные палочки с отчетливо определяемой капсулой	Жидкая, с примесью алой несворачивающейся крови, при бактериоскопии – огромное количество биполярно окрашенных палочек	Слизисто-гнойная, «ржавая», при микроскопии – кокковая или смешанная микрофлора
Другие симптомы	Конъюнктивит выражен слабо	Часто конъюнктивит, язык с белым налетом («меловой»). При вторичной чуме – признаки кожной или кожно-бубонной формы	Часто наблюдаются герпетические высыпания на губах

редко, но встречаются в естественных условиях [13].

Необходимо отметить, что при исследовании генома была обнаружена способность *B. anthracis* продуцировать β -лактамазы: индуцибельную пенициллиназу класса А и конститутивную цефалоспоринолазу класса В, обеспечивающую резистентность к цефалоспорином II–III поколений [43]. Наличие индуцибельной пенициллиназы класса А заставляет задуматься над оправданностью применения пенициллинов, особенно при ингаляционной форме сибирской язвы, когда микробная популяция особенно велика. Более того, β -лактамы плохо проникают в макрофаги – клетки, где споры трансформируются в вегетативные формы. По результатам исследований *in vitro*, возбудитель сибирской язвы также устойчив к сульфаметоксазолу, триметоприму, ко-тримоксазолу, азтреонаму [52, 53, 54].

Кожная форма

Кожная форма сибирской язвы представляет собой самоограничивающееся состояние, которое лишь в некоторых случаях прогрессирует в генерализованную инфекцию. Однако даже при генерализации болезнь хорошо поддается адекватной, своевременной назначенной терапии и заканчивается летальным исходом менее чем в 1% случаев [36].

Длительное время препаратом выбора для лечения кожной формы сибирской язвы был бензилпенициллин. Однако в последнее время стали появляться сообщения о существовании пенициллино-резистентных штаммов *B. anthracis*. В связи с этим в качестве препарата выбора используется ципрофлоксацин, который назначается внутрь по 500 мг 2 раза в сутки [36, 55]. Новые фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин, тровафлоксацин) обладают такой же эффективностью в отношении *B. anthracis*, как ципрофлоксацин и офлоксацин. В качестве альтернативного препарата может использоваться доксициклин внутрь по 100 мг 3 раза в сутки [36].

Необходимо отметить, что пенициллин не утратил до конца своего практического значения при лечении кожной формы сибирской язвы. Однако с учетом новых данных о резистентности *B. anthracis* препараты группы пенициллина могут быть использованы только при доказанной к ним чувствительности выделенного возбудителя сибирской язвы (табл. 4).

Многие специалисты продолжают рекомендовать как можно более быстрый переход на препараты этой группы при получении данных, подтверждающих чувствительность к ним выделенного штамма *B. anthracis* [36].

Рекомендуемая длительность терапии в случаях локализованной (неосложненной) кожной формы сибирской язвы составляет 7–10 дней [56]. Указанные сроки лечения могут быть использованы только в тех ситуациях, когда полностью исключается поступление возбудителя в организм ингаляционным путем, что бывает в спорадических случаях болезни, связанных с инфицированием человека в результате контакта с больными животными в эндемичных по сибирской язве регионах.

При развитии у больных кожной формой сибирской язвы поражения органов и систем или формировании распространенного отека, как и при локализации первичного аффекта на лице и шее, необходимо использовать комбинацию антибактериальных препаратов, состоящую из ципрофлоксацина или доксициклина в сочетании с одним из препаратов, к которым возбудитель чувствителен по данным *in vitro* исследований. В этом случае препараты вводятся внутривенно в высоких дозах в сочетании с интенсивной поддерживающей терапией. В целях ликвидации распространенных отеков, а также при отеках лица и шеи (при локализации поражения в этой области) рекомендуется использовать глюкокортикоиды [56].

Неизвестно, представляют ли новорожденные и дети раннего возраста группу повышенного риска генерализации инфекции при кожной форме болезни. Однако у одного 7-месячного ребенка, инфици-

Таблица 4. Основные режимы антибактериальной терапии, используемые при лечении спорадических случаев кожной формы сибирской язвы, не связанных с использованием *B. anthracis* в качестве биологического оружия [36]

Антибиотик	Режим дозирования	Длительность терапии, сут
Ципрофлоксацин	Внутрь 500 мг 2 раза в сутки	7–10
Доксициклин	Внутрь 100 мг 3 раза в сутки	7–10
Прокаин пенициллин	Внутримышечно 600 тыс. МЕ каждые 6 или 8 ч	7–10
Феноксиметилпенициллин	Внутрь 500 мг каждые 6 ч	7–10
Амоксициллин	Внутрь 500 мг 3 раза в сутки	7–10

рованного во время вспышки сибирской язвы в США, симптомы системного поражения органов и систем развились уже с первых дней кожной формы болезни [57]. В связи с этим стартовая терапия кожной формы сибирской язвы у детей раннего возраста, например до 2 лет, должна проводиться как и при системном поражении у взрослых [58].

В условиях использования возбудителя сибирской язвы в качестве биологического оружия длительность антибактериальной терапии кожной формы с учетом предполагаемого ингаляционного пути поступления в организм должна составлять не менее 60 дней [56]. Это позволяет предотвратить реактивацию латентной инфекции, вызванной попаданием в легкие спор *B. anthracis*, способных к длительной персистенции.

Так, у всех 11 пациентов с кожной формой сибирской язвы (доказанной и предполагаемой), связанной со вспышкой в США осенью 2001 г., с учетом риска развития ингаляционной формы болезни курс соответствующей терапии составил 60 дней. Принципы и режимы антибактериальной терапии, используемые у различных контингентов населения при лечении кожной формы сибирской язвы, развившейся в результате применения *B. anthracis* в качестве биологического оружия, представлены в табл. 5 [56].

Ингаляционная форма

Ингаляционная форма сибирской язвы в естественных условиях встречается крайне редко (5% случаев) и носит в основном профессиональный характер, обусловленный вдыханием спор возбудителя при контакте с инфицированными продуктами животноводства. В то же время эта форма является основной у лиц, подвергшихся воздействию бактериального аэрозоля, содержащего споры *B. anthracis*, при использовании этого микроорганизма в качестве биологического оружия. В последнем случае рекомендации по лечению имеют некоторые особенности, связанные с возникновением большого количества пострадавших, быстро прогрессирующим течением болезни и особенностями используемых штаммов возбудителя (возможность резистентности к традиционным антимикробным препаратам).

Первое жизненно необходимое условие эффективного лечения ингаляционной формы сибирской язвы – как можно более раннее назначение антибактериальной терапии, что, естественно, возможно только при раннем выявлении и распознавании болезни.

Антибиотикотерапия должна быть начата **немедленно** при появлении первых клинических симптомов предполагаемой сибирской язвы (в продромальной стадии), не ожидая получения резуль-

Таблица 5. Рекомендации по лечению кожной формы сибирской язвы в условиях применения *B. anthracis* в качестве биологического оружия [56]

Контингент	Стартовая антибактериальная терапия (пероральные формы препаратов) ³	Длительность терапии, сут
Взрослые ¹	Ципрофлоксацин по 500 мг 2 раза в сутки <i>или</i> Доксициклин по 100 мг 2 раза в сутки	60
Дети ¹	Ципрофлоксацин 10–15 мг/кг каждые 12 ч (максимальная доза – не более 1 г/сут) <i>или</i> Доксициклин (>8 лет и >45 кг – 100 мг каждые 12 ч, >8 лет и ≤45 кг – 2,2 мг/кг каждые 12 ч, ≤8 лет – 2,2 мг/кг каждые 12 ч)	60
Беременные ^{1,2}	Ципрофлоксацин 500 мг 2 раза в сутки <i>или</i> Доксициклин по 100 мг 2 раза в сутки	60
Лица с иммунодефицитными состояниями ¹	Режимы терапии такие же, как и для взрослых и детей с нормальной функцией иммунной системы	60

¹ При системном поражении, распространенном отеке, локализации поражения на лице или шее используется комбинация ципрофлоксацина или доксициклина с одним из антимикробных препаратов, к которым чувствительны природные штаммы *B. anthracis* (все препараты вводятся внутривенно).

² Нежелательные лекарственные реакции, связанные с нарушением развития зубов и костной ткани, являются дозозависимыми; таким образом, доксициклин может использоваться в течение короткого времени (7–14 дней) в первые 6 мес беременности.

³ Амоксициллин внутрь в дозе 500 мг 3 раза в сутки для взрослых или 80 мг/(кг-сут) каждые 8 ч для детей является альтернативным препаратом для завершения терапии после улучшения состояния.

татов микробиологического исследования. Известно, что летальность при ингаляционной форме составляет 95%, если соответствующая антибактериальная терапия была назначена позднее 48 ч с момента развития начальных симптомов или уже при развернутой картине бактериемии, генерализованного поражения органов и систем или осложнениях.

В качестве стартовой антибактериальной терапии ингаляционной формы сибирской язвы рекомендуется ципрофлоксацин, эффективность которого доказана в экспериментах на животных моделях. Использование его в качестве препарата выбора при этой форме болезни объясняется высокой чувствительностью к нему всех природных штаммов *B. anthracis*.

Как уже указывалось, другие препараты группы фторхинолонов обладают такой же активностью в отношении *B. anthracis*, как и ципрофлоксацин. Однако в условиях большого количества пораженных, требующих назначения антибиотиков, следует учитывать более высокую стоимость и ограниченную доступность новых фторхинолонов. Более того, их эффективность не исследована в экспериментах на приматах, являющихся наиболее близкой к человеку моделью изучения сибирской язвы.

В качестве альтернативного препарата при назначении эмпирической антибактериальной терапии может использоваться доксициклин в дозе 100 мг 2 раза в сутки [6, 56]. При большом количестве пострадавших более низкая стоимость препарата, чем фторхинолонов, может оказаться выгодным преимуществом. В то же время необходимо помнить о существовании доксициклинорезистентных штаммов *B. anthracis*. Более того, доксициклин не должен использоваться при подозрении на развитие сибиреязвенного менингита, что объясняется его плохим проникновением через гематоэнцефалический барьер. При длительном лечении доксициклином, учитывая его гепатотоксичность, следует периодически контролировать функцию печени.

Учитывая опыт лечения пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы, вовлеченных во вспышку в США осенью 2001 г., CDC в качестве стартовой терапии пациентов с ингаляционной формой болезни, а также больных с системными проявлениями заболевания, рекомендует использовать комбинацию антимикробных препаратов [36].

Таким образом, комбинированная антибактериальная терапия должна включать ципрофлоксацин или доксициклин в качестве препарата выбора в сочетании с одним из антибиотиков, к которому чувствительны (по результатам *in vitro* исследований и экспериментов на животных моделях) природные штаммы *B. anthracis* [43].

Так, во время вспышки в США для лечения пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы использовалась комбинация ципрофлоксацина и рифампицина, вводимых внутривенно, в сочетании с одним из трех препаратов: клиндамицином, ванкомицином или бензилпенициллином. Использование комбинации препаратов позволяет одновременно эмпирическим путем покрыть широкий спектр других вероятных патогенов [43].

В дальнейшем после получения результатов исследования чувствительности к антибиотикам выделенного в конкретном случае штамма возбудителя и по мере улучшения состояния пациента можно перейти к другому, оптимальному режиму антибактериальной терапии, включающему использование более доступного, эффективного и обладающего минимальной токсичностью антибиотика.

Все более сложным становится вопрос о возможном использовании пенициллинов для лечения ингаляционной формы сибирской язвы. Это связано с появлением штаммов, продуцирующих β -лактамазы [59]. Так, результаты определения последовательности ДНК штаммов *B. anthracis*, выделенных в США осенью 2001 г., продемонстрировали возможность синтеза 2 видов β -лактамаз: индуцибельной пенициллиназы класса А и конститутивной цефалоспорины класса В [43]. Тревогу вызывает возможность индукции синтеза пенициллиназы при лечении β -лактамами антибиотиками, особенно в ситуациях, когда возбудитель присутствует в организме в большом количестве, что характерно для ингаляционной формы болезни.

Согласно данным литературы, некоторые штаммы *B. anthracis*, не продуцирующие в норме β -лактамазы (МПК пенициллина 0,06 мг/л), при использовании полусинтетических пенициллинов становятся β -лактамазопозитивными с МПК до 64 мг/л [54]. Кроме того, β -лактамы антибиотиков плохо проникают в макрофаги – место, где споры прорастают в вегетативные формы *B. anthracis*. В связи с перечисленными фактами препараты группы пенициллинов могут быть использованы для лечения ингаляционной формы болезни только после микробиологического подтверждения чувствительности к ним выделенного штамма сибиреязвенной палочки.

Препараты для стартовой терапии ингаляционной формы сибирской язвы должны назначаться в парентеральной форме. Тем не менее как можно раньше, по мере улучшения состояния пациента и регресса клинических симптомов следует переходить на пероральный прием антибиотиков. Исключение составляют ситуации, при которых количество лиц, пострадавших в результате применения бактериального аэрозоля и нуждающихся в анти-

бактериальной терапии, велико. В этом случае антибактериальная терапия проводится препаратами для приема внутрь [6].

Продолжительность антибактериальной терапии у пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы должна составлять не менее 60 дней. Необходимость длительного приема антимикробных препаратов обусловлена феноменом «отсроченного прорастания спор» *B. anthracis*. Сущность феномена заключается в том, что ингалированные споры возбудителя сибирской язвы могут длительно, в течение нескольких недель персистировать в неактивном состоянии в альвеолах до тех пор, пока не будут захвачены альвеолярными макрофагами. Только после этого начинается их прорастание в вегетативные формы и размножение.

В то же время антимикробные препараты обладают активностью только в отношении прорастающих спор и размножающихся вегетативных форм. Исходя из этого развитие болезни предотвращается до тех пор, пока в организме поддерживается терапевтическая концентрация антибиотика, обеспечивающая полное уничтожение размножающихся форм *B. anthracis*.

После преждевременного прекращения антибактериальной терапии сохранившиеся споры возбудителя при условии, что их количество достаточно велико, чтобы преодолеть защитные силы макроорганизма, могут вызвать рецидив болезни. Однако необходимо отметить, что этот феномен никогда не наблюдается при кожной и гастроинтестинальной формах сибирской язвы [60].

Для лечения детей с ингаляционной формой сибирской язвы в качестве стартовой терапии, как и у взрослых, рекомендуется использовать фторхинолоны, в частности ципрофлоксацин. Применение препаратов этой группы запрещено у детей в возрасте до 16 лет в связи с возможностью развития артропатии. Тем не менее высокий риск развития летального исхода сибирской язвы, вызванной возбудителем, предположительно резистентным к другим антибактериальным препаратам, определяет необходимость их использования как в условиях массового поражения, так и при ограниченном количестве пострадавших. После получения данных, подтверждающих чувствительность выделенного возбудителя к пенициллинам, для дальнейшего продолжения терапии необходимо перейти от фторхинолонов к препаратам этой группы [58].

Третья альтернатива – доксициклин. Он также запрещен для использования у детей в возрасте до 9 лет в связи с возможностью нарушения линейного роста костей и изменения цвета зубов. Однако с учетом более высокого риска летального исхода при

сибирской язвы он может применяться для лечения в условиях ограниченного снабжения фторхинолонами или при аллергических реакциях пациента на ципрофлоксацин и пенициллины [6]. В этом случае доксициклин назначается в следующих возрастных дозах: для детей с массой тела >45 кг – взрослая доза (внутривенно или внутрь 100 мг 2 раза в сутки), для детей с массой тела ≤45 кг – внутривенно или внутрь из расчета 2,5 мг/кг каждые 12 ч [6].

Для терапии ингаляционной формы сибирской язвы у беременных, кормящих грудью женщин и лиц с иммунодефицитными состояниями используются те же препараты и режимы дозирования, что и у взрослых [56]. Необходимость использования перечисленных препаратов, несмотря на риск токсического действия на плод и детей, находящихся на грудном вскармливании, определяется их эффективностью и большей безопасностью по сравнению с высокой вероятностью летального исхода при ингаляционной форме сибирской язвы.

Подробно рекомендуемые режимы антибактериальной терапии у различных контингентов населения представлены в табл. 6 и 7.

Одно из ключевых условий эффективного лечения ингаляционной формы сибирской язвы помимо своевременного назначения соответствующих антимикробных препаратов – интенсивная поддерживающая терапия.

Повторные плевральные пункции с целью удаления рецидивирующего выпота, который, как правило, бывает геморрагическим, значительно улучшают состояние пациента.

Гастроинтестинальная форма

Для лечения гастроинтестинальной и орофарингеальной форм сибирской язвы используются принципы и режимы антибактериальной терапии, как и для лечения ингаляционной формы болезни (табл. 6).

Наряду с антибактериальными средствами при лечении различных форм сибирской язвы могут использоваться дополнительные терапевтические возможности, требующие дальнейшего изучения.

Глюкокортикоидные препараты, уже применяемые для уменьшения отека при кожной форме болезни, предлагают применять в качестве дополнительной терапии ингаляционной формы сибирской язвы при развитии менингита, выраженного отека средостения и дыхательной недостаточности [55].

В исследованиях *in vitro* установлена антиоксидантная активность таких препаратов, как ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, фактора некроза опухоли и блокаторы кальциевых каналов.

Для лечения лиц, подвергшихся действию бактериального аэрозоля, содержащего *B. anthracis*, может использоваться иммунная сыворотка, полученная от вакцинированных лиц и содержащая антитела, преимущественно IgG, к антигенам возбудителя сибирской язвы. Такой метод терапии конечно же нельзя считать перспективным в связи с риском инфицирования HBV и HCV, ВИЧ и другими возбудителями инфекций.

Инфекционный контроль

Как уже указывалось, передача инфекции от пациента с ингаляционной формой сибирской язвы здоровому человеку абсолютно исключена [60]. Таким образом, для госпитализированных пациентов с любой формой болезни рекомендованы стандартные меры барьерной изоляции, в то же время использование защитных масок не показано. Также отсутствует необходимость иммунизации (или профилактики) лиц, контактирующих с больным сибирской язвой (например, члены семьи, друзья, коллеги по работе), за исключением тех случаев, когда установлено, что они, как и пациент, подверглись воздействию бактериального аэрозоля во время биологической атаки.

Лаборатории стационаров, работающие с образцами, содержащими культуру *B. anthracis*, должны использовать лабораторные боксы и меры предосторожности 2-го уровня биологической безопасности. Дезинфектанты, используемые в стационаре в обычных условиях, например гипохлорит натрия, являются эффективными препаратами для обработки поверхностей окружающей среды, контаминированных возбудителем сибирской язвы.

В предотвращении распространения болезни важное значение имеет соблюдение соответствующих правил погребения и кремирования людей и животных, умерших от сибирской язвы. Особое внимание должно быть уделено процедуре кремирования. Риск передачи инфекции от умершего животного сохраняется до тех пор, пока оно не будет захоронено или кремировано.

При аутопсии лиц, умерших от сибирской язвы, все инструменты и материалы должны быть обработаны автоклавированием или уничтожены термическим способом.

Вакцинопрофилактика

Первая вакцина против сибирской язвы была создана в 1881 г., всего через 5 лет после открытия

Таблица 6. Рекомендации по лечению ингаляционной формы сибирской язвы в условиях ограниченного поступления пораженных [56]

Контингент	Стартовая терапия: внутривенное введение препаратов	Оптимальный режим для штаммов с доказанной чувствительностью ¹	Длительность терапии, сут
Взрослые	Ципрофлоксацин 400 мг каждые 12 ч <i>или</i> Доксициклин по 100 мг каждые 12 ч + один или два дополнительных антимикробных препарата ²	Ципрофлоксацин внутрь 500 мг 2 раза в сутки <i>или</i> Доксициклин внутрь 100 мг 2 раза в сутки	60
Дети	Ципрофлоксацин 10–15 мг/кг каждые 12 ч (максимальная доза – не более 1 г/сут) <i>или</i> Доксициклин (>8 лет и >45 кг – 100 мг каждые 12 ч, >8 лет и ≤45 кг – 2,2 мг/кг каждые 12 ч, ≤8 лет – 2,2 мг/кг каждые 12 ч) + один или два дополнительных антимикробных препарата ²	Ципрофлоксацин 10–15 мг/кг каждые 12 ч (максимальная доза – не более 1 г/сут) <i>или</i> Доксициклин (>8 лет и >45 кг – внутрь 100 мг 2 раза в сутки, >8 лет и ≤45 кг – внутрь 2,2 мг/кг 2 раза в сутки, ≤8 лет – внутрь 2,2 мг/кг 2 раза в сутки)	60
Беременные	Режимы терапии такие же, как для взрослых		
Лица с иммунодефицитными состояниями	Режимы терапии такие же, как для взрослых и детей с нормальной функцией иммунной системы		

¹ Переход на пероральный прием препаратов осуществляется по мере улучшения состояния пациента; оптимальным является использование одного или двух антимикробных препаратов (например, ципрофлоксацина или доксициклина).

² Препараты, обладающие *in vitro* активностью в отношении *B. anthracis*: рифампицин, ванкомицин, пенициллин, хлорамфеникол, амоксициллин, имипенем, клиндамицин, кларитромицин. С учетом возможного синтеза конститутивной и индуцибельной β-лактамаз не рекомендуется монотерапия пенициллином и амоксициллином.

возбудителя болезни [61]. В настоящее время для вакцинации людей против сибирской язвы используются живая аттенуированная и инактивированная адсорбированная сибиреязвенные вакцины. В последние годы начались исследования по созданию новых генно-инженерных вакцин на основе рекомбинантного летального токсина *B. anthracis* [62].

В США и странах Западной Европы единственной вакциной, используемой для вакцинации людей против сибирской язвы, является инактивированная сибиреязвенная вакцина, выпускаемая компанией «BioPort Corporation» (Лансинг, Мичиган, США). Она представляет собой бесклеточный фильтрат культуры *B. anthracis*, выращенной в жидкой питательной среде.

При производстве вакцины используется токсигенный штамм, не образующий капсулы, известный под названием V770-NR1-R. Фильтрат содержит смесь продуктов жизнедеятельности клеток *B. anthracis*, в том числе и протективный антиген [63]. Компоненты вакцины адсорбированы на гидроксиде алюминия, используемом в качестве адьюванта. Эффективность и безопасность ее подтверждена *Администрацией по контролю за лекарствами и пищевыми продуктами США (FDA)* [64, 65].

Вакцина вводится подкожно по 0,5 мл. Первичный комплекс иммунизации включает 3 дозы вакцины по схеме: 0, 2 и 4 нед и 3 бустерные вакцинации, проводимые через 6, 12 и 18 мес от первой инъекции. Эффективность такого графика вакцинации варьирует, по результатам различных исследований, от 92,5 [66] до 95% [63].

Для сохранения протективного иммунитета у лиц, подверженных риску инфицирования сибирской язвой, производители вакцины рекомендуют ежегодную ревакцинацию. Тем не менее в исследованиях, проведенных на лабораторных животных и определенных контингентах населения, не установлено каких-либо преимуществ данной схемы иммунизации [66].

В связи со сложностью графика вакцинации и высокой частотой развития местных реакций в настоящее время проводятся исследования по оценке иммуногенности и безопасности вакцины при ее внутримышечном введении и использовании меньшего числа доз.

Так, в одном рандомизированном исследовании ($n=73$) сравнивалась эффективность стандартного графика иммунизации (подкожное введение вакцины по схеме: 0, 2 и 4 нед) и альтернативного (внутримышечное введение вакцины по схеме: 0 и 4 нед) [60]. При исследовании уровня anti-PA-IgG, проведенном через 8 нед от начала вакцинации, не установлено статистически значимых их различий в

обеих группах. Частота системных нежелательных реакций оказалась сходной в обеих группах. Более того, была зарегистрирована значительно меньшая частота местных нежелательных реакций при внутримышечном введении вакцины [60].

Длительность иммунного ответа, формирующегося после прививки людей инактивированной адсорбированной сибиреязвенной вакциной, не известна и составляет, по результатам различных исследований на животных, 1–2 года [63, 67].

Противопоказаниями для введения вакцины являются: перенесенная в анамнезе инфекция, вызванная *B. anthracis*, и аллергические реакции на введение предыдущей дозы сибиреязвенной вакцины или на любой ее компонент. Исследований по применению вакцины у беременных пока не проводилось. Кормление грудью не является противопоказанием для введения инактивированных вакцин, к которым и относится адсорбированная сибиреязвенная вакцина.

Отмечено, что большее число реакций на введение вакцины регистрируется у женщин, чем у мужчин [68]. По данным долицензионных исследований, местные реакции средней степени тяжести (отек и инфильтрация размером от 3 до 12 см) наблюдались у 3% вакцинированных, легкие (гиперемия, отек и инфильтрация размером менее 3 см) – у 20% [69].

По данным *Системы регистрации нежелательных реакций, связанных с вакциной (VAERS – Vaccine Adverse Event Reporting System)*, наиболее часто регистрировавшимися нежелательными реакциями были аллергические реакции, отек и боль в месте введения вакцины, головная боль, артралгии, астения и кожный зуд. В редких случаях в ответ на введение вакцины могут отмечаться так называемые отсроченные, или поздние нежелательные реакции, проявляющиеся одышкой, выраженным потоотделением, бледностью кожи, уртикарной экзантемой [70].

В связи с ограниченной доступностью вакцины для населения в США и странах Западной Европы иммунизации инактивированной сибиреязвенной вакциной подлежат строго определенные контингенты. Различают плановую и экстренную вакцинацию.

Рутинная вакцинация инактивированной сибиреязвенной вакциной показана персоналу лабораторий, работающих с *B. anthracis*, а также лицам, чья профессиональная деятельность связана с высокой вероятностью образования бактериального аэрозоля. Вакцинация лиц, занимающихся обработкой продуктов животноводства, ввезенных из других стран, в связи с действием международных стандартов и строгих ограничений, касающихся импортируемых продуктов, не предусмотрена. Данному

контингенту *плановое введение вакцины* может быть показано только в случае если действующие ограничения не способны в полной мере предотвратить возможность контакта со спорами *B. anthracis*.

В эндемичных регионах с высокой распространенностью сибирской язвы среди животных вакцинация может проводиться работникам ветеринарной службы, а также другим контингентам группы высокого риска, контактирующим с потенциально инфицированными животными. Плановая вакцинация показана также военнослужащим и некоторым специальным контингентам, риск инфицирования которых возбудителем сибирской язвы можно точно оценить.

В связи с тем, что предсказать, какие категории населения могут оказаться жертвами применения возбудителя сибирской язвы в качестве биологического оружия, невозможно, рекомендации по вакцинации в условиях готовности к биотеррористическим атакам должны основываться на оценке степени риска. В настоящее время определить группы населения, являющиеся «мишенями биотерроризма», невозможно. В связи с этим, а также из-за крайне низкого риска инфицирования, обусловленного вторичным аэрозолям предварительно осевших спор, такие категории, как группы быстрого реагирования, спасатели, врачи скорой помощи стационаров и эпидемиологи, не подлежат плановой вакцинации [71].

Экстренная вакцинация инактивированной сибиреязвенной вакциной должна проводиться одновременно с превентивной антибактериальной терапией всем лицам, подвергшимся в результате террористического акта воздействию бактериального аэрозоля, содержащего споры *B. anthracis*. Необходимость такого использования вакцины подтверждена в экспериментах на животных [72]. Следует отметить, что изолированное введение вакцины не предотвращает развития заболевания [60].

Количество доз вакцины, необходимое для экстренной вакцинации, точно не установлено. Однако в экспериментах на животных продемонстрировано, что введение 2 или 3 доз вакцины является достаточным для предотвращения развития болезни [63]. В связи с этим рекомендуется режим введения 3 доз вакцины (0, 2 и 4 нед), который при его соблюдении позволяет сократить длительность превентивной антибактериальной терапии до 4 нед [13].

Несмотря на эффективность сокращенного графика вакцинации, используемого в комбинации с антибактериальной терапией при экстренной профилактике, длительность поствакцинального иммунитета остается неизвестной и, вероятнее всего, не обеспечивает пожизненной защиты от инфекции.

Таким образом, в дальнейшем при повторном контакте с возбудителем может потребоваться дополнительная вакцинация [60].

В России лицам, представляющим группу риска заражения сибирской язвой (работники предприятий по обработке продуктов животноводства), проводят плановую вакцинацию живой аттенуированной сибиреязвенной вакциной СТИ. В то же время в других странах живые вакцины не используются, что связано с их низкой безопасностью для человека.

Маркером формирования поствакцинального иммунитета является обнаружение в сыворотке крови антител к протективному антигену [73]. Поствакцинальный иммунитет может быть выявлен с помощью кожной аллергической пробы с антраксином, а также путем обнаружения специфических антител класса G с помощью ИФА. Установлено, что образующиеся после вакцинации anti-PA-IgG обладают нейтрализующей активностью и в отношении спор *B. anthracis*, чем, вероятно, и обусловлено предотвращение развития болезни на ранних стадиях инфекционного процесса [74].

Экстренная химиопрофилактика

Превентивная антибактериальная терапия (экстренная химиопрофилактика) имеет целью предотвращение развития ингаляционной формы сибирской язвы, являющейся наиболее частой формой болезни в условиях использования *B. anthracis* в качестве биологического оружия. Необходимость и масштабы ее проведения при возникновении риска развития сибирской язвы определяются исключительно руководящими органами системы здравоохранения на основании данных эпидемиологического расследования.

Нередко органы здравоохранения начинают проведение химиопрофилактики среди населения еще до определения масштабов вспышки заболевания. В дальнейшем эпидемиологические данные и результаты лабораторных исследований могут указывать на то, что некоторые лица, получающие превентивное лечение, не подверглись воздействию бактериального аэрозоля. Этим пациентам антибактериальная терапия должна быть немедленно прекращена.

В то же время следует подчеркнуть, что результаты микробиологического исследования образцов материала, взятого с поверхностей окружающей среды, не могут быть единственным критерием для назначения, продолжения или прекращения приема antimicrobных препаратов в целях профилактики ингаляционной формы сибирской язвы. Обнаружение в этих образцах *B. anthracis* может быть результатом перекрестной контаминации возбудителем при контакте с фактором передачи (напри-

мер, конвертом, содержащим *B. anthracis*), фоновой контаминацией окружающей среды спорами *B. anthracis* или ранее распыленными спорами, осевшими на окружающих поверхностях.

Превентивное лечение с целью предотвращения развития сибирской язвы должно быть начато еще до окончательного подтверждения факта применения бактериального аэрозоля и установления контингента, подвергнувшегося его воздействию:

- всем лицам, которые находились на территории, где не исключается возможность распыления (аэролизации) материала, подозрительного на содержание спор *B. anthracis* (например, при вскрытии писем, содержащих подозрительный порошок);
- всем лицам, находившимся на территории, воздух которой вероятнее всего явился источником инфекции для уже зарегистрированных случаев заболевания ингаляционной формой сибирской язвы.

После эпидемиологического расследования превентивная антибактериальная терапия должна быть продолжена следующим группам населения:

- лицам, находившимся на территории с доказанной контаминацией воздуха аэрозолями, содержащим споры *B. anthracis*;
- лицам, находившимся на территории, для которой доказана роль ее воздушной среды в качестве источника инфекции для уже зарегистрированных случаев ингаляционной формы сибирской язвы;
- лицам, которые могли ингалировать бактериальный аэрозоль на различных этапах движения или обработки писем или других факторов передачи, содержащих *B. anthracis*;
- невакцинированным сотрудникам лабораторий, подвергшихся воздействию аэрозоля, содержащего культуру микроорганизма, идентифицированного как *B. anthracis*.

Экстренная профилактика антимикробными препаратами не показана:

- для предотвращения развития кожной формы сибирской язвы в естественных условиях;
- персоналу патологоанатомических лабораторий, вскрывающему умерших от сибирской язвы с соблюдением стандартных мер предосторожности по предотвращению передачи возбудителя контактным путем;
- медицинскому персоналу стационаров, ухаживающему за пациентами с сибирской язвой;
- сотрудникам, ежедневно работающим с почтовой корреспонденцией, при отсутствии подозрительных писем и данных о возможной угрозе инфицирования возбудителем сибирской язвы.

Возможность передачи *B. anthracis* ингаляционным путем от пациента с ингаляционной формой сибирской язвы здоровому человеку, как уже указывалось, абсолютно исключена. В связи с этим лицам, находившимся или находящимся в контакте с такими пациентами, превентивная антибактериальная терапия не проводится.

Согласно рекомендациям CDC, для превентивной терапии используют те же препараты, что и при лечении ингаляционной формы сибирской язвы в условиях массового поступления пораженных (табл. 7). Для всех возрастных групп и контингентов населения антибиотиками выбора остаются ципрофлоксацин или доксициклин [56]. Как уже указывалось, другие фторхинолоны обладают такой же эффективностью в отношении *B. anthracis*, как и ципрофлоксацин.

Использование доксициклина может оказаться более предпочтительным в связи с тем, что предотвращает формирование резистентности к ципрофлоксацину у других, более распространенных

Таблица 7. Рекомендации по лечению ингаляционной формы сибирской язвы в условиях массового поступления пораженных и проведению превентивной терапии [6]

Контингент	Стартовая антибактериальная терапия	Оптимальный режим для штаммов с доказанной чувствительностью	Длительность терапии, сут
Взрослые	Ципрофлоксацин внутрь 500 мг 2 раза в сутки	Амоксициллин внутрь 500 мг 3 раза в сутки Доксициклин внутрь 100 мг 2 раза в сутки	60
Дети	Ципрофлоксацин внутрь 30 мг/(кг·сут) каждые 12 ч (максимальная доза – не более 1 г/сут)	С массой тела ≥ 20 кг: амоксициллин внутрь 500 мг 3 раза в сутки С массой тела < 20 кг: амоксициллин внутрь 40 мг/(кг·сут) 3 раза в сутки	60
Беременные	Ципрофлоксацин внутрь 500 мг 2 раза в сутки	Амоксициллин внутрь 500 мг 3 раза в сутки	60
Лица с иммунодефицитными состояниями	Режимы терапии такие же, как для взрослых и детей с нормальной функцией иммунной системы		

патогенов. В качестве альтернативы доксициклину может быть использован тетрациклин по следующей схеме: для взрослых – внутрь по 500 мг 3 раза в сутки, для детей с массой тела >45 кг – взрослая доза, для детей с массой тела ≤45 кг – внутрь из расчета 2,5 мг/кг каждые 12 ч [6].

При получении данных о чувствительности к антибиотикам выделенного штамма *B. anthracis* рекомендуется переходить на более безопасный режим антибактериальной терапии. Так, для детей, беременных и кормящих грудью женщин оптимальной альтернативой является амоксициллин [75, 76], использование которого позволяет избежать развития токсических эффектов, характерных для фторхинолонов и тетрациклинов.

Однако амоксициллин не рекомендуется в качестве препарата для эмпирической терапии. Он может применяться только при доказанной чувствительности к пенициллину штаммов *B. anthracis*, использованных во время террористического акта. Более того, этот препарат не был одобрен FDA в связи с отсутствием данных, подтверждающих его клиническую эффективность, и уверенности в том, что препарат будет создавать терапевтические концентрации при назначении его в стандартных дозах. Тем не менее амоксициллин при противопоказаниях к ципрофлоксацину и доксициклину является альтернативным препаратом для экстренной химиопрофилактики [58]. В то же время FDA для применения в качестве целенаправленной превентивной терапии во всех возрастных группах был одобрен пенициллин G прокаиин [77].

Как видно из данных табл. 7, для превентивного лечения используются только пероральные формы антибактериальных препаратов.

Оптимальная продолжительность превентивной терапии остается неизвестной. Тем не менее на основании результатов исследований сибирской язвы на животных моделях, в которых изучались частота летальных исходов и скорость элиминации спор из организма, рекомендуемая длительность химиопрофилактики антибактериальными препаратами составляет 60 сут [78]. Необходимость увеличения этих сроков обсуждается [43]. Когда превентивная терапия оказывается отсроченной или проводится прерывисто, некоторые эксперты рекомендуют, чтобы суммарная длительность приема препаратов составляла не менее 60 дней независимо от общего времени, прошедшего с момента воздействия бактериального аэрозоля [43].

Министерством здравоохранения США 18 декабря 2001 г. были разработаны дополнительные альтернативные схемы экстренной химиопрофилактики ингаляционной формы сибирской язвы для лиц,

желающих принять максимальные меры предосторожности, особенно для тех, кто подвергся массовому инфицированию *B. anthracis*. Предложены три альтернативные схемы превентивной терапии [79]:

- 1) превентивная антибактериальная терапия в течение 60 дней;
- 2) превентивная антибактериальная терапия в течение 100 дней;
- 3) превентивная антибактериальная терапия в течение 100 дней + иммунизация инактивированной сибиреязвенной вакциной (3 дозы с интервалом в 2 нед).

Длительность превентивного лечения может быть сокращена до 4 нед, но только при условии, что пациент одновременно завершил полный курс вакцинации адсорбированной инактивированной сибиреязвенной вакциной по схеме: 0, 2 и 4 нед. В остальных случаях продолжительность профилактического приема антимикробных препаратов должна составлять не менее 8 нед.

Одновременное использование антибиотиков и вакцины для экстренной профилактики сибирской язвы считается наиболее предпочтительным и доказало свою эффективность в экспериментах на животных [72, 80].

Одной из проблем, связанных с превентивной антимикробной терапией, является риск развития нежелательных лекарственных реакций, возрастающий с увеличением продолжительности приема антибиотиков. Однако высокая частота летального исхода при сибирской язве превосходит риск развития нежелательных реакций при длительном приеме препаратов.

Так, осенью 2001 г. в США регистрировались нежелательные реакции, возникавшие у почтовых служащих, которым в течение 60 дней проводилась превентивная антибактериальная терапия. Из 3428 пациентов, получавших ципрофлоксацин, тошнота, рвота, диарея и боли в животе отмечались у 19%, обморочные состояния и головокружение – у 14%, изжога и рефлюкс – у 7%, сыпь различного характера, крапивница и зуд кожи – у 6% [81]. Всего у нескольких пациентов были зарегистрированы симптомы, возможно, связанные с анафилактическими реакциями (затруднения при дыхании, глотании, чувство сдавливания в области шеи, отек губ, языка или лица) и потребовавшие медицинского наблюдения. Тяжелых реакций и летальных исходов, связанных с приемом препарата, не зарегистрировано. Всего 3% пациентов, находившихся под наблюдением, были вынуждены прекратить прием препарата из-за развития нежелательных реакций [81].

Не менее важно и то, что длительный прием антимикробного препарата может способствовать селекции резистентности к нему других, более распространенных и клинически значимых возбудителей [82]. Наряду с гибелью патогенных микроорганизмов при длительном использовании фторхинолонов, как и других антибиотиков, происходит гибель нормальной микрофлоры организма человека.

Рекомендуемые для профилактики сибирской язвы новые фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин, гатифлоксацин) обладают высокой активностью в отношении *S. pneumoniae*. При необоснованном и длительном применении этих препаратов это может способствовать формированию новой популяции пневмококков, резистентных не только к пенициллину, но и к фторхинолонам [83].

В настоящее время отсутствуют контролируемые исследования на людях или экспериментальных животных, касающиеся необходимости превентивной антибактериальной терапии и/или вакцинации при подозрении на инфицирование *B. anthracis* контактным или алиментарным путем.

Развитие кожной или гастроинтестинальной формы сибирской язвы у людей в подавляющем

большинстве случаев является следствием эпизодов сибирской язвы среди крупного рогатого скота. При контакте с потенциально инфицированным животным или употреблении мяса, подозрительно на инфицирование возбудителем сибирской язвы, на основании патогенеза болезни, регистрируемой длительности инкубационного периода, мнения экспертов, а также с учетом отсутствия данных экспериментальных и клинических исследований экстренная химиопрофилактика может заключаться в назначении антибактериальной терапии длительностью 7–14 дней [60].

В то же время эксперты CDC, как указано выше, считают, что в естественных условиях превентивная антибактериальная терапия не показана для предотвращения развития кожной формы сибирской язвы [78].

Несколько лет назад с целью экстренной профилактики в нашей стране использовали специфический сибиреязвенный иммуноглобулин внутримышечно в дозе 20–80 мл. Однако его применение было прекращено в связи с высокой частотой развития тяжелых аллергических реакций (сывороточная болезнь).

Л и т е р а т у р а

- Harrison L.H., Ezzell J.W. Evaluation of serologic tests for diagnosis of anthrax after an outbreak of cutaneous anthrax in Paraguay. *J Infect Dis* 1989; 160:706-10.
- Danies J.C. A major epidemic of anthrax in Zimbabwe. *Centr Afr J Med* 1982; 28:291-8.
- Smego R.A. Jr, Gebrian B., Desmangels G. Cutaneous Manifestation of Anthrax in Rural Haiti. *Clin Infect Dis* 1998; 26:97-102.
- Kumar A., Kanungo R., Bhattacharya S., Badrinath S., Dutta T.K., Swaminathan R.P. Human anthrax in India: urgent need for effective prevention. *J Commun Dis* 2000; 32:240-6.
- Caksen H., Arabaci F., Abuhandan M., Tuncer O., Cesur Y. Cutaneous anthrax in eastern Turkey. *Cutis* 2001; 67:488-92.
- Inglesby T.V., Henderson D.A., Bartlett J.G., et al. Anthrax as a biological weapon: medical and public health management. *JAMA* 1999; 281:1735-45.
- Centers for Disease Control and Prevention. Update: Investigation of Bioterrorism-Related Inhalational Anthrax – Connecticut. 2001 MMWR 2001; 50:1077-9.
- Enserink M. ANTHRAX: A Second Anthrax Genome Project. *Science* 2001; 294:1812.
- Turnbull P.C.B., Kramer J.M. Bacillus. In: Balows A., Hausler W.J.Jr., Herrmann K.L., et al. *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Washington, DC, American Society for Microbiology; 1991. p. 296-303.
- UK gives guidance on anthrax [editorial]. *Scrip* 2001; 2689:5.
- Friedlander A.M. Anthrax. In: Sidell F.R., Takafuji E.T., Franz D.R., editors. *Textbook of Military Medicine: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*. Washington, DC: Office of the Surgeon General, US Dept of the Army; 1997:467-78.
- Dhawan B., Desikan-Trivedi P., Chaudhry R., Narang P. Bioterrorism: a threat for which we are ill prepared. *Natl Med J India* 2001; 14:225-30.
- Cieslak T.J., Eitzen E.M. Jr. Clinical and Epidemiologic Principles of Anthrax. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:552-5.
- Meselson M., Guillemin J., Hugh-Jones M., Langmuir A., Popova I., Shelokov A., Yampolskaya O., et al. The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. *Science* 1994; 266:1202-7.
- Grinberg L.M., Abramova F.A., Yampolskaya O.V., Walker D.H., Smith J.H. Quantitative pathology of inhalational anthrax I: quantitative microscopic findings. *Mod Pathol* 2001 May; 14:482-95.
- Lew D.P. *Bacillus anthracis* (Anthrax). In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. V. 2. p. 2215-20.
- Green B.D., Battisti L., Koehler T.M., Thorne C.B., Ivins B.E. Demonstration of capsule plasmid in *Bacillus anthracis*. *Infect Immun* 1985; 49:291-7.
- Mikesell P., Ivins B.E., Ristroph J.D., Dreier T.M. Evidence for plasmid-mediated toxin production in *Bacillus anthracis*. *Infect Immun* 1983; 39:371-6.
- Sirard J.C., Mock M., Fouet A. The three *Bacillus anthracis* toxin genes are coordinately regulated by bicarbonate and temperature. *J Bacteriol* 1994; 176:5188.

20. Bhatnagar R., Batra S. Anthrax toxin. *Crit Rev Microbiol* 2001; 27:167-200.
21. Bradley K.A., Mogridge J., Mourez M., Collier R.J., Young J.A. Identification of the cellular receptor for anthrax toxin. *Nature* 2001; 414:225-9.
22. Ahuja N., Kumar P., Bhatnagar R. Hydrophobic residues Phe552, Phe554, Ile562, Leu566, and Ile574 are required for oligomerization of anthrax protective antigen. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287:542-9.
23. Singh Y., Khanna H., Chopra A.P., Mehra V. A dominant negative mutant of *Bacillus anthracis* protective antigen inhibits anthrax toxin action *in vivo*. *J Biol Chem* 2001; 276:22090-4.
24. Duesbery N.S., Webb C.P., Leppla S.H., et al. Proteolytic inactivation of MAP-kinase-kinase by anthrax lethal factor. *Science* 1998; 280:734-7.
25. Lin C.G., Kao Y.T., Liu W.T., et al. Cytotoxic effects of anthrax lethal toxin on macrophage-like cell line j774a.1. *Curr Microbiol.* 1996; 33:224-7.
26. Pannifer A.D., Wong T.Y., Schwarzenbacher R., Renatus M., Petosa C., Bienkowska J., Lacy D.B., Collier R.J., Park S., Leppla S.H., Hanna P., Liddington R.C. Crystal structure of the anthrax lethal factor. *Nature* 2001; 414:229-33.
27. Farrar W.E. Anthrax: virulence and vaccines. *Ann Intern Med* 1994; 121:379.
28. Fox J. Bioterrorism: microbiology key to dealing with threats [letter]. *ASM News* 1998; 64:225-7.
29. Mourez M., Kane R.S., Mogridge J., Metallo S., Deschatelets P., Sellman B.R., Whitesides G.M., Collier R.J. Designing a polyvalent inhibitor of anthrax toxin. *Nat Biotechnol* 2001; 19:958-61.
30. Liu X.H., Collier R.J., Youle R.J. Inhibition of Axotomy-induced Neuronal Apoptosis by Extracellular Delivery of a Bcl-XL Fusion Protein. *J Biol Chem* 2001; 276:46326-32.
31. Watters J.W., Dewar K., Lehoczy J., Boyartchuk V., Dietrich W.F. Kif1C, a kinesin-like motor protein, mediates mouse macrophage resistance to anthrax lethal factor. *Curr Biol* 2001; 11:1503-11.
32. Hanna P. How anthrax kills. *Science* 1998; 280:1671-3.
33. Abramova F.A., Grinberg L.M., Yampolskaya O.V., Walker D.H. Pathology of inhalational anthrax in 42 cases from the Sverdlovsk outbreak in 1979. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:2291-4.
34. Celebi S., Aykan U., Alagoz G., Esmerligil S. Palbebral anthrax. *Eur J Ophthalmol* 2001; 11:171-4.
35. Soysal H.G., Kiratli H., Recep O.F. Anthrax as the cause of preseptal cellulitis and cicatricial ectropion. *Acta Ophthalmol Scand* 2001; 79:208-9.
36. Hanter P. In response to Recent Events: Update on *Bacillus anthracis*. *ESCMID News* 2001; 3:23-6.
37. Khajehdehi P. Toxemic shock, hematuria, hypokalemia, and hypoproteinemia in a case of cutaneous anthrax. *Mt Sinai J Med* 2001;68:213-5.
38. Brachman P.S., Friedlander A.M. Anthrax. In: Plotkin & Mortimer, ed. *Vaccines*. Philadelphia (PA): W.B. Saunders; 1994. p. 730.
39. Dodanay M., Almac A., Hanagasi R., Primary throat anthrax. A report of six cases. *Scand J Infect Dis.* 1986; 18:415-9.
40. Ndyabahinduka D.G.K., Chu I.H., Abdou A.H., Gaifuba J.K. An outbreak of human gastrointestinal anthrax. *Ann Ist Super Sanita* 1984; 20:205-8.
41. Brachman P.S., Kaufmann A.F. Anthrax. In: Evans A.S., Brachman P.S., et al. *Bacterial infections of humans*. New York: Plenum Medical Book Company; 1998. p. 95-111.
42. Buchanan T.M., Feeley J.C., Hayes P.S., et al. Anthrax indirect microhemagglutination test. *J Immunol.* 1971; 107:1631.
43. Clinical Issues in the Prophylaxis, Diagnosis and Treatment of Anthrax [editorial]. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:222-5.
44. Turnbull P.C.B., Doganay M., Lindeque P.M., et al. Serology and anthrax in humans, livestock and Etosha National Park wildlife. *Epidemiol Infect.* 1992; 108:299-313.
45. Patra G., Vaissaire J., Weber-Levy M., le Doujet C., Mock M. Molecular Characterization of *Bacillus* Strains Involved in Outbreak of Anthrax in France in 1997. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3412-4.
46. Smith K.L., DeVos V., Bryden H., Price L.B., Hugh-Jones M.E., Keim P. *Bacillus anthracis* Diversity in Kruger National Park. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3780-4.
47. Pitt M.L., Little S.F., Ivins B.E., Fellows P., Barth J., Hewetson J., Gibbs P., Dertzbaugh M., Friedlander A.M. *In vitro* correlate of immunity in a rabbit model of inhalational anthrax. *Vaccine* 2001; 19:4768-73.
48. Halperin G., Marcus H. Application of recovery tests in the validation of immunoassays for assessing the immunogenicity of *B. anthracis* PA vaccine. *PDA J Pharm Sci Technol* 2001; 55:150-61.
49. Shlyakhov E., Rubinstein E. Evaluation of the anthraxin skin test for diagnosis of acute and past human anthrax. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996; 15:242-5.
50. Munoz F.M., Galasso G.J., Gwaltney J.M., et al. Current research on influenza and other respiratory viruses: II International Symposium. *Antiviral Res* 2000; 46:91-124.
51. Brook I., Elliott T.B., Pryor H.I., Sautter T.E., Gnade B.T., Thakar J.H., Knudson G.B. *In vitro* resistance of *Bacillus anthracis* Sterne to doxycycline, macrolides and quinolones. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 18:559-62.
52. Odendaal M.W., Peterson P.M., de Vos V., Botha A.D. The antibiotic sensitivity patterns of *Bacillus anthracis* isolated from the Kruger National Park. *Onderstepoort J Vet Res* 1991; 58:17-9.
53. Doganay M., Aydin N. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Scand J Infect Dis* 1991; 23:333-5.
54. Lightfoot N.F., Scott R.J., Turnbull P.C. Antimicrobial susceptibility of *Bacillus anthracis*. *Salisbury Med Bull* 1990; 68: S 95-8.
55. Dixon T.C., Meselson M., Guillemin J., Hanna P.C. Anthrax. *N Engl J Med* 1999; 341:815-26.
56. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Investigation of Bioterrorism-Related Anthrax and Interim Guidelines for Exposure Management and Antimicrobial Therapy. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001 October 24; 50:909-19.
57. Roche K.J., Chang M.W., Lazarus H. Cutaneous anthrax

- infection: images in clinical medicine. N Engl J Med 2001. Available from: URL: <http://www.nejm.org>.
58. Centers for Disease Control and Prevention. Update: interim recommendations for antimicrobial prophylaxis for children and breastfeeding mothers and treatment of children with anthrax. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001; 50:1014-6.
 59. Lalitha M.K., Thomas M.K. Penicillin resistance in *Bacillus anthracis*. The Lancet 1997; 349:1522.
 60. Centers for Disease Control and Prevention. Use of Anthrax Vaccine in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000; 49(No. RR-15):5-7.
 61. Pasteur L., Chamberlain C-E, Roux E. Compte rendu sommaire des experiences faites a Pouilly-le-Fort, pres Melun, sur la vaccination chrabonneuse [French]. Comptes Rendus des seances De LAcademie des Sciences 1881; 92:1378-83.
 62. Price B.M., Liner A.L., Park S., Leppla S.H., Mateczun A., Galloway D.R. Protection against anthrax lethal toxin challenge by genetic immunization with a plasmid encoding the lethal factor protein. Infect Immun 2001; 69:4509-15.
 63. Turnbull P.S.B., Broster M.G., Carman J.A., Manchec R.J., Melling J. Development of antibodies to protective antigen and lethal factor components of anthrax toxin in humans and guinea pigs and their relevance to protective immunity. Infect Immun 1986; 52:356-63.
 64. Anthrax vaccines. Med Lett Drugs Thera 1998; 40:52-3.
 65. Friedlander M., Pittman R., Parker G.W. Anthrax Vaccine. Evidence for Safety and Efficacy Against Inhalational Anthrax. JAMA 1999; 282:2104-6.
 66. Turnbull P.C.B. Anthrax vaccine: Past, present and future. Vaccine. 1991; 9:533-9.
 67. Ivins B.E., Pitt M.L.M., Fellows P.F., et al. Comparative efficacy of experimental anthrax vaccine candidates against inhalation anthrax in rhesus macaques. Vaccine 1998; 16:1141-8.
 68. Pittman P.R., Gibbs P.H., Cannon T.L., Friedlander A.M. Anthrax vaccine: short-term safety experience in humans. Vaccine 2001; 20:972-8.
 69. National Communicable Disease Center. Investigational new drug application for anthrax protective antigen, aluminum hydroxide absorbed. FDA № DBS-IND 180, 1970.
 70. Swanson-Biearman B., Krenzelok E.P. Delayed life-threatening reaction to anthrax vaccine. J Clin Toxicol 2001; 39:81-4.
 71. Centers for Disease Control and Prevention. Bioterrorism alleging use of anthrax and interim guidelines for management – United States, 1998. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48:69-74.
 72. Friedlander A.M., Welkos S.L., Pitt M.L.M., Ezzell J.W., Worsham P.L., et al. Postexposure prophylaxis against experimental anthrax. J Infect Dis 1993; 167:1239-43.
 73. Reuveny S., White M.D., Adar Y.Y., Kafri Y., Altboum Z., Gozes Y., Kobiler D., Shaffer A., Velan B. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine. Infect Immun 2001; 69:2888-93.
 74. Welkos S., Little S., Friedlander A., Fritz D., Fellows P. The role of antibodies to *Bacillus anthracis* and anthrax toxin components in inhibiting the early stages of infection by anthrax spores. Microbiology 2001; 147(Pt 6):1677-85.
 75. Prophylactic treatment of anthrax with antibiotics [editorial]. BMJ 2001; 323:1017-8.
 76. Centers for Disease Control and Prevention. Updated recommendations for antimicrobial prophylaxis among asymptomatic pregnant women after exposure to *Bacillus anthracis*. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001; 50:960.
 77. Food and Drug Administration. Prescription drug products: doxycycline and penicillin G procaine administration for inhalational anthrax (post-exposure). Fed Reg 2001; 66-55679-82.
 78. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for investigation of and response to *Bacillus anthracis* exposures. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001; 50:987-90.
 79. Centers for Disease Control and Prevention. Additional options for preventive treatment for persons exposed to inhalational anthrax. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001; 50:1142, 1151.
 80. Henry L. Inhalational Anthrax: Threat, Clinical Presentation, and Treatment. J Am Acad Nurse Pract. 2001; 13:164-8.
 81. Centers for Disease Control and Prevention. Update: Adverse events associated with anthrax prophylaxis among postal employees – New Jersey, New York City, and District of Columbia Metropolitan area, 2001. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001; 50:1051-4.
 82. Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. Emerg Infect Dis 2001; 7:337-41.
 83. Ferrandiz M.J., Fenoll A., Linares J., De La Campa A. Horizontal transfer of parC and gyrA fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agent Chemother 2000; 44:840-7.

УДК 616.98:579.835.12

Роль *Helicobacter pylori* в патологии человека

В.А. Шкитин, А.И. Шпирна, Г.Н. Старовойтов

Смоленская государственная медицинская академия, Смоленск, Россия

Инфекция, вызванная *Helicobacter pylori*, занимает одно из первых мест в мире по распространенности. К *H. pylori*-ассоциированным болезням относятся хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки. Не исключается роль этого микроорганизма в развитии MALT-лимфомы и аденокарциномы желудка. В данной статье представлены микробиологическая характеристика *H. pylori*, характер и особенности взаимоотношений его с макроорганизмом, молекулярные основы патогенности. Боль-

шое внимание уделено особенностям формирования иммунитета при *H. pylori*-инфекции. Обсуждаются механизмы участия микроорганизма в формировании язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. Приведен обзор данных, касающихся роли *H. pylori* как фактора риска в развитии онкологических заболеваний желудка.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, микробиология, патогенность, иммунитет, хронический гастрит, язвенная болезнь, аденокарцинома желудка.

Role of *Helicobacter pylori* in Human Pathology

V.A. Schkitin, A.I. Schpirna, G.N. Starovoytov

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

Helicobacter pylori is one of the most common pathogens in humans. *H. pylori* associated gastric diseases include chronic gastritis, gastric and duodenal peptic ulcer; moreover, role of this microorganism as a causative factor in the development of MALT-lymphoma and gastric cancer is also under consideration. This article presents microbiological properties of *H. pylori* and specific interactions between host and microorganism; molecular basis

of pathogenicity are described. Local and systemic immune responses to the *H. pylori* infection are emphasized. Mechanisms of the development of gastric and duodenal peptic ulcer are discussed. The data, regarding the role of *H. pylori* as a risk factor for gastric cancer are reviewed.

Key words: *Helicobacter pylori*, microbiology, pathogenicity, immunity, chronic gastritis, peptic ulcer, gastric cancer.

Контактный адрес:
Александр Анатольевич Шкитин
214019, Смоленск, ул. Крупской, 28
Тел.: (0812) 2(2)-11-06

Открытие *Helicobacter pylori* явилось революцией в представлениях о патогенетических особенностях развития таких болезней, как хронический гастрит, язвенная болезнь и рак желудка (рис. 1) [1]. Были выявлены новые механизмы взаимодействия микро- и макроорганизма [2], разработаны и научно обоснованы современные методы лечения и профилактики хронических болезней желудочно-кишечного тракта [3].

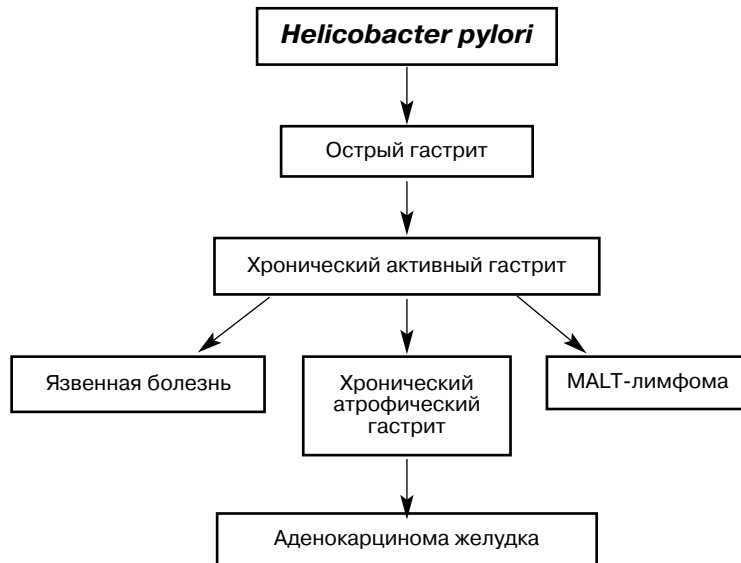


Рис. 1. *Helicobacter pylori*-ассоциированные болезни (в абсолютном большинстве случаев инфицирование *H. pylori* ограничивается развитием хронического активного гастрита, который относительно редко переходит в другие заболевания)

Предположение о связи инфекции *Campylobacter pylori* (так ранее назывался *H. pylori*) с развитием язвенной болезни и, возможно, рака желудка было впервые высказано около 15 лет назад [4, 5]. Позднее исследователи обнаружили, что этот микроорганизм не принадлежит к роду *Campylobacter*, и ему было дано новое название – *Helicobacter pylori* [6].

В настоящее время очевидно, что *H. pylori* вызывает одну из наиболее распространенных хронических бактериальных инфекций человека. У большинства инфицированных лиц клинические проявления болезни не развиваются в течение всей жизни.

Человек является естественным хозяином этого микроорганизма [7]. Вероятно, колонизация человека *H. pylori* произошла очень давно. За несколько десятков, а может быть и сотен тысячелетий существования произошло взаимное приспособление микро- и макроорганизма [8]. В связи с этим *H. pylori* является своеобразным инфекционным агентом, который способен вести себя как коммен-

сал, сапрофит или патоген. Это объясняется не только разнообразием его штаммов. В различных ситуациях один и тот же штамм *H. pylori* может проявлять разную патогенность и вирулентность [2, 7], что обусловлено генетическими особенностями конкретного человека и влиянием факторов окружающей среды [9].

Однако М. Blaser считает, что к инфекции, вызванной *H. pylori*, как к «медленной инфекции», термины «сапрофит», «паразит», «комменсал» вообще не применимы, поскольку микроорганизм реализует свою патогенность путем регуляции экспрессии различных генов в той степени, в которой это диктуется реакцией макроорганизма [10]. Микро- и макроорганизм создают тонко настроенную систему равновесия, в результате нарушения которого и формируется конкретная болезнь с определенными клиническими признаками и прогнозом [2].

Необходимо отметить, что *H. pylori* с эволюционной точки зрения не заинтересован в индукции у человека каких-либо тяжелых заболеваний, которые могли бы привести к его гибели. Таким образом, и язвенная болезнь, и рак желудка являются исключениями из правила.

Действительно, число пациентов с язвенной болезнью и раком желудка не составляет даже 1% от общего числа инфицированных. В настоящее время их число во всем мире превышает 1 млрд человек. Из этого можно сделать вывод: либо *H. pylori* является сапрофитом, либо очень необычным патогеном.

В пользу того, что *H. pylori* не сапрофит, свидетельствует тот факт, что нормальное состояние слизистой оболочки желудка у лиц, инфицированных *H. pylori*, встречается еще реже, чем язвенная болезнь и рак желудка. Следовательно, *H. pylori* является особым патогеном, который у большинства инфицированных вызывает «типичный вариант инфекции» – хронический гастрит, о наличии которого подавляющее число пациентов не догадывается благодаря его бессимптомному течению. И лишь редкими исключениями являются язвенная болезнь, рак желудка и бессимптомное носительство [10].

H. pylori обнаруживается в 70–80% случаев язвы двенадцатиперстной кишки и 50–60% случаев язвы желудка [11]. Инфицирование *H. pylori* является причиной как минимум 327 тыс. новых случаев рака желудка в год [1].

Микробиологическая характеристика

Helicobacter pylori – микроаэрофильная грамотрицательная бактерия, имеющая изогнутую S-образную или слегка спиралевидную форму. При культивировании на искусственных питательных средах принимает форму палочки, а при длительной культивации – коккоидную форму [12, 13].

Длина бактерии составляет 2,5–3,5 мкм, ширина – 0,5–1,0 мкм. Наиболее благоприятными условиями существования геликобактера являются температура 37–42 °С и рН среды 6–8 [14]. При более низких значениях рН (4–6) бактерии сохраняют свою жизнеспособность, но прекращают рост и размножение [15].

Бактериальная клетка окружена хлопьевидным слоем геля (*гликокаликсом*). Гликокаликс представляет собой гликопротеидный полианионный гель, поддерживающийся матрицей и состоящий на 99% из воды. Он служит своеобразным анионным полимерным диффузионным барьером [16]. Разрушение гликокаликса приводит к повреждению бактериальной клетки, а в дальнейшем – к ее гибели [17].

Гликокаликс является своеобразным депо для уреазы – фермента, синтезируемого *H. pylori* и играющего важную роль в защите бактерий от неблагоприятного влияния кислого желудочного содержимого, осмотического фактора и ферментативных воздействий. Благодаря нитевидным выростам гликокаликса микроорганизм может прикрепляться к микроворсинкам желудочного эпителия [18].

H. pylori, подобно другим микроорганизмам, существующим в виде микроколоний, заключенных в гликокаликс, размножается относительно медленно, в связи с чем трудно поддается действию антимикробных препаратов [19]. Для успешного разрушения гликокаликса необходимо удалить из него двухвалентные катионы – Ca^{2+} и Mg^{2+} . При этом облегчаются проникновение и воздействие на клетку бактерии гидрофильных антимикробных препаратов [20].

На одном из полюсов клетки *H. pylori* расположены от 2 до 6 мономерных жгутиков, с помощью которых осуществляется движение бактерий [18]. Установлено, что *H. pylori* продуцирует ферменты уреазу, щелочную фосфатазу, глюкофосфатазу, протеазу, муциназу, фосфолипазу, супероксиддисмутазу, а также гемолизин, вакуолизирующий цитотоксин, белок, ингибирующий секрецию соляной кислоты, и белки-адгезины.

Естественной средой обитания геликобактерий является слизь желудка. Благодаря своему строению и продукции указанных веществ геликобактерии способны преодолевать защитные барьеры

желудка, прикрепляться к клеткам желудочного эпителия, колонизировать его слизистую оболочку, повреждать ее и вызывать развитие хронического патологического процесса [21].

Наиболее благоприятные условия для жизни возбудителя имеются в антральном отделе желудка, однако при лечении антисекреторными препаратами рН в этой области повышается, и *H. pylori* может перемещаться в область тела и дна желудка [22]. Геликобактер может проникать внутрь эпителиоцитов, что способствует хронизации инфекции и снижению эффективности эрадикационной терапии. Внутриклеточный пул *H. pylori* таким образом поддерживает стабильность внеклеточной популяции возбудителя [23].

Под действием неблагоприятных факторов, в частности антибактериальной терапии, образуются коккоидные формы *H. pylori*. Это может быть связано как с дегенеративными изменениями, так и с переходом в неактивную фазу. Коккоидные формы микроорганизма устойчивы к внешним воздействиям, способны выживать в просвете кишечника, однако утрачивают способность к репродукции. Попав в благоприятные условия, они вновь превращаются в полноценные вегетативные формы и могут колонизировать слизистую оболочку желудка [24]. Необходимо отметить, что кокковые формы абсолютно нечувствительны к действию антибиотиков [22].

Тяжесть клинического течения геликобактериоза во многом зависит от степени патогенности штаммов возбудителя, что, в свою очередь, определяется наличием и особенностями цитотоксических генов [25, 26].

Воспаление слизистой оболочки желудка – неизбежный результат взаимодействия *H. pylori* с клетками желудочного эпителия. Свойственный им прямой повреждающий эффект усиливается продукцией вакуолизирующего цитотоксина и высвобождением продуктов цитотоксинассоциированного гена А [27].

Вакуолизирующий цитотоксинассоциированный ген (Vacuolating cytotoxin-associated gene – vacA) присутствует в геноме всех штаммов *H. pylori*. В то же время существуют различные подтипы (s1a, s1b, s1c, s2) и аллельные комбинации (m1 и m2) этого гена. Штаммы s1/m1 имеют самые высокие уровни цитотоксической активности и наибольшую плотность колонизации слизистой оболочки желудка. В то же время s2/m2 штаммы почти не обладают цитотоксической активностью. При любом варианте гена *vacA* активность продуцируемого им цитотоксина возрастает по мере снижения рН желудочного сока [28].

VacA стимулирует вакуолизацию цитоплазмы в эукариотических клетках [29] и, по некоторым данным, способствует проникновению *H. pylori* в цитоплазму эпителиоцитов [23]. В результате эпидемиологических исследований была выявлена неоднородность географического распределения различных подтипов *vacA* гена, с которой могут быть связаны особенности течения патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта в разных регионах мира [30].

Другой ген – *cytotoxic-associated gene (cagA)* – обнаруживается в геноме лишь некоторых штаммов *H. pylori*. Инфицирование штаммом, содержащим этот ген, увеличивает экспрессию рецепторов адгезии ELAM-1 клетками эндотелия: 46% по сравнению с 16% у *cagA(-)* штаммов [31]. В связи с этим отмечается в 5 раз большая степень обсемененности слизистой оболочки желудка у данных пациентов [32]. Необходимо отметить, что и этот ген имеет аллельные вариации, встречающиеся в разных странах мира [33]. При этом в зависимости от подтипов *cagA* гена варьируют патогенные свойства *H. pylori* и его устойчивость к кислому желудочному содержанию [34].

Существует мнение, что *cagA* ген является маркером «островка» генов, определяющих патогенность возбудителя (около 40). Белки, кодируемые этими генами, вероятно, взаимодействуют непосредственно с клетками желудочного эпителия, вызывая каскад процессов, приводящих к их необратимому повреждению. Наличие этих генов у *H. pylori* определяет повышенный риск развития дуоденальной или желудочной язвы, а также аденокарциномы желудка [35, 36]. От 50 до 60% штаммов геликобактерий имеют ген *cagA*. Так же, как и для *vacA* гена, распространенность штаммов, содержащих ген *cagA*, неодинакова в различных регионах [37].

В последние годы открыт новый ген цитотоксичности – *iceA*, существующий в двух аллельных вариантах: *iceA1* (встречается при язвенной болезни) и *iceA2* (обнаруживается при гастрите) [38]. Предполагается, что патогенность продуктов, кодируемых этим геном, определяется влиянием их на активность бактериального фермента метилтрансферазы [39].

Наличие генов цитотоксичности позволяет объяснить, почему инфицирование *H. pylori* в различных случаях проявляется неодинаковой клинической картиной [40]. Наиболее часто язвенная болезнь или рак желудка развивается при колонизации штаммами *H. pylori*, имеющими s1/m1 вариант *vacA* гена и/или *cagA* гены [15, 28, 30, 35, 41]. Эти штаммы выявляются у 90% пациентов с язвенной болезнью и у 48% – с клинически выраженным гас-

титом [42] и по патогенным свойствам примерно в 4 раза превосходят другие штаммы *H. pylori* [41].

Эпидемиология

H. pylori является одной из наиболее широко распространенных на земном шаре инфекций. Согласно некоторым оценкам, до 50% населения во всем мире инфицированы этим микроорганизмом [9]. У большинства людей заражение происходит в молодом возрасте (до 20 лет), в то время как частота инфицирования взрослого населения составляет около 0,5% в год [43]. Наблюдается обратная зависимость между социально-экономическим положением человека и распространенностью инфекции, вызванной *H. pylori* [44].

В некоторых развивающихся странах большинство детей инфицируется *H. pylori* уже к 10-летнему возрасту, а к середине жизни возбудитель обнаруживается практически у каждого человека. В экономически развитых странах распространенность этой инфекции значительно ниже. В США, странах Европы и Океании инфицировано около 1/3 населения, большую часть которой составляют лица старшей возрастной группы [45, 46]. В странах Восточной Европы *H. pylori* обнаруживается у 40–70% населения [47], а в России – у 50–80% [44]. Несколько крупных эпидемиологических исследований указывают на более высокую распространенность инфекции у мужчин, чем у женщин (в среднем на 5–20%) [48].

В развивающихся странах геликобактерная инфекция имеет некоторые особенности. К ним следует отнести:

- высокую инфицированность населения;
- высокую частоту развития геликобактерного гастрита, составляющую более 70% у лиц детского и подросткового возрастов (в 3–4 раза выше, чем в развитых странах);
- более высокую частоту инфицирования в старшем возрасте (более 2% в год);
- распределение осложнений по частоте встречаемости (меньшую долю составляет язвенная болезнь желудка) [49].

Возможно, это обусловлено различным социально-экономическим уровнем и сочетанным действием этнических и генетических факторов [2].

Источником инфекции, вызванной *H. pylori*, является человек – больной или бактерионоситель [50]. Геликобактерии могут обнаруживаться в слюне, испражнениях, зубном налете [44]. Возбудитель передается орально-оральным или фекально-оральным путем [6, 44, 50]. Орально-оральный путь передачи инфекции реализуется при зондировании желудка и фиброгастроскопии в том случае,

если для стерилизации эндоскопов и зондов применяются несовершенные методы дезинфекции. Не исключается попадание *H. pylori* в организм с микроаэрозолем, который образуется при разговоре или кашле [51].

Инфицирование *H. pylori* обычно происходит в молодом возрасте. Однако то или иное заболевание обычно развивается только спустя несколько десятков лет. В течение этого длительного периода инкубации в организме хозяина развивается иммунный ответ на проникновение возбудителя. Иммунные реакции не в состоянии ликвидировать инфекцию, однако могут иметь важное значение в развитии болезни [52].

Колонизация слизистой оболочки желудка *H. pylori*, как правило, сопровождается развитием активного хронического гастрита, который иногда прогрессирует в диффузный атрофический гастрит [53]. Тем не менее только у определенной части инфицированных появляются клинически значимые симптомы болезни. К ним относятся язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, аденокарцинома желудка и MALT-лимфома [1, 54, 55, 56].

Инфицирование *H. pylori* приводит к формированию язвенной болезни главным образом у людей, имеющих так называемый «несекреторный» фенотип антигенов групп крови. Риск развития язвенной болезни увеличивается под влиянием курения, злоупотребления алкоголем, психоэмоциональных стрессов [57, 58, 59].

При сочетанном действии у человека всего комплекса провоцирующих факторов возникает тенденция к развитию язвенной болезни. Если пациент имеет А(II) группу крови и злоупотребляет поваренной солью, то с большей вероятностью у него образуется язва желудка, в то время как у лиц, имеющих 0(I) группу крови, относительно более часто развивается язва двенадцатиперстной кишки [60]. Кроме того, имеются факторы, уменьшающие риск образования язв. К ним относятся умеренное употребление алкоголя, регулярные дозированные физические нагрузки [61].

Механизмы патогенности бактерий

H. pylori обладает способностью к колонизации и персистенции в уникальной биологической нише – слизистой оболочке желудка. Этому способствуют определенные патогенные генетические детерминанты возбудителя, которые могут быть разделены на две основные группы: *факторы вирулентности*, способствующие нарушению физиологических процессов в желудке, и *факторы колонизации*, позволяющие бактериям существовать на слизистой оболочке желудка [3] (рис. 2).

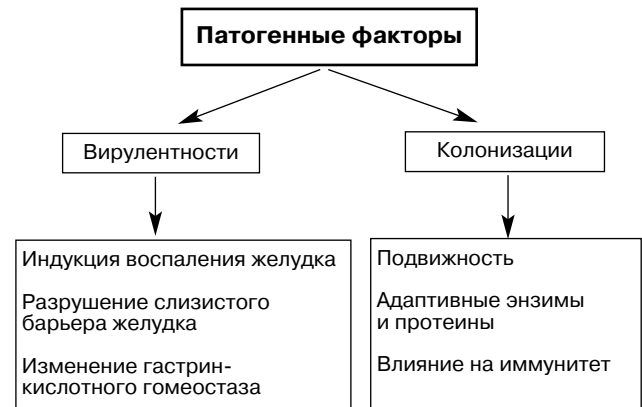


Рис. 2. Механизмы патогенности *H. pylori*

Наибольшую значимость среди факторов вирулентности исследователи отводят «островку» патогенности *cag* (*cag pathogenicity island* – *cag PAI*), представляющему собой генетически вариабельный участок, ответственный за адгезию микроорганизма к слизистой оболочке желудка [62].

Основными мишенями для *H. pylori* в слизистой оболочке желудка являются эпителиоциты, нейроэндокринные клетки, лейкоциты и лимфоциты. Взаимодействие с каждым видом клеток приводит к ряду событий. Из них наиболее важные – качественные и количественные изменения инфильтрации слизистой оболочки желудка клетками лимфоидного ряда, изменения желудочной секреции и нарушения клеточного цикла эпителиоцитов [2].

Механизмы колонизации *H. pylori*

После попадания в просвет желудка *H. pylori* подвергается агрессивному воздействию кислого содержимого. Однако все штаммы *H. pylori* продуцируют большое количество фермента уреазы [63]. Этот фермент разрушает проникающую в просвет желудка через стенку капилляров сосудистого русла мочевину. При этом образуются углекислый газ и аммиак, нейтрализующий соляную кислоту желудочного сока и создающий вокруг геликобактера локальную среду с pH 7, наиболее благоприятную для его существования [64].

Активность уреазы прямо пропорциональна степени снижения pH содержимого желудка [14, 15]. Это связано с тем, что уреазы обладают высокоаффинной кислотозависимой адгезией к муцину и липополисахаридам желудочной слизи [65]. Различают внеклеточную и внутриклеточную уреазу. Последняя имеет важное значение в обеспечении жизни *H. pylori*. Так, в мембране геликобактерий имеются специальные кислотозависимые каналы,

по которым мочеви́на поступает в цитоплазму клетки. Далее под влиянием внутриклеточной уреазы образуется аммиак, который поступает в периплазматическое пространство [66].

Фермент муциназа, выделяемый *H. pylori*, разрушает белок муцин, содержащийся в желудочной слизи. Вследствие этого вокруг бактерии формируется зона локального снижения вязкости желудочной слизи [21], уменьшаются ее гидрофобные свойства и толщина [67], нарушается слоистая структура геля слизи [68]. В дальнейшем *H. pylori* подавляет также и процесс синтеза муцина в желудке [69].

Благодаря щелочной реакции среды, изменению свойств слизи, спиралеобразной форме и высокой подвижности геликобактер из просвета желудка легко проникает в слой защитной слизи и контактирует с эпителиальными клетками [21]. При этом бактериальная фосфолипаза повреждает мембрану эпителиоцитов, что приводит к экспрессии на их поверхности рецепторов адгезии [70]. После этого часть микроорганизмов прикрепляется к эпителию, выстилающему антральный отдел желудка.

Только на поверхности клеток цилиндрического эпителия, образующих слизь, имеются рецепторы для адгезии геликобактерий. Более того, некоторыми исследователями установлено, что детерминанта антигенов O(I) группы крови является структурой, ответственной за фиксацию бактерий к желудочному эпителию [70].

Всего около 10% клеток *H. pylori*, обитающих в желудке, находятся в адгезированном состоянии, но этот процесс очень важен для развития болезни [22]. После адгезии геликобактер интенсивно размножается, колонизирует всю слизистую оболочку антрального отдела желудка, вызывает ее повреждение и воспаление [21].

Иммунитет и *H. pylori*

H. pylori имеет следующие антигены: липополисахарид клеточной стенки, специфический водорастворимый протеин, уреазу, CagA-протеин, VacA-цитотоксин. Липополисахарид наружной мембраны обладает O-специфической полисахаридной цепочкой, которая ответственна за антигенную мимикрию с антигенами групп крови по Lewis [71].

В процессе адгезии *H. pylori* к слизистой оболочке желудка быстро активируется продукция эпителиоцитами нескольких видов протеинкиназ (ERK, p38, JNK) [72]. Это, в свою очередь, повышает активность ядерных факторов транскрипции в клетках слизистой оболочки желудка [73]. Они играют основную роль в регуляции уровня экспрессии генов, контролирующей пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, стрессовую и воспалительную

реакции [74]. Процесс воспаления регулируется в основном протеинкиназами p38 и JNK. Последняя активируется в достаточной степени только при инфицировании *cagA(+)* штаммами *H. pylori*, что и определяет в таком случае большую степень выраженности воспалительного процесса [72].

Ключевыми провоспалительными цитокинами в организме считаются: *интерлейкин-8* (ИЛ-8) [71, 72, 75] и фактор активации нейтрофилов, синтезируемые в эпителиальных клетках [75]. Наиболее высокий уровень их определяется при инфицировании *cagA(+)* штаммами *H. pylori* [71, 72, 75, 76]. Именно эти цитокины обеспечивают хемотаксис и хемотаксис макрофагов и лейкоцитов и запускают каскад воспалительных реакций, сопровождающихся секрецией различных цитокинов [77, 78, 79].

Водорастворимый протеин *H. pylori* приводит к экспрессии нейтрофилами рецепторов CD11b/CD18, которые стимулируют ICAM-1-опосредованную адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам как *in vitro*, так и *in vivo* [78]. Это, в свою очередь, приводит к нарушению микроциркуляции, дегрануляции тучных клеток и агрегации лейкоцитов [80]. Дегрануляция тучных клеток сопровождается выделением из них гистамина, который резко повышает проницаемость сосудов и тем самым способствует поступлению в очаг воспаления нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов [78].

Ген, кодирующий синтез водорастворимого протеина, обнаружен у всех известных на сегодняшний день штаммов *H. pylori* [81]. Вероятнее всего, что этот белок является универсальным для возбудителя. Именно его наличием объясняется тот факт, что инфильтрация полиморфно-ядерными лейкоцитами наблюдается при геликобактериозе практически во всех случаях. С другой стороны, степень выраженности ее может быть различной, что зависит от влияния других факторов, таких, как уровень обсемененности и адгезии *H. pylori* [2].

Проникновение лейкоцитов и макрофагов через слизистую оболочку сопровождается разрушением межклеточных контактов, высвобождением цитотоксических ферментов и свободных радикалов [82].

Теоретически в последующем должна происходить адгезия лейкоцитов и макрофагов на поверхности бактерий, завершающаяся их фагоцитозом. Однако аммиак, образующийся под влиянием уреазы, способен повреждать мембраны фагоцитов, уменьшая их активность. Более того, уреазы может оказывать прямое ингибирующее действие на фагоцитоз [83]. Гемагглютинины, находящиеся на поверхности мембраны *H. pylori*, тормозят процессы адгезии, что также препятствует фагоцитозу [22]. В результате полного торможения фагоцитоза не

происходит, однако уровень его оказывается крайне низким.

При активации нейтрофилов активируются кислородозависимые бактерицидные механизмы (так называемый «кислородный взрыв») и усиливаются процессы гликолиза [84]. В результате образуются такие соединения, как миелопероксидаза, пероксид водорода, кальпротектин, дефенсины и синглетный кислород. Эти соединения обладают выраженными бактерицидными свойствами [85].

В то же время *H. pylori* продуцирует супероксиддисмутазу – фермент, препятствующий контакту бактериальной клетки с лейкоцитами, и каталазу, которая нейтрализует пероксид водорода в фагоцитарных вакуолях и предохраняет микроорганизм от действия активных радикалов, выделяемых макрофагами [2, 83].

В процессе фагоцитоза макрофаги выделяют ИЛ-1, который активирует Т-хелперы. Последние обеспечивают бласттрансформацию В-лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие специфические антитела [21]. Эти антитела поступают не только в кровь, но и в подслизистый слой желудка, где связываются с бактериями и нейтрализуют их токсины.

В слизистой оболочке желудка наблюдаются усиленная продукция преимущественно IgA-антител, обладающих способностью предотвращать адгезию геликобактерий.

Таким образом, именно IgA принадлежит основная роль в защите от инфекции, вызванной *H. pylori*. Однако при хроническом геликобактериозе защитная функция антител класса А оказывается недостаточной.

Наряду с IgA образуются IgG- и IgM-антитела, которые активируют комплемент и инициируют развитие нейтрофильной реакции [21, 86].

Наиболее известным способом снижения иммунного ответа макроорганизма, который имеется у *H. pylori*, является низкая иммуногенность продуктов его жизнедеятельности и мембранных антигенов. Действительно, липополисахарид клеточной стенки *H. pylori* обладает низкой биологической активностью [87]. Структура липополисахаридного О-специфического антигена у разных штаммов *H. pylori* сходна с антигенами групп крови (по системе Lewis) макроорганизма [88]. Эта антигенная мимикрия может быть причиной образования аутоантител к слизистой оболочке желудка и развития аутоиммунного атрофического гастрита [89, 90].

О-специфический антиген наиболее часто встречается у *cagA(+)* штаммов *H. pylori*. В связи с этим именно эти штаммы, вероятно, чаще вызывают развитие аутоиммунных реакций и приводят к

формированию атрофического гастрита [90]. Необходимо отметить, что связь между *H. pylori*-ассоциированными болезнями желудочно-кишечного тракта и определенными антигенами групп крови по системе Lewis подтверждена только в некоторых исследованиях [91].

В силу низкой иммуногенности *H. pylori* не образуется адекватный уровень специфических антител. У пациентов формируется состояние иммунологической толерантности [2]. В связи с этим можно сделать вывод, что при инфицировании *H. pylori* происходит селекция адаптированного к хозяину фенотипа возбудителя [89]. В ряде исследований установлена географическая зависимость фенотипических особенностей штаммов *H. pylori* [92].

Как известно, основную регуляцию местного иммунного ответа осуществляют Т-лимфоциты. При геликобактерном гастрите наблюдается существенный сдвиг в сторону Т-хелперов 2-го типа (Th2), синтезирующих преимущественно ИЛ-4 и ИЛ-6 [93]. Th1-клетки в основном регулируют клеточный иммунитет, Th2-клетки – реакции гуморального иммунитета [94].

Для формирования адекватного протективного иммунитета необходим смешанный Th1/Th2 ответ. Преимущественный Th2-тип иммунного ответа предопределяет персистенцию бактерий и хронизацию патологического процесса [95]. После эрадикации *H. pylori* нормализуется соотношение числа Th2- и Th1-клеток [96].

Преобладание Th2-клеток и выделяемых ими цитокинов подавляет стимулированную антигенами *H. pylori* пролиферацию лимфоцитов как в собственной пластинке слизистой оболочки желудка, так и в периферической крови инфицированных. У здоровых лиц такого феномена не наблюдается. Торможение пролиферации лимфоцитов является антигенспецифическим процессом: у тех же пациентов не наблюдается торможения пролиферации лимфоцитов при использовании других стимуляторов, таких, как фитогемагглютинин или дериваты различных белков [97].

Активация Th2-клеточного ответа вызывает преимущественную трансформацию В-лимфоцитов в IgG-продуцирующие плазматические клетки. В то же время IgG не способен обеспечить протективный иммунитет в слизистой оболочке желудка. Небольшое количество плазматических, продуцирующих специфический IgA, не обеспечивает его адекватного уровня.

Транспорт IgA через эпителий и секреция в просвет желудка возможны только в его димерной форме. При геликобактерном гастрите экспрессия

J-цепи во всех плазмоцитах (за исключением IgM-продуцирующих) снижена. Так, в одном исследовании J-цепь IgA была обнаружена только в 38,8% IgA-продуцирующих клеток у пациентов с хроническим гастритом по сравнению с 75,8% у здоровых лиц [98]. Это приводит к нарушению полимеризации IgA, снижению его концентрации в желудочном соке и, как следствие, к увеличению длительности повреждающего действия *H. pylori* на слизистую оболочку желудка [99].

Необходимо отметить, что в экспериментальных исследованиях на обезьянах при остром *H. pylori*-ассоциированном гастрите наблюдалось увеличение числа преимущественно Th1-клеток, а также повышение продукции ИЛ-2, γ -интерферона, фактора некроза опухоли [100].

Инфицирование *H. pylori* стимулирует как местную, так и системную продукцию антител. Системный ответ заключается, как правило, в транзитном повышении уровня IgM с последующим нарастанием уровня специфических IgA и IgG [101]. *H. pylori*-специфические иммуноглобулины классов A и M обнаруживаются в желудочном соке приблизительно у $1/3$ пациентов с геликобактерным гастритом, подтверждая тем самым активацию их местного синтеза [102]. После колонизации желудка *H. pylori* уровень специфического IgM в крови быстро повышается и возвращается к нормальному уровню в течение нескольких дней. В то же время IgG и IgA начинают синтезироваться несколько позже,

однако их уровни сохраняются еще в течение 2 лет, постепенно снижаясь в случае полной эрадикации возбудителя [2].

Влияние *H. pylori* на желудочную секрецию

Кислото- и пепсиновыделительные функции желудка связаны с главными и обкладочными клетками в области тела и дна желудка. Их функциональная активность во многом зависит от продукции G- и D-клетками гастрин и соматостатина соответственно.

При остром инфицировании *H. pylori* подавляется активность H^+ , K^+ -АТФазы, а значит, и кислотности желудочного сока [103]. В дальнейшем основной мишенью для *H. pylori* среди эндокринных клеток слизистой оболочки желудка служат G-клетки (рис. 3).

У подавляющего большинства инфицированных наблюдается гипергастринемия разной степени выраженности. Обусловлена она прежде всего гиперстимуляцией G-клеток цитокинами, которые выделяются клетками воспалительного инфильтрата собственной пластинки слизистой оболочки. Секретия гастрин резко возрастает при стимуляции ИЛ-1 и фактором некроза опухоли, для которых на мембране G-клеток имеются соответствующие рецепторы [104].

Доказано также, что не только цитокины, но и непосредственный контакт мононуклеаров с G-клетками способен стимулировать секрецию гастрин [105]. Кроме того, при непосредственном контакте бактерий с эпителиоцитами в последних увеличивается содержание ядерного фактора транскрипции NF- κ B, который среди прочих эффектов приводит к возрастанию продукции гастрин [73]. В свою очередь, гастрин, кроме регуляции секреции желудочного сока, непосредственно стимулирует рост *H. pylori* [106].

С другой стороны, при геликобактерных поражениях слизистой оболочки желудка снижается концентрация соматостатина. Таким образом, влияние этого «естественного ограничителя» секреции гастрин на G-клетки недостаточно [107]. Установлено, что тормозит активность D-клеток ИЛ-8, секретруемый эпителиоцитами под действием *H. pylori* и клетками воспалительного инфильтрата слизистой оболочки желудка [108]. Кроме того, *H. pylori* блокирует мРНК соматостатина [109].

Возможным дополнительным фактором, влияющим на выработку гастрин и соматостатина, является непосредственное воздействие на G- и D-клетки локальной щелочной среды бактерий, обусловленной образованием аммиака [21, 22]. Роль соматостатина не ограничивается регуляцией продукции соляной кислоты. Показано, что он не-

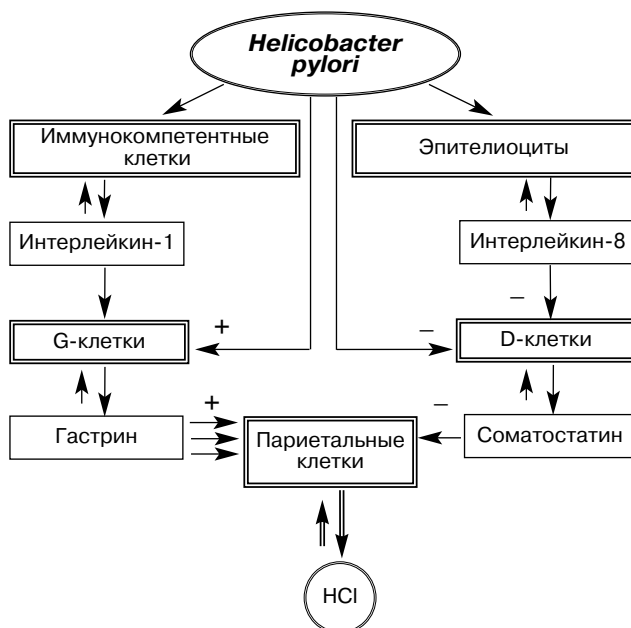


Рис. 3. Механизмы влияния *H. pylori* на продукцию желудочного сока

посредственно подавляет пролиферацию *H. pylori*, то есть увеличивает резистентность организма к инфекции [110].

Главным звеном в реализации максимальной гастринстимулированной секреции HCl является гистамин. Источником его в желудке служат тканевые базофилы (тучные клетки), ECL-клетки и гистаминергические нервные волокна. Наиболее важны ECL-клетки. Тучные клетки, по-видимому, больше участвуют в механизмах репарации, чем в регуляции секреции HCl. Подтверждается это отсутствием корреляции между концентрацией гистамина в крови, содержанием его в слизистой оболочке желудка и количеством тучных клеток. Напротив, такая корреляция четко прослеживается применительно к ECL-клеткам.

Плотность ECL-клеток при дуоденальных язвах увеличена более чем в 3 раза, причем не только в сравнении с нормой, но и с *H. pylori*-гастритом. Отличий в содержании тучных клеток у таких больных найти не удается [111].

P. Vecchi и соавт. (1996) считают, что дуоденальная язва – результат фазного двухступенчатого процесса. По-видимому в 1-й фазе *H. pylori* детерминирует увеличение концентрации гастрин за счет устранения ингибирующего эффекта соматостатина и холецистокинина. Во 2-й фазе длительная гипергастринемия ведет к гиперплазии ECL-клеток с увеличением выработки гистамина и последующей стойкой гиперхлоргидрии – непосредственной причине образования язвы [111].

Хотя эта концепция и не объясняет, почему у одних инфицированных развивается гиперплазия ECL-клеток, а у других нет, она понятно объясняет разницу в секреции HCl, несмотря на почти одинаковую гипергастринемия у больных геликобактерным гастритом и дуоденальной язвой [2].

После эрадикации *H. pylori* при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки содержание гастрин в крови и максимальная кислотная продукция достоверно снижаются [112]. Причем стимулированная продукция соляной кислоты и выработка пепсина снижаются в среднем на $\frac{2}{3}$ сразу же после исчезновения бактерий (параллельно со снижением уровня гастрин в крови) [113], тогда как базальная кислотная продукция снижается только спустя значительное время [114].

Надо отметить, что ни в одном исследовании кислотность желудочного сока не снижалась до нормального уровня. Это можно объяснить тем, что влияние *H. pylori* на желудочную секрецию не только прямое, но и опосредованное – вследствие развития хронического гастрита, а его обратная эволюция требует значительного времени.

Кроме того, у пациентов с язвенной болезнью увеличены количество париетальных клеток и чувствительность их рецепторов к гастрину. Эти эффекты не исчезают после эрадикации *H. pylori* [115]. Вероятно, это конституционально обусловленный феномен, который можно отнести к этиологическим факторам язвенной болезни [2].

У части пациентов с язвенной болезнью имеется гиперплазия G-клеток [116], и их плотность при исчезновении *H. pylori* не уменьшается [117]. Это может быть как наследственно обусловленным, так и приобретенным фактором [2]. Однако изменения ультраструктуры G-клеток у пациентов с *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезнью исчезают после уничтожения бактерий [118]. В то же время у всех пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки имеется дефицит D-клеток в антральном отделе по сравнению с таковым показателем в группе неинфицированных *H. pylori* лиц. Причем после эрадикации *H. pylori* число D-клеток, содержание мРНК соматостатина и концентрация самого соматостатина в ткани увеличиваются [117].

Кроме того, при инфицировании штаммами *cagA(+)* отмечается повышение общего уровня пепсиногенов и уменьшение соотношения уровней пепсиногенов A/C, что также повышает агрессивные свойства желудочного сока [119].

Таким образом, *H. pylori* нарушает секрецию гастроинтестинальных гормонов, увеличивая секрецию гастрин, что приводит к возрастанию продукции HCl в желудке. Не исключено ее влияние на секрецию других гормонов или на чувствительность к ним соответствующих рецепторов.

Влияние *H. pylori* на состояние слизистой оболочки желудка

По данным электронной микроскопии, наиболее ранней реакцией эпителиоцитов на *H. pylori* является гиперплазия микроворсинок, что препятствует прилипанию бактерий к цитоплазматической мембране. Но в дальнейшем бактерии разрушают их с помощью своих токсинов и тесно соединяются с мембраной клеток [2].

Выделяющиеся бактериальные ферменты – фосфолипазы, протеазы, муциназа – разрушают защитный слизистый барьер желудка и воздействуют на мембраны клеток желудочного эпителия. Фосфолипазы бактерий повреждают фосфолипидные слои клеточной оболочки эпителиоцитов. При этом клеточная мембрана переходит из гидрофобного состояния в гидрофильное. Это снижает резистентность клеток желудочного эпителия к соляной кислоте. Аммиак, образующийся под влияни-

ем геликобактера, соединяется с соляной кислотой и образует цитотоксические продукты, в том числе гидроксиамин и монохлорамин. Это обстоятельство усугубляет повреждение клеток желудочного эпителия [77].

Колонизация *H. pylori* желудка приводит к активированию макрофагов и нейтрофилов в слизистой оболочке. В результате развивается каскад химических реакций с образованием соединений активного кислорода. Бактерии вырабатывают ряд ферментов, нейтрализующих эти активные метаболиты. В то же время в самой эпителии реактивный кислород и миелопероксидаза активированных лейкоцитов вызывают тяжелые деструктивные изменения. Таким образом, защитная реакция повреждает собственные клетки слизистой оболочки [2].

Определенное значение в повреждении клеток слизистой оболочки имеет активирование циклооксигеназы-2 и нитрооксидсинтазы в эпителиоцитах [120].

Инфицирование *H. pylori*, с одной стороны, приводит к повреждению слизистого барьера желудка и большей уязвимости эпителиоцитов, а с другой, повышает агрессивные свойства (кислотность) желудочного сока. Совокупность этих процессов усугубляет повреждение клеток слизистой оболочки желудка, вызывает их дистрофию и гибель, что облегчает проникновение геликобактера вглубь слизистой оболочки [21].

В ответ на длительное перманентное повреждение желудочного эпителия усиливается и становится постоянной пролиферация эпителиальных клеток в антральном отделе и в теле желудка [121].

Пролиферация усиливается за счет ослабления функции кейлонов [2] и повреждения бактериями межклеточных контактов [21]. Темпы пролиферации эпителиоцитов коррелируют с выраженностью воспаления. Наибольшим стимулирующим влиянием на пролиферацию обладают цитотоксические штаммы *H. pylori* – *cagA(+)* *vacA(+)* подтипа *s1a* [2, 122].

Следует отметить, что нормализация пролиферации после эрадикации *H. pylori* в антральном отделе наступает быстро, а в теле желудка затягивается на более длительный срок (около полугода) [121]. Это указывает на то, что усиление пролиферации связано не только с самим возбудителем, но и со степенью воспаления.

В антральном отделе существенную роль играет активность гастрита, которая снижается и даже исчезает при резком уменьшении числа бактерий, а в теле желудка, очевидно, важное значение в стимуляции пролиферации имеет лимфоцитарная инфильтрация, которая после эрадикации *H. pylori*

уменьшается медленно – по мере естественной элиминации клона лимфоцитов [2].

Среди механизмов лимфоцитарной стимуляции пролиферации наибольшее внимание привлекают различные ИЛ и факторы роста. На мембране эпителиоцитов в ответ на действие аммония и токсинов, продуцируемых *H. pylori*, возникает экспрессия соответствующих рецепторов. Недавно было доказано, что на эпителиоцитах при геликобактерном гастрите резко увеличена экспрессия рецепторов к эпидермальному фактору роста, а этот механизм является универсальным и одним из самых мощных для стимуляции пролиферации [123].

H. pylori нарушает не только пролиферацию эпителия, но и влияет на обратный процесс – апоптоз. При геликобактерном гастрите апоптозу подвергается значительно большее количество клеток, чем в норме, причем это явление полностью обратимо при эрадикации *H. pylori* [124].

Активация апоптоза на фоне усиления пролиферации вполне естественна. В этом случае появляется больше незрелых клеток, которые быстрее повреждаются и поэтому элиминируются естественным биологическим путем – с помощью апоптоза [125].

Интересен факт, что апоптозный индекс у пациентов, инфицированных *cagA(+)* *vacA(+)* *s1a*-штаммом *H. pylori*, ниже, чем у пациентов, инфицированных *cagA(-)* штаммами [122]. При инфицировании такими штаммами *H. pylori* отмечаются значительная стимуляция пролиферации и одновременно уменьшение апоптоза, что дает возможность выжить эпителиоцитам с поврежденной ДНК, и эти повреждения (мутации) могут накапливаться. Значение накопления мутаций в канцерогенезе общеизвестно и считается ключевым [2].

Под воздействием *H. pylori* в слизистой оболочке желудка развиваются процессы дистрофии и атрофии. Это уменьшает продукцию желудочной слизи, которая предохраняет эпителий от действия агрессивных факторов желудочного сока и приводит к развитию кишечной метаплазии. По мере прогрессирования последней в слизистой оболочке появляется все больше клеток, лишенных рецепторов к *H. pylori*, что снижает возможности бактерий к адгезии [2, 126].

Постепенно воспалительный процесс из антрального отдела распространяется на тело желудка, начинают преобладать атрофические изменения слизистой оболочки, развивается диффузный атрофический пангастрит. Эти процессы сопровождаются снижением кислотности желудочного сока вплоть до ахлогидрии, что неблагоприятно сказывается на *H. pylori*. Резкое уменьшение количества рецепторов к адгезинам бактерий на метаплазиро-

ванном эпителии и повышение уровня рН желудочного содержимого определяют отсутствие бактерий в слизистой оболочке желудка на этом этапе болезни [21].

После эрадикации *H. pylori* снижается степень воспаления и атрофии в слизистой оболочке антрального отдела желудка, но кишечная метаплазия сохраняется на прежнем уровне [127].

Гиперплазия и метаплазия желудочного эпителия значительно увеличивают риск развития рака желудка и MALT-лимфомы [128]. Результаты множества эпидемиологических исследований продемонстрировали этот риск, особенно когда *H. pylori*-инфекция была приобретена в детстве. Они заставили Всемирную организацию здравоохранения определить данный микроорганизм как канцероген 1-го типа [129].

Механизмы возникновения язвы желудка

H. pylori увеличивает частоту язвообразования либо в результате уменьшения действия факторов защиты, либо за счет увеличения влияния факторов агрессии в желудке [37]. Однако это не может в полной мере объяснить образование язвы желудка.

Оказалось, что липополисахариды наружной мембраны *H. pylori* обладают свойством взаимодействовать с ламинином базальной мембраны эпителия желудка. Это разрывает его связь с интегрином, вследствие чего нарушается целостность эпителиального покрова – эпителиоциты утрачивают контакт с базальной мембраной и слущиваются с образованием микродефектов на поверхности слизистой оболочки [130, 131]. Однако прямого действия *H. pylori* на эпителий недостаточно для его разрушения и образования дефекта.

Под влиянием метаболитов реактивного кислорода и миелопероксидазы активированных лейкоцитов развиваются тяжелые деструктивные изменения эпителия [2, 132] и повреждаются эндотелий мелких сосудов, что нарушает микроциркуляцию и трофику стенки желудка [133].

Кроме того, активируется фактор агрегации тромбоцитов. В результате в микрососудах слизистой оболочки желудка образуются тромбоцитарные агрегаты, а затем – обтурирующие пристеночные тромбы [22, 134]. Это может быть причиной очаговых инфарктов слизистой оболочки желудка, что влечет за собой ее изъязвление. Через поврежденные участки усиливается обратный ток ионов водорода, усугубляя повреждение тканей. Таким образом можно представить себе связь между *H. pylori* и язвой желудка [2].

При любом повреждении слизистой оболочки усиливается пролиферация эпителия. В краях не

только острых язв, но и хронических резко увеличивается количество делящихся клеток. Пролиферация эпителия в краях хронических язв всегда усилена. Но эпителий, наползающий с краев язв на дно, не полностью дифференцирован. В нем очень мало или почти нет мукоида, поэтому он становится легкоуязвимым для соляной кислоты и пепсина, что препятствует заживлению язвенного дефекта.

Кроме того, в зоне изъязвления отмечается недостаточное кровоснабжение, также способствующее пролонгированию существования язвы. Это подтверждается тем, что большинство хронических язв локализуется на малой кривизне, где кровоснабжение слабее, чем в других отделах желудка. При сокращении мышц стенки желудка расположенные здесь артерии сдавливаются, что может вызывать локальную ишемию и некроз.

Регенерация слизистой оболочки как физиологическая, так и репаративная обеспечивается соотношением новообразования клеток и их гибели, в первую очередь путем апоптоза. При язвенной болезни увеличивается пролиферация эпителия, а в еще большей степени – апоптоз. В экспериментальных исследованиях показано, что пролиферация в краях язв увеличивается на 40%, а гибель клеток путем апоптоза – на 270% [135]. Это может рассматриваться как серьезная причина задержки репаративной регенерации.

Непосредственно *H. pylori* не может усиливать апоптоз, так как в краях язв (на регенерирующем эпителии) нет условий для его существования. Вероятно, главную роль в этом играют аммиак и липополисахариды бактерий [2]. При этом активируются Fas-рецепторы (CD95), которые называют «рецепторами смерти». После присоединения к этому рецептору специфического лиганда наступает гибель клетки.

Поставщиками лигандов служат лимфоциты и сами эпителиальные клетки слизистой оболочки желудка. Активация лигандов также происходит под влиянием *H. pylori* [136]. Кроме того, при *H. pylori*-ассоциированной язвенной болезни усилена активность генов, стимулирующих апоптоз (*bax*), и снижена активность ингибиторов (*bcl-2*) [137].

Возникновение изъязвления в гастродуоденальной зоне усиливает секрецию эпидермального фактора роста (ЭФР) и увеличивает экспрессию соответствующих рецепторов на эпителиоцитах. Возрастает также синтез PGE₂, стимулирующего ангиогенез, пролиферацию эпителия и выработку факторов роста. При инфицировании *H. pylori* снижается содержание ЭФР и PGE₂ в слизистой оболочке желудка [136]. Все это тормозит эпителизацию образовавшихся дефектов.

При увеличении концентрации аммиака в желудочном соке резко возрастает концентрация гидроксипролина в дне язв, больше откладывается коллагена III типа [138]. Коллаген III типа – это незрелый коллаген, который преобладает в ранние фазы воспаления, при формировании келоидных рубцов.

Итак, в дне и краях хронических язв развивается рубцовая ткань, нарушающая трофику новообразованной слизистой оболочки и способствующая рецидивированию язв.

Механизм возникновения язвы двенадцатиперстной кишки

Колонизация антрального отдела желудка *H. pylori* приводит, как указывалось выше, к гиперсекреции соляной кислоты и инфильтрации слизистой оболочки лимфоцитами, снабженными рецепторами для нейротрансмиттеров, усиливающих моторную функцию желудка. Кроме того, *H. pylori* влияет на моторику желудка посредством изменения чувствительности рецепторов к холецистокинину [139]. Все это обуславливает выброс кислого желудочного содержимого в двенадцатиперстную кишку.

Частое попадание желудочного сока с низким рН в двенадцатиперстную кишку в течение длительного времени постепенно приводит к желудочной метаплазии эпителия кишки. Это подготавливает «почву» для проникновения *H. pylori* в кишечник: там появляются эпителиоциты с соответствующими рецепторами. Далее патологический процесс протекает аналогично таковому в желудке. Метаплазированный эпителий двенадцатиперстной кишки колонизируется *H. pylori*, повреждаются эпителиоциты, возникают дуоденит, разрушение защитного слоя слизи и изъязвление. Затем чередуются процессы изъязвления и регенерации с формированием хронической дуоденальной язвы – субстрата язвенной болезни [140]. Надо отметить, что для язвенной болезни характерна высокая степень обсемененности *H. pylori* луковицы двенадцатиперстной кишки [141].

Одного инфицирования *H. pylori* для развития хронической язвы недостаточно. Она возникает лишь при наличии ряда других факторов, в первую очередь генетических. Таким образом, только сочетание наследственных факторов с инфицированием *H. pylori* создает предпосылки к развитию язвенной болезни [2]. Об этом же свидетельствуют и результаты эпидемиологических исследований.

В последние десятилетия отмечается постоянный рост кислотности желудочного сока у жителей большинства развитых стран. Косвенное подтверждение этому – значительное увеличение числа

больных рефлюкс-эзофагитом [142]. То, что при этом заболеваемость дуоденальной язвой неуклонно снижается, можно объяснить только резким уменьшением инфицированности *H. pylori* в развитых странах [143].

При уничтожении *H. pylori* рецидивов болезни не возникает. Ремиссия длится до тех пор, пока не происходит реинфекция *H. pylori*, частота которой не превышает 1,5% в год для взрослых [144].

Неясна точная роль *H. pylori* в развитии язвенного кровотечения. Вероятно, от степени инфицирования зависит частота эпизодов кровотечения, но не его тяжесть [145].

***Helicobacter pylori* и онкологические заболевания желудка**

Инфицирование *H. pylori* приводит к увеличению риска развития не только язвенной болезни, но и рака желудка [1, 55, 146, 147]. Колонизация *H. pylori* слизистой оболочки желудка неизменно сопровождается возникновением воспаления и хронического гастрита, хотя это часто протекает бессимптомно. Однако у большинства инфицированных не развивается более тяжелых поражений желудочно-кишечного тракта. Вероятно, исход инфекции определяется комбинированным влиянием факторов, включая вариабельность микроорганизмов и ответа хозяина на инфекцию, воздействие окружающей среды. Штаммы *H. pylori* высокогетерогенны, и *cagA(+)* штаммы вызывают наиболее выраженное воспаление и высокий уровень секреции цитокинов [148], что предопределяет важную роль *cagA* в развитии рака желудка [149].

При хроническом *H. pylori*-гастрите происходит потеря железистых структур слизистой оболочки желудка с формированием атрофического гастрита [150], развиваются кишечная метаплазия и дисплазия, что увеличивает риск развития рака желудка, особенно его дистального отдела [55].

Новообразования в проксимальном отделе желудка, составляющие до 50% всех онкологических заболеваний желудка в промышленных странах, не связаны с *H. pylori* [45]. Результаты контролируемых исследований, проведенных в 1972–1986 гг. в Норвегии, включавшие 101 601 человека, продемонстрировали выраженную положительную корреляцию между *H. pylori*-инфекцией и некардиальным раком желудка и статистически достоверную отрицательную корреляцию с раком кардии [151]. Оказалось, что у пациентов с наследственно отягощенным по раку желудка анамнезом частота инфицирования *H. pylori* значительно выше, чем в спорадических случаях онкологического заболевания [152, 153]. Эти результаты подтверждают роль

H. pylori-инфекции как фактора риска некардиального рака желудка.

Недавнее признание *H. pylori*-ассоциированного гастрита общим патогенным фактором для множества разнообразных гастроудоденальных болезней позволило предположить, что основой их развития является вовлечение местной иммунной системы слизистой оболочки [154]. Имеется одна характерная особенность в этом процессе – это мононуклеарная и лимфоплазмноклеточная инфильтрация в пределах слизистой оболочки, длительно поддерживающая хроническое воспаление. Обнаружена тесная корреляция между распространенностью лимфоидных фолликулов и мононуклеарных инфильтратов и плотностью заселения *H. pylori* желудка.

Лимфоидные фолликулы никогда не обнаруживаются в нормальной слизистой оболочке желудка, и их появление при *H. pylori*-ассоциированном гастрите является веским доказательством того, что это предшественники MALT-лимфомы [1, 56, 128, 155]. Прежде чем лимфома возникает, в желудке развивается ассоциированная со слизистой оболочкой лимфоидная ткань (MALT), что рассматривается как часть ответа на иммунологический стимул. В большинстве случаев это ответ на инфекцию *H. pylori*.

Таким образом, индуцированная *H. pylori* активация Т-лимфоцитзависимых В-клеток может служить причиной MALT-лимфомы [156]. Клинические исследования показали, что у ряда пациентов с лимфомой желудка антигеликобактерная терапия может приводить к регрессу опухоли [55, 128, 157].

Инфекция *H. pylori* фактически всегда хроническая. У большинства пациентов она продолжается десятилетиями. Самопроизвольного излечения практически не бывает. Имеется достаточно данных, что *H. pylori*-гастрит увеличивает риск развития рака желудка. Однако, вопреки большинству

других признанных канцерогенов, экспериментальных подтверждений онкогенеза *H. pylori*-инфекции не хватает. Следовательно, объяснения эти гипотетические [158].

В онкогенезе кишечная метаплазия имеет критическое значение в последовательной прогрессии от хронического активного гастрита, хронического атрофического гастрита и дисплазии к раку желудка. Поэтому повреждения эпителия кишечного типа рассматриваются как предшественники рака желудка [159]. *H. pylori*-инфекция может увеличивать риск развития рака желудка в 2,8–6 раз [35, 128]. Кишечная метаплазия и *H. pylori*-инфекция связаны с желудочным онкогенезом возрастнo-зависимым образом. Причем возраст и инфекция являются независимыми факторами риска развития метаплазии [3].

Результаты недавнего исследования в Китае в районах с относительно низким риском развития рака желудка показывают, что инфекция *H. pylori* была фактором риска развития и прогрессии преждевременных предраковых изменений желудка, таких, как кишечная метаплазия и дисплазия. Распространенность *H. pylori* была самой низкой (19%) среди пациентов с нормальной слизистой оболочкой, устойчиво повышаясь до 35% при поверхностном гастрите, 56% – при хроническом атрофическом гастрите, 80% – при кишечной метаплазии и 100% – при дисплазии [160].

Однако остается одна важная проблема: при какой степени *H. pylori*-индуцированные предраковые изменения будут регрессировать или по крайней мере прекратится их прогрессирование после успешной эрадикации бактерий. Вообще полагается, что за исключением низкодифференцированных желудочных MALT-лимфом на некоторой стадии *H. pylori*-инфекция больше не требуется для прогрессирования патологического процесса и трансформации в рак желудка [3].

Литература

1. Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Гастроэнтерология XXI века. РМЖ 2000; 17:697-703.
2. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. Москва: Триада-Х; 1998.
3. Periti P., Tonelli F., Capurso L., Nicoletti P. Managing *Helicobacter pylori* infection in the new millennium: a review. J Chemotherapy 1999; 11(Suppl 4):3-55.
4. Marshall B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983; 1:1273-5.
5. Marshall B.J., McGeachie D.B., Rogers P.A., Glancy R.J. Pyloric campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med J Aust 1985; 142:436-9.
6. Goodwin C.S., Armstrong J.A., Chilvers T., et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Int J System Bacteriol 1989; 39:397-405.
7. Ernst P.B., Gold B.D. The Disease Spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Ann Rev Microbiol 2000; 54:615-40.

8. Blaser M.J. Clinical review. Science, medicine, and the future. *Helicobacter pylori* and gastric diseases. *BMJ* 1998; 316:1507-10.
9. Feldman R.A., Eccersley A.J.P., Hardie J.M. Epidemiology of *Helicobacter pylori*: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. *Brit Med Bull* 1998; 54:39-53.
10. Blaser M. Ecology of *Helicobacter pylori* in Human stomach. *J Clin Invest* 1997; 100:759-62.
11. Баранская Е.К. Язвенная болезнь и инфекция *Helicobacter pylori*. *БОП* 2000; 1:8-14.
12. Bode G., Mauch F., Malfertheiner P. The coccoid forms of *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability. *Epidemiol Infect* 1993; 111:483-90.
13. Williams C.L. *Helicobacter pylori*: bacteriology and laboratory diagnosis. *J Infect* 1997; 34:1-5.
14. Scott D., Weeks D., Melchers K., Sachs G. The life and death of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1998; 43 (Suppl 1): S56-S60.
15. Mobley H.L.T. *Helicobacter pylori* factors associated with disease development. *Gastroenterology* 1997; 113:S21-8.
16. Armstrong J.A., Wee S.H., Goodwin C.S., Wilson D.H. Response of *Campylobacter pylori* to antibiotics, bismuth and an acid-reducing agent *in vitro* – an ultrastructural study. *J Med Microbiol* 1987; 24:343-50.
17. Stratton C.W. Mechanisms of action for antimicrobial agents: general principles and mechanisms for selected classes of antibiotics. In: Lorian V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, fourth edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1996. p. 579-603.
18. Goodwin C.S., McCulloch R.K., Armstrong J.A., Wee S.H. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pylori*) from the human gastric mucosa. *J Med Microbiol* 1987; 19:257-67.
19. Vaara M., Vaara T. Polycations as outer membrane-disorganizing agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24:114-22.
20. Vaara M., Vaara T. Polycations sensitize enteric bacteria to antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24:107-13.
21. Окорочков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов. Т. 1. Москва: Мед лит; 1999.
22. Пиманов С.И. Эзофагит, гастрит и язвенная болезнь. Москва: Мед кн; 2000.
23. Bjorkholm B., Zhukhovitsky V., Lofman C., et al. *Helicobacter pylori* Entry into human gastric epithelial cells: a potential determinant of virulence, persistence, and treatment failures. *Helicobacter* 2000; 5:148-54.
24. Cole S.P., Cirillo D., Kagnoff M.F., et al. Coccoid and spiral *Helicobacter pylori* differ in their abilities to adhere to gastric epithelial cells and induce interleukin-8 secretion. *Infect Immun* 1997; 65:843-6.
25. Shimoyama T., Crabtree J.E. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998; 43(Suppl 1):S2-S5.
26. Solnick J.V., Schauer D.B. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:59-97.
27. Atherton J.C. *H. pylori* virulence factors. *Br Med Bull* 1998; 54:105-20.
28. Figura N. Are *Helicobacter pylori* differences important in the development of *Helicobacter pylori*-related diseases? *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997; 29:367-74.
29. Leunk R.D., Johnson P.T., David B.C., et al. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol* 1988; 26:93-9.
30. Van Doorn L.-J., Figueiredo C., Megraud F., et al. Geographic distribution of *vacA* allelic types of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1999; 116:823-30.
31. Torres A., Perez-Perez G., Goreia Buey M., Pajares J. Immunological adhesion molecules on gastric mucosa. Does *H. pylori*, and specifically *cagA*⁺ strains influence its expression? *Gut* 1995; 37 (Suppl 1):A34.
32. Atherton J.C., Peek R.M., Tham K.T., et al. Quantitative culture of *Helicobacter pylori* in gastric antrum: association of bacterial density with duodenal ulcer status and infection with *cagA* positive bacterial strains, and negative association with serum IgG levels. *Am J Gastroenterol*. 1994; 89:1322.
33. Evans D.G., Queiroz D.M.M., Mendes E.N., Evans D.J.-Jr. *Helicobacter pylori cagA* status and *s* and *m* alleles of *vacA* in isolates from individuals with a variety of *H. pylori*-associated gastric diseases. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3435-7.
34. Yamaoka Y., El-Zimaity H.M.T., Gutierrez O., et al. Relationship Between the *cagA* 3' Repeat Region of *Helicobacter pylori*, Gastric Histology, and Susceptibility to Low pH. *Gastroenterology* 1999; 117:342-9.
35. Parsonnet J., Friedman G.D., Orentreich N., Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with *cagA* positive or *cagA* negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40:297-301.
36. Holton J., Vaira D., Menegatti M., Miglioli M., editors. *Helicobacter pylori* therapy – advances and opportunities. Milano: Mosby-Wolfe; 1998.
37. Figura N. Determinants of pathogenicity of *Helicobacter pylori*. *J Chemother* 1999; 11 (Suppl 2):22.
38. Пасечников В.Д., Чуков С.З. Значение геномной гетерогенности штаммов *Helicobacter pylori* в развитии ассоциированной патологии гастродуоденальной зоны. *Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол* 2000; 3:7-11.
39. Donahue J.P., Peek R.M., van Doorn L.-J., et al. Analysis of *iceA1* transcription in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2000; 5:1-12.
40. Gunn M.C., Stephens J.C., Stewart J.D., Rathbone B.J. Detection and typing of the virulence determinants *cagA* and *vacA* of *Helicobacter pylori* directly from biopsy DNA: are *in vitro* strains representative of *in vivo* strains? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; 10:683-7.
41. Figura N. *Helicobacter pylori* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10 (Suppl 1):79-96.
42. Atherton J.C., Cao P., Peek P.M. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270:17771-7.

43. Sipponen P. *Helicobacter pylori* gastritis-epidemiology. J Gastroenterol 1997; 32:273-7
44. Григорьев П.Я., Яковенко Э.П. *Helicobacter pylori*: гастрит, дуоденит (гастродуоденит), язвенная болезнь и другие геликобактер-ассоциированные заболевания. По материалам 12-го международного форума по изучению гастродуоденальной патологии и *Helicobacter pylori*. 2–4 сентября 1999 года. Хельсинки. Рос гастроэнтерол журн 1999; 4:38-42.
45. Parsonnet J. *Helicobacter pylori*: the size of the problem. Gut 1998; 43 (Suppl 1):S6-S9.
46. Vandenplas Y. *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Infect 1999; 5:1-11.
47. Справочник практического врача по гастроэнтерологии. Под ред. В.Т. Ивашкина, С.И. Рапопорта. Москва: Советский спорт; 1999. 432 с.
48. Repogle M.L., Glaser S.L., Hiatt R.A., et al. Biological sex as a risk factor for *Helicobacter pylori* infection in healthy young adults. Am J Epidemiol 1995; 142:856-63.
49. Gill H.H., Desai H.G. *Helicobacter pylori* and gastroduodenal disorders in India-lessons from epidemiology. J Clin Gastroenterol 1993; 16:6-9.
50. Dominici P., Bellentani S., Di Biase A.R., et al. Familial clustering of *Helicobacter pylori* infection: population based study. BMJ 1999; 319:537-41.
51. Hildebrand P., Meyer-Wyss B.M., Mossi S., Beglinger C. Risk among gastroenterologists of acquiring *Helicobacter pylori* infection: case-control study. BMJ 2000; 321:149.
52. Rappuoli R. Vaccination against stomach ulcers caused by *Helicobacter pylori*. Proceedings of the 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Berlin, March 21–24, 1999. Clin Microbiol Infect 1999; 5 (Suppl 3):44.
53. Bogder K., Crabtree J.E. *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. Brit Med Bull 1998; 54:139-50.
54. Marshall B.J. *Helicobacter pylori*: the etiologic agent for peptic ulcer. JAMA 1995; 274:1064-6.
55. Kuipers E.J. Review article: relationship between *Helicobacter pylori*, atrophic gastritis and gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther 1998; 12 (Suppl 1):25-36.
56. Du M.-Q., Isaacson P.G. Recent advances in our understanding of the biology and pathogenesis of gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma – Review. FORUM Trends Exp Clin Med 1998; 8:162-73.
57. Raiha I., Kempainen H., Kaprio J., et al. Lifestyle, stress, and genes in peptic ulcer disease: a Nationwide Twin Cohort Study. Arch Intern Med 1998; 158:698-704.
58. Henriksson A.E., Edman A.C., Nilsson I., Bergquist D., Wadstrom T. *Helicobacter pylori* and the relation to other risk factors in patients with acute bleeding peptic ulcer. Scand J Gastroenterol 1998; 33:1030-3.
59. Levenstein S. Stress and peptic ulcer: life beyond helicobacter. BMJ 1998; 316:538-41.
60. Correa P., Schmidt B.A. The relationship between gastric cancer frequency and the ratio of gastric to duodenal ulcer. Aliment Pharmacol Ther 1995; 9 (Suppl 2):13-9.
61. Cheng Y., Macera C.A., Davis D.R., Blair S.N. Physical activity and peptic ulcers. West J Med 2000; 173:101-7.
62. Mizushima T., Sugiyama T., Kobayashi T., et al. Decreased adherence of cagG-deleted *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells in Japanese clinical isolates. Helicobacter 2002; 7:22-9.
63. Dunn B.E., Vakil N.B., Schneider B.G., et al. Localization of *Helicobacter pylori* urease and heat shock protein homolog in human gastric biopsies. Infect Immun 1997; 65:1181-8.
64. Bell G.D. Clinical practice – breath tests. Br Med Bull 1998; 54:187-93.
65. Icatlo F.C., Goshima H., Kimura N., Kodama Y. Acid-Dependent Adherence of *Helicobacter pylori* Urease to Diverse Polysaccharides. Gastroenterology 2000; 119:358-67.
66. Berger A. Scientists discover how helicobacter survives gastric acid. BMJ 2000; 320:268.
67. Oderda G., Dellollo D., Form O., et al. Mucus gel layer adherent to gastric mucosa in children with *Helicobacter pylori* gastritis. Eur J Gastroenterol Hepatol 1991; 3 (Suppl 1):58.
68. Shimizu T., Akamatsu T., Sugiyama A., et al. *Helicobacter pylori* and the surface mucus gel layer of the human stomach. Helicobacter 1996; 1:207-18.
69. Byrd J.C., Yunker C.K., Xu Q.-S., Sternberg L.R., Bresalier R.S. Inhibition of Gastric Mucin Synthesis by *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 2000; 118:1072-9.
70. Dorrell N., Martino M. C., Stabler R. A., et al. Characterization of *Helicobacter pylori* PldA, a phospholipase with a role in colonization of the gastric mucosa. Gastroenterology 1999; 117:1098-104.
71. Moran A.P. The role of lipopolysacchande in *Helicobacter pylori* pathogenesis. Aliment Phatmacol Ther 1996; 10 (Suppl 1):57-64.
72. Keates S., Keates A.C., Warny M., et al. Differential Activation of Mitogen-Activated Protein Kinases in AGS Gastric Epithelial Cells by cag+ and cag- *Helicobacter pylori*. J Immunology 1999; 163:5552-9.
73. Van den Brink G.R., ten Kate F.J., Ponsioen C.Y., Rive M.M., Tytgat G.N., van Deventer S.J., Peppelenbosch M.P. Expression and Activation of NF-B in the Antrum of the Human Stomach. J Immunology 2000; 164:3353-9.
74. Thanos D, Maniatis T. NF-kappa B: a lesson in family values. Cell 1995; 80:529-32.
75. Rieder G., Einsiedl W., Hatz R.A., et al. Comparison of CXC chemokines ENA-78 and interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. Infection and Immunity 2001; 69:81-8.
76. Peek R.M. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions. *Helicobacter pylori* strain-specific activation of signal transduction cascades related to gastric inflammation. AJP – GI 2001; 280 (4): G525-30.
77. Mobley H. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. Alim Pharmacol Ther 1996; 10 (Suppl 1):57-64.
78. Yoshida N., Granger D.N., Evans D.J., et al. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation. Gastroenterology 1993; 105:1431-40.
79. Kirn J.S., Jung H.C., Kirn J.M., Song I.S., Kirn C.Y. Interleukin-8 expression by human neutrophils activated

- by *Helicobacter pylori* soluble proteins. Scand J Gastroenterol 1998; 33:1249-55.
80. Kurose I, Granger D., Evans D.J., et al. *Helicobacter pylori*-induced microvascular protein leakage in rats: role of neutrophils, mast cells, and platelets. Gastroenterology 1994; 107:70-9.
 81. Crabtree J. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (Suppl 1):29-37.
 82. Кононов А.В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori*. Материалы 7-й сессии Российской группы по изучению *Helicobacter pylori*. Омск; 1997. с. 14-9.
 83. Makristathis A, Rokita E., Labigne A., et al. Highly significant role of *Helicobacter pylori* urease in phagocytosis and production of oxygen metabolites by human granulocytes. J Infect Dis 1998; 177:803-6.
 84. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск; 1989.
 85. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. Москва; 1996.
 86. Rautema R., Rautelin H., Puolakkainen P., et al. Survival of *Helicobacter pylori* from complement lysis by binding of GPI-anchored protectin (CD59). Gastroenterology 2001; 120:470-9.
 87. Kirkland T.S., Viriyakosol S., Perez-Perez G.I., Blaser M.J. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide can activate 70Z/3 cells via CD 14. Infect Immun 1997; 65:604-8.
 88. Kobayashi K., Sakamoto J., Kito T., et al. Lewis blood group-related antigen expression in normal gastric epithelium, intestinal metaplasia, gastric adenoma and gastric carcinoma. Am J Gastroenterol 1993; 88:919-24.
 89. Wirth H.P., Yang M., Peek R.M., Tham K.T., Blaser M.J. *Helicobacter pylori* Lewis expression is related to the host Lewis phenotype. Gastroenterology 1997; 113:1091-8.
 90. Appelmek B.J., Faller G., Claeys D., Kirchner T., Vandenbroucke-Grauls CMJE. Bugs on trial: the case of *Helicobacter pylori* and autoimmunity. Trends Immunol Today 1998; 19:296-9.
 91. Taylor D.E., Rasko D.A., Sherburne R., Ho C., Jewell L.D. Lack of correlation between Lewis antigen Expression by *Helicobacter pylori* and gastric epithelial cells in infected patients. Gastroenterology 1998; 115:1113-22.
 92. Hynes S.O., Broutet N., Wadstrom T., et al. Phenotypic variation of *Helicobacter pylori* isolates from geographically distinct regions detected by lectin typing. J Clin Microbiol 2002; 40:227-32.
 93. Fan X.G., Yakoob J., Fan X.J., Keeling P.W. Enhanced T-helper 2 lymphocyte responses: immune mechanism of *Helicobacter pylori* infection. Ir J Med Sci 1996; 165:37-9.
 94. Соколов Е.И., Глан П.В., Гришина Т.И. Клиническая иммунология. Москва: Медицина; 1998.
 95. Radcliff F., Ramsay A., Lee A. Is a mixed Th1/Th2 response necessary for effective immunity against *Helicobacter*? Gut 1997; 41 (Suppl 1):A60.
 96. Ren Z., Pang G., Lee R., et al. Circulating T-cell response to *Helicobacter pylori* infection in chronic gastritis. Helicobacter; 5:135-41.
 97. Fan X.J., Chua A., Shahi C.N., et al. Gastric T lymphocyte responses to *Helicobacter pylori* in patients with *H. pylori* colonisation. Gut 1994; 35:1379-84.
 98. Berstad A., Valnes K., Brandtzaeg P. Mucosal IgA-producing cells show reduced J-chain expression in chronic gastritis. Gut 1997; 41 (Suppl 1):A18-9.
 99. Watanabe T., Goto H., Arisawa T., et al. Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa: investigation of Hp-specific IgA in gastric juice. Gut 1997; 41 (Suppl 1):A62.
 100. Mattapallil J.J., Dandekar S., Canfield D.R., Solnick J.V. A predominant Th1 type of immune response is induced early during acute *Helicobacter pylori* infection in rhesus macaques. Gastroenterology 2000; 118:307-15.
 101. Kirchner T., Steininger H., Faller G. Immunopathology of *Helicobacter pylori* gastritis. Digestion 1997; 58 (Suppl 1):14-6.
 102. Watanabe T., Goto H., Arisawa T., et al. Relationship between local immune response to *Helicobacter pylori* and the diversity of disease: investigation of *H. pylori*-specific IgA in gastric juice. J Gastroenterol Hepatol 1997; 12:660-5.
 103. Gooz M., Hammond C.E., Larsen K., Mukhin Y.V., Smolka A.J. Inhibition of human gastric H⁺-K⁺-ATPase-subunit gene expression by *Helicobacter pylori*. AJP – GI 2000; 278 (6):G981-91.
 104. Weigert N., Schaffer K., Schusdziarra V., et al. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G cells: stimulation by inflammatory cytokines. Gastroenterology 1996; 110:147-54.
 105. Lehmann F.S., Golodner E.H., Wang J., et al. Mononuclear cells and cytokines stimulate gastrin release from canine antral cells in primary culture. Am J Physiol 1996; 270 (5 Pt 1): G783-8.
 106. Chowers M.Y., Keller N., Tal R., et al. Human gastrin: a *Helicobacter pylori*-specific growth factor. Gastroenterology 1999; 117:1113-8.
 107. Zavros Y., Reider G., Ferguson A., et al. Hypergastrinemia in response to gastric inflammation suppresses somatostatin. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002; 282:175-83.
 108. Konagaya T., Kusugami K., Nishio Y., et al. Negative correlation between somatostatin levels and interleukin-8 activity in gastric antral mucosa. Gut 1997; 41 (Suppl 1):A24.
 109. Sumii M., Sumii K., Tari A., et al. Expression of antral gastrin and somatostatin mRNA in *Helicobacter pylori*-infected subjects. Am J Gastroenterol 1994; 89:1515-9.
 110. Yamashita K., Kanero H., Yamamoto S., et al. Inhibitory effect of somatostatin on *Helicobacter pylori* proliferation *in vitro*. Gastroenterology 1998; 115:1123-30.
 111. Bechi P., Romagnoli P., Bacci S., et al. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer: evidence for a histamine pathways-involving link. Am J Gastroenterol 1996; 91:2338-43.
 112. Peterson W.L. Gastrin and acid in relation to *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (Suppl 1):97-102.
 113. El-Omar E., Penman L., Dorrian C.A., et al. Eradicating *Helicobacter pylori* infection lowers gastrin mediated acid

- secretion by two thirds in patients with duodenal ulcer. *Gut* 1993; 34:1060-5.
114. Laszewicz W., Gabryelewicz A., Zaremba-Woroniecka A. *Helicobacter pylori* infection and gastric secretion in duodenal and gastric ulcer patients – the effect of eradication after one year. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48:353-64.
 115. Moss S.F., Calam J. Acid secretion and sensitivity to gastrin in patients with duodenal ulcer: effect of eradication of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1993; 34:888-92.
 116. Зверков И.В., Исаков В.А., Аруин Л.И. *Helicobacter pylori*, эндокринные клетки слизистой оболочки желудка и их функция при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. *Арх пат* 1996; 1:33-7.
 117. Queiroz D.M., Mendes E.N., Rocha G.A., et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on antral gastrin and somatostatin-immunoreactive cell density and gastrin and somatostatin concentrations. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28:858-64.
 118. Sugamata M., Ihara T., Todate A., et al. Ultrastructural study of antral G cells in patients with duodenal ulcers: effect of *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter* 1997; 2:118-22.
 119. Webb P. M., Crabtree J. E., Forman D., and the Eurogast Study Group. Gastric Cancer, Cytotoxin-associated gene A-positive *Helicobacter pylori*, and serum pepsinogens: an international study. *Gastroenterology* 1999; 116:269-76.
 120. Fu S., Ramanujam K.S., Wong A., Fantry G.T., et al. Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterology* 1999; 116:1319-29.
 121. Murakami K., Fujioka T., Kodama R., et al. *Helicobacter pylori* infection accelerates human gastric mucosal cell proliferation. *J Gastroenterol* 1997; 32:184-8.
 122. Peek P.M., Moss S.F., Tham K.T., et al. *Helicobacter pylori cagA*⁺ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:863-8.
 123. Konturek P.C. Physiological, immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to *H. pylori*-derived gastrotoxins. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48:3-42.
 124. Moss S.F., Calam J., Aganval B., et al. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1996; 38:498-501.
 125. Mannick E.E., Bravo L.E., Zarama G., et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Res* 1996; 56:3238-43.
 126. Stolte M., Kroher C., Meining A., et al. A comparison of *Helicobacter pylori* and *H. heilmannii* gastritis. A matched control study involving 404 patients. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:28-33.
 127. Sung J.J.Y., Lin S.-R., Ching J.Y.L., Zhou L.-Y., To K.F., Wang R.-T., et al. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of *H. pylori* infection: a Prospective, randomized study. *Gastroenterology* 2000; 119:7-14.
 128. Kuipers E.J. *Helicobacter pylori*, MALT lymphoma and gastric cancer. *J Chemother* 1999; 11 (Suppl 2):25.
 129. International Agency for Research on Cancer, Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. 1994; 61.
 130. Moron A.P. The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10 (Suppl 1):39-50.
 131. Michetti M., Kelly C. P., Kraehenbuhl J.-P., Bouzourene H., Michetti P. Gastric mucosal 47-integrin-positive CD4 T lymphocytes and immune protection against *Helicobacter* infection in mice. *Gastroenterology* 2000; 119:109-18.
 132. Zhang Q.B., Nakshabendi I.M., Mokhashi M.S., et al. Association of cytotoxin production and neutrophil activation by strains of *Helicobacter pylori* isolated from patients with peptic ulceration and chronic gastritis. *Gut* 1996; 38:841-5.
 133. Yoshida N., Granger D.N., Evans D.G., et al. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 1993; 105:1431-40.
 134. Kalia N., Jacob S., Brown N.J., et al. Studies on gastric mucosal microcirculation. *Helicobacter pylori* water soluble extracts induce platelet aggregation in gastric mucosal microcirculation *in vivo*. *Gut* 1997; 41:748-52.
 135. Li H., Mellgard B., Helander H. Inoculation of *VacA*- and *CagA* *Helicobacter pylori* delays gastric ulcer healing in rat. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:439-44.
 136. Аруин Л.И. Роль *Helicobacter pylori* в формировании морфологического субстрата язвенной болезни. Материалы 8-й сессии Российской группы по изучению *Helicobacter pylori*. Уфа; 1999. с. 7-11.
 137. Konturek P., Steininger H., Taut A. *H. pylori* (Hp) induces apoptosis through activation of bax and down regulation of bcl-2. *Gut* 1998; 43 (Suppl 2):26.
 138. Endo H., Tsukamoto Y., Arisawa T., et al. Effects of intragastric ammonia on collagen metabolism of gastric ulcer base in rats. *Digestion* 1996; 57:411-9.
 139. Konturek J.W., Konturek S.J., Domschke W. Eradication of *Helicobacter pylori* restores the inhibitory effect of cholecystokinin on gastric motility in duodenal ulcer patients. *Gut* 1997; 41 (Suppl 1):A16.
 140. McColl K.E.L. *Helicobacter pylori*, gastric acid, and duodenal gastric metaplasia. *Gut* 1996; 39:615-16.
 141. Hamlet A., Thoreson A.-C., Nilsson O., Svennerholm A.-M., Olbe L. Duodenal *Helicobacter pylori* infection differs in *cagA* genotype between asymptomatic subjects and patients with duodenal ulcers. *Gastroenterology* 1999; 116:259-68.
 142. Lee A., Van Zanten S.V. The aging stomach or the stomachs of the ages. Changing gastric acid secretion. The key to *Helicobacter pylori* and gastroduodenal disease. *Gut* 1997; 41:575-6.
 143. Haruma K., Okamoto S., Kawaguchi H., et al. Reduced incidence *Helicobacter pylori* infection in young Japanese persons between the 194 and 1990s. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25:583-6.
 144. Goodwin C.S., Mendall M.M., Northfield T.C. *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1997; 349:265-9.

145. Bor-Shyang S., Chih-Hsein C., Hsiao-Bai Y., Shu-Chu S., Xi-Zhang L. Heavy bacterial loads of *H. pylori* may precipitate duodenal ulcer bleeding but not bleeding severity. *Hepato-Gastroenterol* 1998; 45:2165-70.
146. Webb P.M., Yu M.C., Forman D. An apparent lack of association between *Helicobacter pylori* infection and risk of gastric cancer in China. *Int J Cancer* 1996; 67:603-7.
147. Goldblum J.R., Richter J.E., Vaezi M., et al. *Helicobacter pylori* infection, not gastroesophageal reflux, is the major cause of inflammation and intestinal metaplasia of gastric cardiac mucosa. *Am J Gastroenterol* 2002; 97:302-11.
148. Crabtree J.E. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10:29-37.
149. Webb P.M., Crabtree J.E., Forman D., and the Eurogast Study Group. Gastric cancer, cytotoxin-associated gene A-positive *Helicobacter pylori*, and serum pepsinogens an international study. *Gastroenterology* 1999; 116:269-76.
150. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley H., Correa P. Classification and grading of gastritis The up-date Sydney system. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:1161-81.
151. Hansen S., Melby K.K., Aase S., Jellum E., Vollset S.E. *Helicobacter pylori* infection and risk of cardia cancer and non-cardia gastric cancer. A nested case-control study. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 353-60.
152. Brenner H., Bode G., Boeing H. *Helicobacter pylori* infection among offspring of patients with stomach cancer. *Gastroenterology* 2000; 118:31-5.
153. El-Omar E.M., Oien K., Murray L.S., et al. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H. pylori*. *Gastroenterology* 2000; 118:22-30.
154. Hatz R.A., Meimarakis G., Bayerdorffer E., et al. Characterization of lymphocytic infiltrate in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31:222-8.
155. Chen X.Y., Liu W.Z., Shi Y., et al. *Helicobacter pylori* associated gastric diseases and lymphoid tissue hyperplasia in gastric antral mucosa. *J Clin Pathol* 2002; 55:133-7.
156. D' Elios M.M., Amedei A., Manghetti M., et al. Impaired T-cell regulation of B-cell growth in *Helicobacter pylori*-related gastric low-grade MALT lymphoma. *Gastroenterology* 1999; 117:1105-12.
157. Fischbach W., Dragosics B., Kolve-Goebeler M.- E., et al. Primary gastric B-cell lymphoma: results of a prospective multicenter study. *Gastroenterology* 2000; 119:1191-202.
158. Correa P., Miller M.J.S. Carcinogenesis, apoptosis and cell proliferation. *Brit Med Bull* 1998; 54:151-62.
159. Wang C.C., Wu M.S., Wang H.H., et al. *Helicobacter pylori* infection and age on the development of intestinal metaplasia – a multiple logistic regression analysis. *Hepato-Gastroenterol.* 1998; 45:2234-7.
160. You W.C., Zhang L., Gail M.H. *Helicobacter pylori* infection, garlic intake and precancerous lesions in a Chinese population at low risk of gastric cancer. *Int J Epidemic* 1998; 27:941-4.

УДК 616.233-002.2-085.33

Рандомизированное двойное слепое сравнительное исследование эффективности 5- и 7-дневного курсов перорального приема левофлоксацина у пациентов с обострением хронического бронхита

Р.Г. Мастертон¹, К.Д. Барли², группа исследователей

¹Королевский госпиталь, Эдинбург, Великобритания

²Товарищество Кэрла Барли, Бакс, Великобритания

Переведена и печатается с согласия авторов и редакции «International Journal of Antimicrobial Agents» 2001;18:503-13.

В рандомизированное двойное слепое многоцентровое исследование включались пациенты старше 18 лет с обострением хронического бронхита. Цель исследования – сравнение эффективности 5-дневного курса лечения левофлоксацином (500 мг один раз в сутки) со стандартным 7-дневным курсом (доза та же). Всего рандомизировано 532 пациента из 48 центров 10 различных стран: 268 получали левофлоксацин в течение 5 дней, 264 – 7 дней. Клиническую эффективность оценивали на 7–10-й день после окончания терапии. Из 482 пациентов, включенных в протокол, клиническая эффективность зарегистрирована у 82,8% (197/238) больных, принимавших препарат в течение 5 дней, и у 84,8% (207/244) – в группе 7-дневного режима терапии. Разница по этому показателю составила 2,1% с 95% доверительным интервалом

(от – 9,1 до 4,9%). Микробиологическая эффективность отмечена в 82,1% (92/112) после 5-дневного курса терапии и в 83,2% (84/101) – после 7-дневного. Оба режима лечения хорошо переносились.

Таким образом, у пациентов с обострением хронического бронхита прием левофлоксацина (500 мг/сут) в течение 5 дней дает сходный клинический и бактериологический эффекты по сравнению с 7-дневным курсом (в той же дозе) вне зависимости от возраста пациента, частоты обострений, наличия хронических обструктивных болезней легких и сопутствующей патологии сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: хронический бронхит, обострение хронического бронхита, левофлоксацин, 5-дневный курс терапии, эквивалентность.

Контактный адрес:

R.G. Masterton

Тел.: +44 131-536-3014

Факс: +44 131-537-1002

Эл. почта: Robert.masterton@luht.scot.nhs.uk

Randomized, Double-Blind Study Comparing 5- and 7-Day Regimens of Oral Levofloxacin in Patients with Acute Exacerbation of Chronic Bronchitis

R.G. Masterton¹, C.J. Burley², Study Group

¹The Royal Infirmary of Edinburgh, Lauriston Place, Edinburgh EH3 9YW, UK

²Carol Burley Associates, 4 Franklin Court, Bourne End. Bucks SL8 5AT, UK

Translated and Reprinted with permission from «International Journal of Antimicrobial Agents» 2001;18:503-13.

A randomized, double-blind, multicentre study was conducted in adult patients with *acute exacerbation of chronic bronchitis* (AECB), to compare the efficacy of a 5-day course of levofloxacin 500 mg once daily, with the standard 7-day regimen at the same dose. Five hundred and thirty-two patients from 48 centers in 10 countries were randomized to receive levofloxacin: 268 and 264 received the 5- and 7-day courses, respectively. The primary efficacy analysis was the clinical response at 7–10 days post-treatment in the *per-protocol* (PP) population. Clinical success rates in the primary PP analysis of 482 patients were 82,8% (197/238) for the 5-day group and 84,8% (207/244) for the 7-day group. The difference in success rates was – 2,1%

with 95% CI (of – 9,1 to 4,9%). The bacteriological response showed eradication rates of 82,1% (92/112) and 83,2% (84/101) in the 5- and 7-day groups, respectively. Both treatments were well tolerated.

These results show that for patients with AECB levofloxacin 500 mg once daily for 5 days provides equivalent clinical and bacteriological success to the same dose given for 7 days irrespective of the patients age, the frequency of exacerbations or the presence of co-existing cardiopulmonary or chronic obstructive airways disease.

Key words: chronic bronchitis, acute exacerbation of chronic bronchitis, levofloxacin, 5-day treatment, equivalence.

1. Введение

Основой хронического бронхита является воспаление слизистой оболочки трахеи и бронхов, клинически проявляющееся хроническим кашлем с мокротой в течение не менее 3 мес за 2 последовательных года при отсутствии других причин кашля [1]. Хронический бронхит – распространенное заболевание. Около 25% взрослых американцев страдают им, что ежегодно обходится в 300 млн долларов [2].

В Великобритании на долю этого заболевания приходится около 25% всех госпитализаций [3]. Частое проявление хронического бронхита – обострение, причиной которого в 50–60% случаев является инфекция. [4]. Результаты исследований в отделениях интенсивной терапии показали, что тяжелые обострения хронического бронхита в 10% случаев приводят к летальному исходу [5].

Наиболее часто обострение хронического бронхита вызывают *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus parainfluenzae* [6]. Количество штаммов этих бактерий, резистентных к антибиотикам [7], особенно традиционно назначаемым β -лактамам и макролидам, постоянно растет, поэтому необходимо искать альтернативные препараты.

Давно известно, что фторхинолоны эффективны при лечении обострений хронического бронхита [8]. Наиболее многообещающими являются «новые» фторхинолоны, обладающие улучшенной фармакокинетикой, фармакодинамикой и широким спектром активности, включающим грамположительные и внутриклеточные микроорганизмы [9, 10].

К настоящему времени накопилось достаточно доказательств необходимости назначения антибиотиков при обострениях хронического бронхита, особенно тяжелой и средней степени тяжести [11, 12]. Однако оптимальная продолжительность лечения до сих пор не определена. Общепринятой тактикой в этом случае [4] является применение антибиотиков в течение 7–10 дней, такая же продолжительность лечения использовалась и в подавляющем большинстве клинических исследований.

Определение минимальной эффективной продолжительности антибиотикотерапии может дать немало преимуществ: повышение комплаентности, снижение стоимости лечения, частоты нежелательных лекарственных реакций и селекции антибиотикорезистентности.

В данном исследовании сравнивалась эффективность 5-дневного курса левофлоксацина (500 мг

один раз в сутки), одного из «новых» фторхинолонов, с 7-дневным курсом в той же дозе, чтобы определить, будет ли 5-дневный режим терапии левофлоксацином обладать такой же клинической эффективностью, как стандартный 7-дневный режим.

2. Материал и методы исследования

По дизайну исследование было многоцентровым рандомизированным контролируемым сравнительным двойным слепым и проводилось в 48 центрах 10 стран (7 – в Европе, 3 – в Латинской Америке) у пациентов, находившихся в терапевтических отделениях или лечившихся в амбулаторных условиях. Исследование было одобрено независимым этическим комитетом.

2.1. Критерии включения пациентов в исследование

В исследование включались пациенты в возрасте 18 лет и старше, страдавшие хроническим бронхитом, согласно критериям Американского торакального общества: наличие постоянного или рецидивирующего продуктивного кашля в течение не менее 3 мес на протяжении 2 последовательных лет [1, 13]. Доказательством обострения считалось появление гнойной мокроты или увеличение ее продукции в сочетании с одним из следующих симптомов: учащение или усиление кашля, усиление одышки, увеличение объема мокроты.

В исследование не включались пациенты по следующим критериям:

- необходимость парентерального назначения антибиотиков;
- признаки пневмонии или туберкулеза при рентгенографии;
- прием антибиотиков в течение 3 дней до включения в исследование, за исключением случаев, когда антибиотикотерапия была неэффективна;
- наличие бронхоэктазов, муковисцидоза, активного туберкулеза, рака легкого или метастазов в легких, прогрессирующих болезней с вероятным летальным исходом в ближайшие 3 мес, выраженной мальабсорбции, почечной недостаточности или тяжелых болезней печени, иммунодефицита, в том числе ВИЧ.

Пациенты, лечившиеся в период настоящего обострения офлоксацином, принимавшие азитромицин за 7 дней или левофлоксацин за 4 нед до исследования, также не включались в исследование. Не участвовали в исследовании и больные с признаками бактериальной инфекции (помимо хронического бронхита), требующей дополнительного системного назначения антибиотиков, а также с гиперчувствительностью к хинолонам, эпилепсией

или судорожной готовностью, беременные и кормящие женщины.

2.2. Терапия

Перед началом лечения у всех пациентов собирали анамнез, проводили физическое обследование, выполняли рутинные анализы крови и мочи. Все пациенты, рандомизированные в группу 7-дневной терапии, принимали по одной таблетке (500 мг) левофлоксацина в сутки в течение 7 дней. Пациенты, рандомизированные в группу 5-дневного курса лечения левофлоксацином, получали этот препарат по 500 мг один раз в сутки первые 5 дней, в последующие 2 дня – плацебо.

Клиническую эффективность терапии оценивали:

- на 3–5-й день терапии (визит во время лечения);
- на 8–10-й день (визит по окончании терапии);
- через 7–10 дней после окончания приема левофлоксацина (визит после лечения);
- через 4–5 нед после лечения (визит в отдаленные сроки).

При каждом визите отмечали состояние пациента, все принимаемые препараты и нежелательные лекарственные явления, количество принятых и оставшихся таблеток. Повторное физическое обследование и анализы крови выполняли во время визита в конце лечения. При отклонениях от нормы клинических и биохимических показателей крови анализы повторяли при визите после лечения и визите в отдаленные сроки. Пациентам, досрочно прекратившим прием препарата, предписывалось посетить врача на 8–10-й день от начала терапии для оценки безопасности.

2.3. Клиническая эффективность

Клиническую эффективность оценивали при визите после лечения (через 7–10 дней после окончания приема левофлоксацина), а также при визите по окончании терапии (1–3-й день после окончания приема препарата) и в отдаленные сроки (4–5 нед после окончания приема левофлоксацина).

Для оценки микробиологической эффективности результат микробиологического исследования исходного образца мокроты сравнивали с результатом исследования мокроты, полученной по окончании терапии, после лечения и при посещении в отдаленные сроки.

Клиническую эффективность оценивали в следующих подгруппах:

- пожилые пациенты (старше 65 лет в сравнении с таковой в возрасте 65 лет и моложе);
- пациенты с дополнительными факторами риска (например, с vs без сопутствующей сердечно-ле-

гочной патологии; имеющие >4 vs ≤ 4 обострений в предыдущем году);

– пациенты с *хронической обструктивной болезнью легких* (ХОБЛ);

– пациенты, имеющие обострение тяжелой степени тяжести;

– пациенты с доказанной бактериальной инфекцией.

2.4. Бактериологическое исследование

Перед началом терапии проводили бактериоскопическое исследование мокроты, а также выделение, идентификацию и определение чувствительности бактерий к антибиотикам. Мокрота считалась приемлемой для бактериологического исследования при наличии в поле зрения более 25 полиморфно-ядерных лейкоцитов и менее 10 эпителиальных клеток при 100-кратном увеличении в препаратах, окрашенных по Граму.

Микробиологическое исследование мокроты (при наличии таковой) проводили также при визите в конце лечения, после лечения и в отдаленные сроки, а также в случаях прекращения приема препарата или назначения дополнительной антибиотикотерапии (при неэффективности лечения или рецидиве). Образцы мокроты также исследовали на наличие микобактерий с использованием окраски по Цилю – Нельсену.

2.5. Оценка клинической эффективности

Клинический эффект при визите по окончании терапии и после лечения расценивали как положительный, неэффективный или неустановленный. Лечение считали эффективным при исчезновении всех симптомов и объективных признаков инфекции, их возвращении к исходному уровню (до обострения), достижении ремиссии без дополнительной антибактериальной терапии.

Все другие результаты расценивали как отсутствие эффекта лечения. В случаях, когда данные невозможно было интерпретировать, результат считали неустановленным. Клинический эффект при визите в отдаленные сроки после лечения оценивали таким же образом: положительный, неэффективный терапии, неустановленный.

2.6. Оценка бактериологической эффективности

Оценку микробиологической эффективности при визите по окончании лечения и после него проводили в соответствии с Европейскими рекомендациями по клинической оценке антимикробных препаратов [14].

Эрадикацию, предполагаемую эрадикацию и колонизацию расценивали как положительный результат.

Персистенцию, предполагаемую персистенцию, рецидив, суперинфекцию и необходимость назначения альтернативной или дополнительной антибиотикотерапии в связи с резистентностью микроорганизма к левофлоксацину расценивали как неудовлетворительный результат.

Результат расценивали как неопределенный, если бактериологическая оценка по каким-либо причинам была невозможна.

2.7. Группы пациентов

Для анализа эффективности были выделены *четыре* группы пациентов:

1) все пациенты, получавшие исследуемый препарат не менее одного раза за весь период исследования (группа ИТТ);

2) группа пациентов, включенных в протокол – с симптомами обострения хронического бронхита, получавшие препарат, за исключением случаев грубых нарушений протокола исследования (группа РР);

3) группа пациентов с бактериологически доказанной инфекцией, получавших изучаемый препарат не менее одного раза за период исследования (группа ВИТТ);

4) все пациенты с бактериологически подтвержденной инфекцией, включенные в протокол (группа ВРР).

Пациентов, не принявших все 7 доз препарата, не включали в группу РР.

Клиническую эффективность оценивали у всех пациентов, включенных в исследование (группа ИТТ), а также отдельно в клинической группе протокола (РР). Микробиологическую эффективность анализировали у всех пациентов с подтвержденной инфекцией (группа ВИТТ) и в бактериологической группе протокола (ВРР).

2.8. Выборка и статистические методы

Основная *цель исследования* – оценка клинической эффективности у пациентов клинической группы протокола (РР) по окончании терапии (на 7–10-й день после окончания приема препарата).

Допуская частоту клинической эффективности 80% при 7-дневном приеме левофлоксацина и дельта 15% (максимальное различие между режимами лечения для достижения эквивалентности), чтобы обеспечить 90% эквивалентность, в группу следует включить 150 пациентов. Если верхний предел доверительного интервала будет > 0 , а нижний предел $> -0,15$, два режима терапии можно считать эквивалентными. Если предположить, что эффективность будет воз-

Таблица 1. Пациенты, включенные в группу анализа

Показатель	Абс. число (%) пациентов		Итого
	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней	
Рандомизированные пациенты	268 (50,4)	264 (49,6)	532
Анализируемые группы			
Пациенты, отвечающие всем условиям протокола (PP)	238 (49,4)	244 (50,6)	482
Все пациенты, получившие как минимум 1 дозу препарата (ITT)	268 (50,6)	262 (49,4)	530
Пациенты с бактериологически подтвержденной инфекцией, отвечающие всем условиям протокола (BPP)	112 (52,6)	101 (47,4)	213
Все пациенты с бактериологически доказанной инфекцией (BITT)	126 (53,8)	108 (46,2)	234
Безопасность	268 (50,6)	262 (49,4)	530

Примечание: всего сканировано 535 пациентов.

можно оценить у 60% всех пациентов, то в исследование должно быть включено около 500 пациентов.

2.9. Безопасность

У всех пациентов, получивших ≥ 1 дозы препарата, фиксировали все нежелательные лекарственные явления, то есть любые нежелательные для пациента явления, возникшие в период исследования. За всеми лекарственными реакциями вели тщательное наблюдение до полного исчезновения симптомов, возвращения к норме всех лабораторных показателей или выявления их причины.

Нежелательные лекарственные явления рассматривали как серьезные, если они угрожали жизни пациентов или наступал летальный исход, приводили к постоянному или значительному снижению трудоспособности, требовали госпитализации или

увеличивали длительность пребывания в стационаре, заканчивались развитием злокачественных и других тяжелых болезней.

Дополнительно оценивали потенциальную связь нежелательных явлений с приемом исследуемого препарата.

3. Результаты

В исследование были включены 535 пациентов, из них в группы лечения рандомизированы 532 (табл. 1). Два пациента, рандомизированные в группу 7-дневного приема левифлоксацина, не получили ни одной дозы препарата.

Таким образом, всего 530 пациентов – 268 в группе 5-дневного приема и 262 в группе 7-дневного приема левифлоксацина – были включены в группу лечения (ITT). Демографические и основ-

Таблица 2. Демографические данные всех рандомизированных пациентов

Признак	Статистический показатель	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней ($n = 268$)	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней ($n = 264$)	p
Пол:				
мужской	n (%)	139 (51,9)	132 (50)	0,677
женский	n (%)	129 (48,1)	132 (50)	
Возраст, лет				
	n	268	264	0,299
	Средний	60,7 \pm 13,9	59,5 \pm 13,1	
	Разброс	18–89	22–85	
Масса, кг				
	n	267	263	0,041
	Средний	69,7 \pm 15,7	72,6 \pm 16,1	
	Разброс	35,5–138,0	28–120	
Рост, см				
	n	268	263	0,665
	Средний	165,4 \pm 10,0	165,8 \pm 10,4	
	Разброс	126–192	135–189	
Этническая группа:				
белые	n (%)	226 (84,3)	224 (84,9)	0,861
латиноамериканцы	n (%)	35 (13,1)	33 (12,5)	
другие	n (%)	7 (2,6)	7 (2,6)	

ные исходные данные пациентов представлены в табл. 2.

По этим показателям между двумя группами не выявлено статистически достоверных различий, за исключением массы тела, которая была выше в группе 7-дневного приема левофлоксацина ($p=0,041$). Обе группы существенно не различались по данным анамнеза жизни и физического обследования перед началом приема препарата. Они также были сравнимы по длительности болезни, количеству месяцев (в году) выделения мокроты, числу обострений за последний год, а также по симптомам текущего обострения и до его развития (кашель, одышка, объем мокроты, наличие гноя).

Из анамнеза установлено, что 37% пациентов в группе 5-дневного курса левофлоксацина и 36% пациентов в группе 7-дневного курса никогда не курили, 29 и 34% курят в настоящее время, 34 и 30% курили в прошлом (соответственно в группе 5- и 7-дневного приема).

Более чем у 75% пациентов выявлена сопутствующая патология. Самыми распространенными являлись болезни желудочно-кишечного тракта (25% в группе 5-дневного приема и 29% – 7-дневного), артериальная гипертензия (23% в группе 5-дневного режима и 28% – 7-дневного) и патология сердечно-сосудистой системы (по 22% больных в обеих группах).

Средняя продолжительность анамнеза хронического бронхита составила 11 лет в группе 5-дневного приема (от 1 до 53 лет) и 12 лет в группе 7-дневного приема (от 2 до 60 лет). Согласно классифика-

ции, состояние большинства пациентов в двух группах соответствовало средней степени тяжести (58% в группе 5 дней и 67% в группе 7 дней). Среднее количество обострений за предыдущий год в каждой группе составило 3,3.

Средняя продолжительность текущего обострения хронического бронхита в двух группах составила 11 дней. Степень тяжести настоящего обострения классифицировали как легкую, среднюю и тяжелую в соответствии с клиническими данными. Соотношение частот легкой, средней и тяжелой степени тяжести в каждой группе было сходным, около 75% пациентов имели среднюю степень тяжести. У большинства пациентов (69% в группе 5-дневного приема и 70% в группе 7-дневного приема) перед началом лечения мокрота имела гнойный характер (при цитологическом анализе мокроты более 25 лейкоцитов и свыше 10 эпителиальных клеток в поле зрения).

У 95% пациентов отмечена полная комплаентность к приему исследуемого препарата. Менее 7 доз препарата приняли 14 (5%) пациентов в группе 5-дневного и 11 (4%) пациентов в группе 7-дневного курса. Из исследования исключены 133 пациента: 68 (25%) из группы 5-дневного и 65 (25%) из группы 7-дневного режима. Основными поводами для исключения были недостаточный клинический эффект (49 и 42 пациента соответственно при 5- и 7-дневном режиме), преждевременное прекращение приема препарата (9 и 10 пациентов соответственно) и возникновение не-

Таблица 3. Результаты лечения пациентов, включенных в протокол

Показатель	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней, n (%)	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней, n (%)	Разница (95% CI)
Клинический эффект по окончании терапии (8–10-й день):			
эффективность	214 (90,7)	212 (88,3)	2,3
неэффективность	18 (7,6)	23 (9,6)	(от –3,6 до 8,3)
неопределенный	4 (1,7)	5 (2,1)	
неизвестно	2	4	
Клинический эффект на 7–10-й день после окончания лечения:			
эффективность	197 (82,8)	207 (84,8)	–2,1
неэффективность	38 (16,0)	36 (14,8)	(от –9,1 до 4,9)
неопределенный	3 (1,3)	1 (0,4)	
Клинический эффект в отдаленные сроки (4–5 нед после окончания лечения):			
эффективность	174 (76,3)	177 (77,0)	–0,6
неэффективность	51 (22,4)	51 (22,2)	(от –8,8 до 7,6)
неопределенный	3 (1,3)	2 (0,9)	
неизвестно	10	14	
Число пациентов, отвечающих всем условиям протокола	238	244	

Таблица 4. Микробиологическая эффективность на 7–10-й день после окончания лечения

Микробиологическая эффективность	Абс. число (%) пациентов	
	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней, n = 112	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней, n = 101
Удовлетворительная	92 (82,1)	84 (83,2)
В том числе:		
эрадикация	31	30
предполагаемая эрадикация	54	50
колонизация	7	4
Неудовлетворительная	13 (11,6)	6 (5,9)
В том числе:		
персистенция	6	2
рецидив	3	2
эрадикация с последующей реинфекцией	4	2
Неизвестно	7 (6,3)	11 (10,9)

желательных лекарственных реакций (6 и 5 пациентов соответственно).

3.1. Клиническая эффективность

Клиническая эффективность при визите по окончании лечения составила 83% для 5-дневного режима и 85% для 7-дневного в группе протокола – РР (табл. 3).

Разница по этому показателю оказалась – 2,1 с 95% доверительным интервалом (–9,1 до 4,9%). Это означает, что терапия левифлоксацином в течение 5 дней (500 мг/сут) также эффективна, как и 7-дневный курс в той же дозе.

Анализ клинической эффективности у всех пациентов, участвовавших в исследовании, подтвердил эти выводы (83% в группе 5-дневного приема и 84% в группе 7-дневного приема). Результаты исследования в конце лечения и в отдаленные сроки также показали сходную эффективность двух режимов назначения препарата (табл. 3).

3.2. Микробиологическая эффективность

Микробиологическую эффективность оценивали путем сравнения результатов бактериологического исследования, полученных до начала лечения и при визите по окончании лечения, после лечения и в отдаленные сроки.

В группе оценки бактериологической эффективности (ВРР) протокола эрадикация отмечена в 82,1% (92/112) случаев при 5-дневном курсе и в 83,2% (84/101) при 7-дневном курсе (табл. 4).

Эрадикация отдельных микроорганизмов после лечения была сходной для двух курсов лечения (табл. 5).

Эти результаты подтвердились при обследовании по окончании лечения и в отдаленные сроки, а также при анализе результатов у всех пациентов с

доказанной инфекцией. Ни у одного пациента микробактерии не выявлены.

3.3. Анализ в подгруппах

Большинство (60%) пациентов, включенных в исследование, были моложе 65 лет. У них клиническая эффективность отмечена в 82% случаев, а у пациентов старше 65 лет – в 86%.

Таким образом, при оценке всех пациентов, принимавших препарат, возраст не влиял на эффективность лечения ($p=0,132$). Отношение шансов составило 1,47 (95% доверительный интервал: 0,88–2,45).

При сравнении эффективности лечения пациентов с сопутствующими сердечно-легочными заболеваниями и без них она была практически одинаковой: 83 и 84% соответственно ($p=0,495$) с отношением шансов 1,19 (95% доверительный интервал: 0,73–1,94).

У подавляющего большинства (432/511) пациентов отмечалось не более 4 обострений в предшествующем году. У них клиническая эффективность в группе протокола (РР) составила 86%. У пациентов, имевших в анамнезе более 4 обострений в год, эффект наблюдался лишь в 71% случаев. Такое различие ($p=0,006$) является статистически высокодоверительным с соотношением шансов 0,43 (95% доверительный интервал: 0,24–0,77).

Зависимость между частотой обострений и преимуществом какого-либо режима лечения была статистически недостоверной ($p=0,204$).

Итак, более 4 обострений в год не влияли на клиническую эффективность при разной длительности приема левифлоксацина.

Клиническую эффективность препарата оценивали у 199 пациентов с ХОБЛ, из которых 177 полностью отвечали всем условиям протокола (группа РР): 94 пациента получали 500 мг левифлоксацина

Таблица 5. Микробиологическая эффективность в зависимости от выделенных микроорганизмов

Визит по окончании терапии	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней				Левифлоксацин – 500 мг 7 дней			
	Абс. число пациентов	Эрадикация, абс. число (%)	Персистенция, абс. число (%)	Неизвестно, абс. число (%)	Абс. число пациентов	Эрадикация, абс. число (%)	Персистенция, абс. число (%)	Неизвестно, абс. число (%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	34	30 (88)	2 (6)	2 (6)	33	26 (79)	2 (6)	5 (15)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	18	13 (72)	2 (11)	3 (17)	20	19 (95)	0	1 (5)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12	9 (75)	3 (25)	0	16	13 (81)	2 (13)	1 (6)
<i>Pseudomonas</i> spp.	14	11 (79)	2 (14)	1 (7)	8	6 (75)	1 (12,5)	1 (12,5)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	8 (100)	0	0	11	8 (73)	2 (18)	1 (9)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7	6 (86)	0	1 (14)	6	6 (100)	0	0
Другие	31	23 (74)	8 (26)	0	15	12 (80)	1 (7)	2 (13)

в течение 5 дней, 83 – 7 дней. Клинический эффект отмечен у 81,9% пациентов с ХОБЛ в каждой группе. Эти результаты подтвердились при анализе всех включенных в исследование пациентов с ХОБЛ. Разница составила 1,8% (95% доверительный интервал: –13,8 до 10,2%).

Следовательно, для пациентов с ХОБЛ 5- и 7-дневный курсы левифлоксацина обладают одинаковой эффективностью.

У 70 пациентов отмечена тяжелая степень обострения хронического бронхита: 34 в группе 5-дневного и 36 в группе 7-дневного курса. Из них включены в протокол 29 и 32 больных соответственно.

У пациентов из группы 5-дневного приема эффект наблюдался в 86,2% по сравнению с 75% случаев при длительности курса 7 дней. Клиническая эффективность у пациентов, принимавших препарат, отмечена в 88,2 и 77,8% для 5- и 7-дневного приемов соответственно. Так как нижний порог доверительного интервала в группе протокола и у всех пациентов, включенных в исследование, был не более – 0,15, следовательно, 5- и 7-дневный режимы одинаково эффективны при лечении тяжелых обострений хронического бронхита.

Клиническую эффективность оценивали в группе пациентов с бактериологически подтвержденной инфекцией (группа ВГТТ). В группе 5-дневного курса эффект наблюдался у 102/126 (84,3%) пациентов с доказанной бактериальной инфекцией по сравнению с 89/107 (84,8%) пациентов в группе 7-дневного приема; при разнице –0,5% (95% доверительный интервал: –10,8 до 9,9%). Такие же результаты получены в группе пациентов, отвечавших всем условиям протокола (группа РР), что подтверждает одинаковую клиническую эффективность двух курсов лечения.

3.4. Оценка безопасности

У всех 530 пациентов, получивших 1 дозу и более исследуемого препарата, оценивали его безопасность. Переносимость была хорошей как при 5-дневном режиме, так и при 7-дневном. О возникновении одного и более нежелательных явлений в период исследования сообщили 100 (37%) пациентов в группе 5-дневного приема и 104 (40%) – в группе 7-дневного. Чаще всего отмечались диарея, головная боль, тошнота и рвота (табл. 6).

Нежелательные явления, возможно, связанные с приемом исследуемого препарата, наблюдались у 52 (19%) пациентов в группе 5-дневного курса лечения и у 51 (20%) пациента – в группе 7-дневного курса. Серьезные нежелательные лекарственные явления отмечены у 14 пациентов (по 7 в каждой группе).

Предположительно только один случай серьезного нежелательного явления мог быть связан с приемом исследуемого препарата: у мужчины в возрасте 67 лет из группы 5-дневного приема левифлоксацина возник пароксизм мерцания предсердий через 2 дня после начала лечения. Пароксизм был купирован проведением кардиоверсии. Из анамнеза удалось выяснить, что пациент страдал дилатационной

Таблица 6. Нежелательные лекарственные реакции

Нежелательные реакции	Нежелательные явления			
	все		возможно, связанные с приемом исследуемого препарата	
	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней, <i>n</i> (%)	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней, <i>n</i> (%)	Левифлоксацин – 500 мг 5 дней, <i>n</i> (%)	Левифлоксацин – 500 мг 7 дней, <i>n</i> (%)
Диарея	16 (6,0)	9 (3,4)	13 (4,9)	7 (2,7)
Головная боль	11 (4,1)	11 (4,2)	5 (1,9)	8 (3,1)
Тошнота	9 (3,4)	10 (3,8)	8 (3,0)	10 (3,8)
Рвота	7 (2,6)	6 (2,3)	6 (2,2)	6 (2,3)
Астения	6 (2,2)	3 (1,1)	4 (1,5)	2 (0,8)
Боль в животе	2 (0,7)	7 (2,7)	1 (0,4)	4 (1,5)
Головокружение	4 (1,5)	3 (1,1)	3 (1,1)	3 (1,1)
Изменения ферментов печени	4 (1,5)	3 (1,1)	2 (0,7)	3 (1,1)
Бессонница	3 (1,1)	4 (1,5)	2 (0,7)	3 (1,1)
Артралгия	5 (1,9)	2 (0,8)	3 (1,1)	2 (0,8)
Число пациентов с нежелательными явлениями	100 (37,0)	104 (40,0)	52 (19,0)	51 (20,0)
Всего <i>n</i> ...	268	262	268	262

кардиомиопатией, из-за которой в последние 2 года периодически возникали пароксизмы мерцания предсердий.

Спустя длительное время после исследования наступили 2 летальных исхода в группе 7-дневного приема. Показано, что никакой связи с назначением препарата ни в одном случае не было.

Большинство нежелательных реакций соответствовали легкой или средней степени тяжести. Тяжелые реакции отмечены у 10 (4%) пациентов в группе 5-дневного приема и у 8 (3%) – в группе 7-дневного. Поражались разные органы. Кроме респираторных нарушений, наблюдавшихся у 2 пациентов из группы 5-дневного приема, каждый нежелательный эффект тяжелой степени встречался только однажды в каждой из 2 групп. Не было случаев возникновения фотосенсибилизации, судорог, тендинитов (эти реакции иногда могут быть связаны с приемом фторхинолонов).

Среди изменений лабораторных показателей чаще всего отмечалась эозинофилия – по 7 пациентов в каждой группе (соответственно 2,6 и 2,7%) и повышение уровня билирубина – по 2 пациента в каждой группе (0,7 и 0,8%). Реже встречались повышение активности АсАТ/АлАТ, уровня креатинина сыворотки крови, тромбоцитопения, анемия и тромбоцитоз. Частота отклонений лабораторных показателей от нормы была практически одинаковой в двух группах.

4. Обсуждение результатов исследования

Несмотря на то что хронический бронхит является распространенной болезнью, серьезных исследований по антибактериальной терапии его обостре-

ний пока мало [15]. Результаты многих исследований недостоверны часто из-за неадекватного объема выборки, состава исследуемой группы, в которую включают пациентов без доказанной бактериальной инфекции (обострение может быть следствием вирусной инфекции, аллергической реакции или воздействия поллютантов). Кроме того, исследователи редко обращают особое внимание на пациентов с умеренной или тяжелой степенью обострения. Если у пациента незначительные симптомы, нет лабораторных признаков обострения, антимикробная терапия может оказаться малоэффективной [11].

В настоящее исследование вошли пациенты преимущественно с умеренной или тяжелой степенью обострения и лабораторными признаками выраженного воспаления слизистой оболочки трахеи и бронхов. Мы отдельно анализировали подгруппы пациентов с доказанной бактериальной инфекцией и сопутствующей патологией.

Оптимальная продолжительность антибиотикотерапии обострения хронического бронхита до сих пор не определена, хотя традиционно она составляет 7–10 или 10–14 дней. Только в последние годы показана возможность достижения такой же эффективности при коротких курсах, например, 5 дней [16–25].

Наиболее многообещающими являются «новые» фторхинолоны, открывающие новые перспективы в лечении этой болезни в связи с проблемой резистентности к β -лактамам и макролидам. Результаты достоверных исследований с использованием «старых» фторхинолонов – ципрофлоксацина и офлоксацина – в литературе нет. Последние ис-

следования показали, что назначение короткими курсами фторхинолонов может быть эффективно. Однако большинство этих исследований содержит перечисленные недостатки.

Ранее проводимые исследования показали одинаковую эффективность 10-дневного курса ко-амоксиклава и 3-дневного курса азитромицина у пациентов с тяжелым обострением хронического бронхита [26], но, учитывая чрезвычайно длительный период полувыведения последнего, нельзя переносить эти результаты на фторхинолоны.

Данное исследование, как и ранее проведенное исследование R. Wilson и соавт., показало, что ни возраст пациента, ни ХОБЛ не влияют на конечный результат лечения, хотя при частоте обострений более 4 в год отмечалась меньшая эффективность препарата [16]. Последнее обстоятельство не зависело от длительности приема левофлоксацина. Во всех анализируемых группах клиническая и бактериологическая эффективность сравниваемых курсов левофлоксацина была сходна с результатами большинства исследований по лечению обострений хронического бронхита [16–20].

Потенциальным преимуществом сокращения курса антибиотикотерапии являются повышение комплаентности и снижение частоты нежелательных реакций. В данном исследовании оба режима лечения хорошо переносились пациентами, а нежелательные явления возникали с одинаковой частотой при разной длительности приема. Пациенты сообщали, что большинство реакций возникало в первые дни лечения.

Маловероятно, что 5-дневный курс других фторхинолонов будет сопровождаться увеличением частоты нежелательных лекарственных реакций. Несомненное преимущество короткого курса лечения – снижение стоимости лечения и селекции резистентности к антибиотикам.

В данном исследовании не выделено штаммов бактерий, которые приобрели бы резистентность к фторхинолонам на фоне лечения левофлоксацином.

Литература

1. American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(Suppl): S77-S121.
2. Woolcock A.J. Epidemiology of chronic airway disease. *Chest* 1989; 96(Suppl):302S-6S.
3. Pearson M.G., Littler J., Davies P.D.O. An analysis of medical workload by specialty and diagnosis in Mersey: evidence of a specialist to patient mismatch. *J R Coll Phys* 1994; 28:230-4.

Таким образом, при обострении хронического бронхита у пациентов в возрасте 18 лет и старше 5-дневный прием левофлоксацина по 500 мг/сут обладает такой же клинической и бактериологической эффективностью, как и 7-дневный курс в той же дозе. При 5-дневном курсе лечения повышается комплаентность и снижается стоимость лечения.

Мы выражаем признательность исследователям:

Аргентина – А. Долманн, К. Пиовано (Буэнос-Айрес);

Австрия – Н. Веттер (Вена);

Бельгия – Бликс (Кортил Нуармонт), Гузенс (Лонде Гент), Вандермутен (Намюр);

Бразилия – А. Чибанте (Рио-де-Жанейро), Е. Фисс (Сан-Паулу), М. Лима (Порту-Алегри);

Германия – Бенедик, Ромберг (Берлин), Т. Бегке (Гилчинг), Х. Биспинг-Арнольд (Фрайзинг), Хеллман (Аугсбург), В. Хохт (Марктредвиц), С. Хульсман (Регенсбург), Кардос (Франкфурт), Кропп (Фульда), Меллер (Хано), В. Вунзидлер (Кирхенламиц);

Мексика – О. Диас де ла Гарца, Д. Виллегас Элизондо (Монтеррей), М. Хойо Гарсиа де Альба (Толука), Р. Мартинес Хередеро, Е. Рамирес Казанова, Е. Сада Диас, Е. Теллес Диас (Мехико), П. Сулас Лопес (Гвадалахара);

Португалия – А. Маркос (Порту), И. Маулиде (Лисабон), Л. Оливейра (Коимбра);

Испания – Альварес Сала (Мадрид);

Швейцария – П. Костабелла (Лозанна); П. Эрард (Ньюшатель), Р. Линдт (Лисс), Х. Вакер (Олсвилл);

Великобритания – М. Аллин, Д. Айрес (Бирмингем), Д. Чапман (Суттон Голдфилд), М. Джонсон (Барнсли), Т. Конг (Лайчестер), А. Лек (Блакбурн), К. Ланган, С. Хучисон, Г. МакКайг (Глазго), П. Шеридан (Белшилл), П. Стотт (Тадворт).

Исследование проводилось при поддержке компании «**Авентис**».

4. Reynolds H.Y. Chronic bronchitis and acute infectious exacerbations. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., editors. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.608-12.
5. Connors A.F., Dawson N.V., Thomas C., et al. Outcomes following acute exacerbation of severe chronic obstructive lung disease. The SUPPORT investigators (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risk of Treatment). *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:959-67.
6. Ball P. Epidemiology and treatment of chronic bronchi-

- tis and its exacerbations. *Chest* 1995;108(Suppl):43-52.
7. Felmingham D., Gruneberg R.N. A multicentre collaborative study of the antimicrobial susceptibility of community-acquired, lower respiratory tract pathogens 1992–1993: the Alexander Project. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38(Suppl A): 1-57.
 8. Ball A.P., Tillotson G.S. Lower respiratory tract infection therapy – the role of ciprofloxacin. *J Intl Med Res* 1995; 23:315-27.
 9. Blondeau J.M. Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clin Ther* 1999;21(1):1-40.
 10. Masterton R.G. New quinolones: their role in clinical practice. *Hosp Med* 1999; 60:82-3.
 11. Anthonisen N.R., Manfreda J., Warren C.P., Hershfield E.S., Harding G.K., Nelson N.A. Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Intern Med* 1987; 106:196-204.
 12. Saint S., Bent S., Vittinghoff E., Grady D. Antibiotics in chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: a meta-analysis. *J Am Med Assoc* 1995; 273:957-60.
 13. American Thoracic Society. Chronic bronchitis, asthma, and pulmonary emphysema; a statement by the Committee on Diagnostic Standards for Nontuberculous Respiratory Diseases. *Am Rev Resp Dis* 1962; 85:762-8.
 14. Beam T.R., Gilbert D.N., Kunin C.M., editors with modifications by a European Working Party. Guidelines for the clinical evaluation of anti-infective drugs. Published for: The European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease; 1993.
 15. Wilson R., Tillotson G., Ball P. Clinical studies in chronic bronchitis: a need for better definition and classification of severity. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37:205-8.
 16. Wilson R., Kubin R., Ballin I., et al. Five day moxifloxacin therapy compared with 7 day clarithromycin therapy for the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44:501-13
 17. Henry D., Ruoff G.E., Rhudy J., et al. Effectiveness of short-course therapy (5 days) with cefuroxime axetil in treatment of secondary bacterial infections of acute bronchitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:2528-34.
 18. Wasilewski M.M., Johns D., Sides G.D. Five-day dirithromycin therapy is as effective as 7-day erythromycin therapy for acute exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:541-8.
 19. Chodosh S., DeAbate C.A., Haverstosk d., Aneiro L., Church D. Short-course moxifloxacin therapy for treatment of acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. *Resp Med* 2000;94:18-27.
 20. DeAbate C.A., Bettis R., Munk Z.M., et al. Effectiveness of short-course therapy (5 days) with grepafloxacin in the treatment of acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. *Clin Ther* 1999; 21:172-88.
 21. Lorenz J. Comparison of 5-day and 10-day cefixime in the treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis. *Chemotherapy* 1998; 44(Suppl 1): 15-8.
 22. Langan C., Clecner B., Cazzola C.M., et al. Short-course cefuroxime axetil therapy in the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *Int J Clin Pract* 1998; 52:289-97.
 23. Guest N., Langan C.E. Comparison of the efficacy and safety of a short course of ceftibuten with that of amoxicillin/clavulanate in the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 10:49-54.
 24. Paster R.Z., McAdoo M.A., Keyserling C.H., Nemeth M.A., Tack K.J., Griffin T.J. A comparison of 5-day regimen of cefdinir with a seven-day regimen of loracarbef for the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *Int J Clin Pract* 2000; 54:293-9.
 25. Fogarty C.M., Bettis R.B., Griffin T.J., Keyserling C.H., Nemeth M.A., Tack K.J. Comparison of 5 day regimen of cefdinir with a 10 day regimen of cefprozil for treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:851-8.
 26. Hoepelman I.M., Mollers M.J., van Schie M.H., et al. A short (3-day) course of azithromycin tablets versus a 10-day course of amoxicillin-clavulanic acid (co-amoxiclav) in the treatment of adults with lower respiratory tract infections and the effect on long-term outcome. *Int J Antimicrob Agents* 1997; 9:141-6.

УДК 579.861.2.044:615.33

Сравнительная активность антибактериальных препаратов, входящих в лекарственные формы для местного применения, в отношении *Staphylococcus aureus*: результаты российского многоцентрового исследования

Л.С. Страчунский, А.В. Дехнич, Ю.А. Белькова, группа исследователей проекта СтЭнт*
Институт антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия

Цель исследования – определить *in vitro* активность антибиотиков, доступных в формах для местного применения, в отношении клинических штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов, госпитализированных в стационары различных регионов России.

Материал и методы. В исследование были включены 879 клинических штаммов *S. aureus*, выделенных в 2000–2001 гг. от пациентов, госпитализированных в 17 стационаров различных регионов России: 4 – в Центральном регионе, 2 – в Северо-Западном, 3 – в Южном, 2 – в Поволжье, 3 – в Уральском регионе, 3 – в Сибири. Чувствительность к 9 антимикробным препара-

там, доступным в форме для местного применения – гентамицину, клиндамицину, линкомицину, мупироцину, тетрациклину, фузидиевой кислоте, хлорамфениколу, ципрофлоксацину, эритромицину – определялась методом разведений в агаре в соответствии с рекомендациями Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS).

Результаты. Наиболее активными антибиотиками оказались фузидиевая кислота, к которой были чувствительны все исследованные штаммы, и мупироцин (0,3% штаммов были резистентны). Частота метициллинорезистентности составила 33,6%. Высокая частота резистентно-

*Т.Е. Афиногенов – РосНИИТО им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург,
Л.И. Ахметова – Диагностический центр лабораторной диагностики, Екатеринбург,
Л.Г. Боронина – Областная детская клиническая больница, Екатеринбург,
Е.Н. Гугуцидзе – Клиническая больница при Управлении делами Президента РФ, Москва,
Л.В. Гудкова – Областная клиническая больница, Томск,
Д.Э. Здзиговецкий – Городская больница скорой медицинской помощи, Красноярск,
В.Н. Ильина – Областная клиническая больница, Новосибирск,
О.И. Кречикова – Центр госсанэпиднадзора по Смоленской обл., Смоленск,
Н.Е. Марусина – Детская республиканская больница, Казань,
И.Г. Мултых – Краевой диагностический центр, Краснодар,
С.И. Пылаева – НИИ травматологии и ортопедии, Нижний Новгород,
И.В. Смирнов – Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Рязань,
Т.Н. Суборова – Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург,
В.К. Тарабан – Краевая клиническая больница, Краснодар,
Н.М. Фурлетова – Городская клиническая больница № 23, Москва,
С.Г. Хасанова – Городская клиническая больница № 21, Уфа,
Е.В. Щетинин – Ставропольская государственная медицинская академия, Ставрополь.

Контактный адрес:
Андрей Владимирович Дехнич
214019, Смоленск, а/я 5
Факс: (0812) 61-12-94
Эл. почта: andrei@antibiotic.ru

сти отмечена к эритромицину (39,6%), тетрациклину (37,1%), гентамицину (30,7%), клиндамицину (27,1%), ципрофлоксацину (13,1%) и особенно к хлорамфениколу (43,1%).

Выводы. В качестве препаратов выбора для терапии поверхностных стафилококковых инфекций в России следует рекомендовать фузидиевую кислоту и мупироцин. Высокая частота резистентности к хлорамфениколу, линкосами-

дам, макролидам, β -лактамам, тетрациклину и аминогликозидам не позволяет рекомендовать эти препараты для эмпирической терапии инфекций стафилококковой этиологии в большинстве стационаров.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, антибиототики для местного применения, антибиотикорезистентность, фузидиевая кислота, мупироцин.

Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Hospitalised Patients to Topical Antimicrobials in Russia

L.S. Stratchounski, A.V. Dekhnich, Ju.A. Belkova, The StEnt Study Group

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Objective. To determine *in vitro* activity of fusidic acid and other antimicrobials available for topical use against *S. aureus* isolated from hospitalised patients.

Materials and methods. A total of 879 clinical strains of *S. aureus* isolated in 2000–2001 from patients hospitalised in 17 medical institutions in different parts of Russia – 4 in Central region, 2 in North-West region, 3 in South region, 2 in Volga region, 3 in Ural region, 3 in Siberian region, were included in the study. Susceptibility to fusidic acid and 8 other antimicrobials available for topical use (gentamicin, mupirocin, erythromycin, clindamycin, lincomycin, tetracycline, chloramphenicol, ciprofloxacin) was determined by agar dilution method in accordance with the NCCLS recommendations.

Results. The most potent antimicrobial was fusidic acid to which no resistance was found. The

only other antimicrobial with low frequency of resistance was mupirocin (0,3% of the lower-level resistance). The prevalence of MRSA among tested strains was 33,6%. The high rates of resistance were found to erythromycin (39,6%), tetracycline (37,1%), gentamicin (30,7%), clindamycin (27,1%), ciprofloxacin (13,1%) and chloramphenicol (43,1%).

Conclusions. Fusidic acid and mupirocin can be used as the drugs of choice for the treatment of *S. aureus* infections in Russia. High rate of resistance to chloramphenicol, macrolides, tetracyclines, aminoglycosides and lincosamides advise not to use these antimicrobials for empiric therapy of *S. aureus* infections.

Key words: *Staphylococcus aureus*, topical antimicrobials, antimicrobial resistance, fusidic acid, mupirocin.

Введение

Staphylococcus aureus является одним из ведущих возбудителей инфекций кожи и мягких тканей (ИКМТ), таких, как фурункул, карбункул, импетиго, абсцесс, флегмона, целлюлит, послеоперационная раневая инфекция. Так, например, 75–90,8% пиодермий и 80% импетиго имеют стафилококковую этиологию [1, 2, 3].

При ИКМТ антибактериальные препараты часто назначаются местно как в виде монотерапии, так и дополнительно к системной терапии. Успех антибактериальной терапии зависит от правильного вы-

бора антибиотика, который возможен только при наличии информации о чувствительности предполагаемого возбудителя. В то же время в большинстве случаев терапия начинается эмпирически, в связи с чем необходимо располагать локальными данными об эпидемиологии антибиотикорезистентности.

В последние годы отмечается рост резистентности *S. aureus* к антимикробным препаратам, применяемым в клинической практике, причем распространенность резистентности может значительно различаться в разных странах и географических



Рис. 1. Географическое распределение центров, участвовавших в исследовании

регионах. Основную проблему представляют метициллинорезистентные штаммы, которые устойчивы не только ко всем β -лактамам, но и ко многим другим группам антибиотиков [4]. Тревожным фактом является появление и распространение метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* не только среди возбудителей госпитальных, но и внебольничных инфекций [5, 6, 7].

В то же время если для системной терапии стафилококковых инфекций арсенал препаратов, обладающих высокой эффективностью в отношении *S. aureus*, относительно широк, то спектр препаратов, доступных в формах для местного применения, ограничен. Более того, к большинству таких препаратов (тетрациклины, аминогликозиды, линкосамиды и т. д.) часто встречается резистентность [3].

В связи со сказанным очевидно, что необходимо располагать отечественными данными о резистентности конкретного микроорганизма к различным антибактериальным препаратам. Однако до сих пор в России не проводилось многоцентровых исследований антибиотикорезистентности *S. aureus*. Принимать же во внимание суммированные данные отдельно взятых лабораторий невозможно, поскольку методика определения чувствительности в большинстве российских лабораторий не стандартизирована. Точно также нельзя ориентироваться только на данные зарубежных исследований, поскольку в связи со значительными различиями в политике применения антибиотиков в России и за рубежом распространенность антибиотикорезистентности может значительно различаться.

Целью данного исследования явилось изучение *in vitro* активности антибиотиков, доступных в формах для местного применения, в отношении клинических штаммов *S. aureus*, выделенных от госпитализированных пациентов в различных регионах России.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 879 клинических штаммов *S. aureus*, выделенных в 2000–2001 гг. от пациентов, госпитализированных в 17 стационаров различных регионов России (рис. 1): 2 – в Москве, 2 – в Санкт-Петербурге, 2 – в Краснодаре, 2 – в Екатеринбурге и по 1 стационару соответственно в Казани, Красноярске, Нижнем Новгороде, Новосибирске, Рязани, Смоленске, Ставрополе, Томске и Уфе.

Чувствительность микроорганизмов к 9 антибактериальным препаратам, доступным в формах для местного применения – фузидиевой кислоте, гентамицину, мупироцину, ципрофлоксацину, эритромицину, клиндамицину, линкомицину, тетрациклину и хлорамфениколу, а также к оксациллину – определяли методом серийных разведений в агаре в соответствии со стандартами Национального комитета по клиническим и лабораторным стандартам США (NCCLS) [8].

Чашки инокулировали бактериальной взвесью с помощью многоканального инокулятора (Mast Diagnostics Ltd, UK) и инкубировали в атмосферных условиях при температуре 35°C. Результаты определения чувствительности оценивали в соответствии с рекомендациями NCCLS (2002) за исключением фузидиевой кислоты – оценку проводили в соответствии с рекомендациями Комитета по антибиотикам французского общества микробиологов (Comit  de l'Antibiogramme de la Soci t  Fran aise de Microbiologie) [9], мупироцина – в соответствии с рекомендациями производителя [10] и линкомицина, для которого адекватных рекомендаций по интерпретации результатов определения чувствительности не существует (табл. 1).

Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием штамма *S. aureus* ATCC 29213.

Результаты исследования

Из протестированных антибиотиков наибольшей активностью обладали фузидиевая кислота, к которой были чувствительны все исследованные штаммы, и мупироцин – только 3 штамма оказались резистентными (0,3 %) с МПК 16 мг/л (рис. 2, табл. 2).

К ципрофлоксацину были нечувствительны 13,1% штаммов, из которых 2,4% – умеренно резистентны. Отмечена высокая частота резистентности к клиндамицину – 27,1% (26,9% – резистентны, 0,2% – умеренно резистентны), гентамицину – 30,7%, тетрациклину – 37,1%, эритромицину – 39,5% (38,5% – резистентны, 1% – умеренно резис-

Таблица 1. Рекомендуемые пограничные концентрации для интерпретации результатов определения чувствительности *S. aureus* к антибактериальным препаратам

Антибиотик	МПК, мг/л		
	Чувствителен	Умерено резистентен	Резистентен
Гентамицин	≤4	8	≥16
Клиндамицин	≤0,5	1-2	≥4
Линкомицин	-	-	-
Мупироцин*	≤4	-	≥8
Оксациллин	≤2	-	≥4
Тетрациклин	≤4	8	≥16
Фузидиевая кислота**	≤2	-	>16
Хлорамфеникол	≤8	16	≥32
Ципрофлоксацин	≤1	2	≥4
Эритромицин	≤0,5	1-4	≥8

* По данным производителя [10].

** По данным Комитета по антибиотикам французского общества микробиологов (Comitè de l'Antibiogramme de la Sociètè Fran aise de Microbiologie) [9].

тентны) и особенно к хлорамфениколу – 43,1% (42,8% – резистентны, 0,3% – умеренно резистентны).

Распределение МПК исследованных штаммов представлено в табл. 3.

Выявлены значительные различия чувствительности исследованных штаммов в различных стационарах. Так, чувствительность выделенных штаммов к ципрофлоксацину, клиндамицину и гентамицину колебалась в пределах от 100 до 36,7, 36,8 и 34,7% соответственно. Чувствительность к тетрациклину варьировала в пределах 87,5–15,8%, эритромицину – 93,8–31,6%, хлорамфениколу – 93,2–22,5%.

Из 879 включенных в исследование штаммов 295 (33,6%) были резистентными к оксациллину

(MRSA). Доля MRSA значительно варьировала в различных центрах – от 0 до 89,5% и зависела не от географического расположения стационара, а от профиля отделения. Достоверно чаще ($p < 0,0001$) MRSA выделялись от пациентов ожоговых (78,4%), ортопедических/травматологических (41,6%) и реанимационных (41,3%) отделений, в то время как в терапевтических отделениях и хирургических отделениях общего профиля метициллинорезистентность встречалась относительно редко (11,1%).

Из 295 исследованных MRSA все штаммы были чувствительны к фузидиевой кислоте и мупироцину. Остальные протестированные антибиотики проявляли низкую активность в отношении MRSA: к ципрофлоксацину, клиндамицину, тетрациклину, эритромицину, хлорамфениколу и гентамицину были нечувствительны 32,5, 72,5, 73,9, 75,6 и 85,4% штаммов соответственно (табл. 4).

Обсуждение результатов исследования

Основной эффективной эмпирической антибиотикотерапии как системной, так и местной являются данные об эпидемиологии антибиотикорезистентности. Настоящее исследование явилось первым многоцентровым изучением антибиотикорезистентности *S. aureus* у госпитализированных пациентов в России.

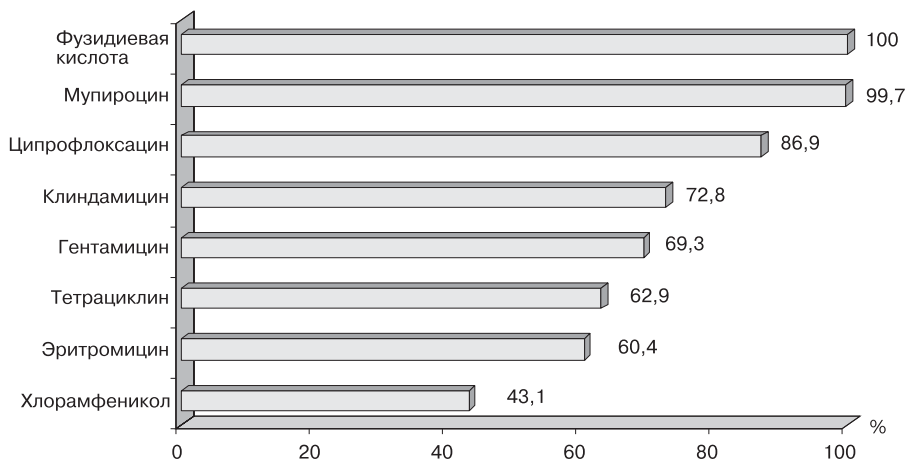


Рис. 2. Чувствительность исследованных штаммов *S. aureus* к антибиотикам, доступных в формах для местного применения, %

Таблица 2. Чувствительность к антибиотикам *S. aureus*, выделенных от госпитализированных пациентов

Антибиотик	S, %	I, %	R, %	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Диапазон МПК
Гентамицин	69,3	0	30,7	0,5	128	0,125–256
Клиндамицин	72,8	0,2	26,9	0,125	256	0,06–256
Линкомицин	–	–	–	2	256	0,25–256
Мупиноцин	99,7	0	0,3	0,25	0,25	0,125–16
Тетрациклин	62,9	0	37,1	0,5	128	0,125–128
Фузидиевая кислота	100,0	0	0	0,125	0,25	0,03–2
Хлорамфеникол	43,1	0,3	42,8	8	128	0,5–256
Ципрофлоксацин	86,9	2,4	10,7	0,5	4	0,125–64
Эритромицин	60,4	1,0	38,5	0,5	256	0,125–256

Наибольшую активность продемонстрировала фузидиевая кислота, к которой были чувствительны все исследованные штаммы, несмотря на то что данный препарат давно и достаточно широко используется в некоторых регионах. По данным зарубежной литературы, резистентность к фузидиевой кислоте также встречается редко. Обычно она не превышала 2–5% и значительно не возрастала в последние годы [11–14]. Это объясняется низкой частотой спонтанных мутаций, приводящих к резистентности – $<10^{-11}$ [15].

Другим высокоактивным антибиотиком был мупиноцин, к которому чувствительны 99,7% протестированных штаммов. Три штамма (0,3%) обладали МПК 16 мг/л, то есть проявили низкий уровень резистентности к мупиноцину. Однако в этом случае можно говорить только о биологической (появление у микробной клетки приобретенного механизма резистентности), но не клинической резистентности, так как концентрация мупиноцина, создаваемая при местном его применении, значительно превышает данное значение МПК [10].

О клинической резистентности к мупиноцину можно с уверенностью говорить лишь в случае высокого уровня резистентности (МПК > 512 мг/л) [10]. Необходимо отметить, что все MRSA были чувствительны к мупиноцину. В то же время, по данным литературы, число мупиноцинорезистентных штаммов *S. aureus* в последние годы возрастает, что, вероятно, связано с широким его использованием во многих странах [16, 17].

Остальные протестированные антибиотики проявляли низкую активность. Так, к клиндамицину, гентамицину, тетрациклину, эритромицину и хлорамфениколу было нечувствительно 27,1, 30,7, 37,1, 39,6 и 43,1% штаммов соответственно, что не позволяет рекомендовать эти антибиотики для эмпирической антибиотикотерапии ИКМТ. В целом подобная ситуация отмечается и во многих других странах мира, где резистентность к макролидам, аминогликозидам, тетрациклинам и линкосамидам широко распространена [4, 18, 19, 20].

В то же время резистентность к хлорамфениколу в стационарах российских лечебно-профилактических учреждений выше (43,1%), чем в зарубеж-

Таблица 3. Распределение популяции *S. aureus* по значениям МПК исследованных антибиотиков, %

Антибиотик	0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Гентамицин	–	–	–	0,1	5,0	57,3	6,5	0,1	0,2	–	–	0,5	0,8	29,1	0,3
Клиндамицин	–	–	0,9	64,3	5,9	1,7	0,3	–	0,1	–	0,1	–	–	–	26,7
Линкомицин*	–	–	–	–	0,1	0,3	30,2	39,9	0,5	0,1	–	0,1	1,3	0,5	27,1
Мупиноцин	–	–	–	41,6	53,8	2,9	1,3	–	–	–	0,3	–	–	–	–
Тетрациклин	–	–	–	1,3	22,2	37,1	2,1	0,1	0,2	–	0,1	3,6	22,8	10,6	–
Фузидиевая кислота	–	3,1	22,1	64,4	9,3	0,2	0,5	0,5	–	–	–	–	–	–	–
Хлорамфеникол	–	–	–	–	–	0,1	0,1	–	19,7	36,9	0,3	0,3	24,9	17,4	0,1
Ципрофлоксацин	–	–	–	0,2	12,2	69,5	5,0	2,4	1,7	0,1	3,2	5,6	0,1	–	–
Эритромицин	–	–	–	1,25	16,15	42,9	0,9	0,1	–	–	–	–	–	0,2	38,2

□ Значения МПК, соответствующие умеренной резистентности.

■ Значения МПК, соответствующие резистентности.

* Отсутствуют критерии для интерпретации результатов определения чувствительности.

Таблица 4. Чувствительность к антибиотикам метициллино-резистентных штаммов *S. aureus*, выделенных от госпитализированных пациентов, %

Антибиотик	S	I	R
Гентамицин	14,6	0	85,4
Клиндамицин	27,5	0	72,5
Мупироцин	100,0	0	0
Тетрацилин	26,1	0	73,9
Фузидиевая кислота	100,0	0	0
Хлорамфеникол	15,3	0,3	84,4
Ципрофлоксацин	67,5	4,4	28,1
Эритромиин	24,4	1,0	74,6

ных [19, 20]. Это, по-видимому, объясняется тем, что в большинстве стран мира этот антибиотик не применяется в течение нескольких десятилетий. В то же время в России он используется очень широко не только для системной терапии, но и входит в состав таких «популярных» средств для местного применения, как левомеколь, левосин, кортикостероиды, левовинизоль, фулевил, линимент синтомицина.

Высокий уровень резистентности к макролидам, линкосамидам, тетрациклину, аминогликозидам и особенно к хлорамфениколу не позволяет рекомендовать их для эмпирической терапии инфекций, вызванных *S. aureus* у госпитализированных пациентов.

В целом следует переоценить практику включения антимикробных препаратов для системного ис-

пользования в местные лекарственные формы. Хорошо известны примеры, когда бесконтрольное местное использование антибиотиков вело к драматическому росту антибиотикорезистентности. Так, например, в ожоговом отделении в одной из клиник Лондона с 1964 г. местно использовался гентамицин. При этом в 1965 г. в данном отделении к гентамицину были чувствительны 90% штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, в 1969 г. – только 9%. После 1969 г. использование гентамицина прекратилось, и в следующий год только 5% штаммов синегнойной палочки были резистентны к данному препарату [21].

В настоящей работе проведено определение чувствительности только к 9 антибактериальным препаратам, тогда как в клинической практике применяется ряд иных лекарственных средств. Особый интерес представляет сульфадиазин серебра, который используется при терапии ожоговых ран. Однако основной проблемой при тестировании других антимикробных препаратов является отсутствие общепризнанных стандартов определения чувствительности к ним.

Таким образом, в качестве препаратов выбора для терапии поверхностных инфекций, вызванных *S. aureus*, можно рекомендовать фузидиевую кислоту и мупироцин. Необходимо вести активный поиск новых антимикробных препаратов для местной терапии стафилококковых инфекций.

Литература

1. Каламкарян А.А., Архангельская Е.И., Глухенький Б.Т., Масюкова С.А. Кожные и венерические болезни. Под редакцией Скрипкина Ю.К., Мордовцева В.Н. 2-е изд. Москва: Медицина; 1999. Т. 1. с. 213-57.
2. Trilla A., Miro J.M. Identifying high risk patients for *Staphylococcus aureus* infections: skin and soft tissue infections. J Chemother 1995; 7 (Suppl 3):37-43.
3. Mandell L.A. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Raphael D., editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 306-7.
4. Jorgensen J.H. Laboratory and epidemiologic experience with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the USA. Eur J Clin Microbiol 1986; 5:693-6.
5. Kallen A., Driscoll T., Thornton S., Olson P., Wallace M. Increase in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a naval medical center. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21:223-6.
6. O'Brien F., Pearman J., Gracey M., Riley T., Grubb W. Community strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* involved in a hospital outbreak. J Clin Microbiol 1999; 37:2858-62.
7. Gosbell I.B., Mercer J.L., Neville S.A., Chant K.G., Munro R. Community-acquired, non-multiresistant oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (NORSA) in south western Sydney. Pathology 2001; 33(2):206-10.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth informational supplement. NCCLS Document M100-S4. 2002; 22(1).
9. Statement 1996 CA-SFM. Zone sizes and MIC breakpoints for non-fastidious organisms. Clin Microbiol Infect 1996; 2 (Suppl 1):46-9.
10. Богданович Т.М., Страчунский Л.С. Мупироцин: уникальный антибиотик для местного применения. Клинический микробиолог антимикроб химиотерапевт 1999; 1(1):57-65.
11. Белькова Ю.А. Фузидиевая кислота в современной клинической практике (Обзор литературы). Клинический микробиолог антимикроб химиотерапевт 2001; 4:324-38.
12. Reynolds J.I.F., editor. Martindall the extra pharmacopoeia. 31st ed. London: Royal Pharmaceutical Society; 1996. p. 233-5.

13. Turnidge J., Collignon P. Resistance to fusidic acid. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12 (Suppl 2):35-44.
14. Samra Z., Gadba R., Ofir O. Antibiotic susceptibility and phage typing of methicillin-resistant and -sensitive *Staphylococcus aureus* clinical isolates at the period during 1991–1997. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20:427-7.
15. O'Neill A.J., Cove J.H., Chopra I. Mutation frequencies for resistance to fusidic acid and rifampicin in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:647-50.
16. Kochman M., Fordymacki P., Lawrynowicz-Pacior M., et al. Susceptibility to selected chemotherapeutics *Staphylococcus aureus* strains resistant to methicilline isolated from clinical materials in the years 1991–1992 and 1997. *Med Dosw Microbiol* 1999; 51(3-4):187-98.
17. Perez-Fontan M., Rosales M., Rodriguez-Carmona A., Falcon T.G., Valdes F. Mupirocin resistance after long-term use for *Staphylococcus aureus* colonization in patients undergoing chronic peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(2):337-41.
18. Nishijima S., Kurokawa I. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from skin infections. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19:241-3.
19. Guerin F., Buu-Hoi A., Mainardi J.-L., et al. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to glycopeptides in Parisian hospital. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2985-8.
20. Rohani M.Y., Raudzah A., Lau M.G., et al. Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 13:209-13.
21. Swarz M.N. Use of antimicrobial agents and drug resistance. *N Engl J Med* 1997; 337:491-2.

УДК [616.36-002.2-022:578.891]-07

Хронический гепатит В: практические рекомендации Американской ассоциации по изучению заболеваний печени

А.С.Ф. Лок¹, Б.Дж. МакМахон²

¹Отделение гастроэнтерологии, Медицинский центр Мичиганского университета, Анн-Арбор, Мичиган, США

²Программа по изучению вирусного гепатита, Медицинский центр Аляски и Программа арктических исследований, Центр по контролю и профилактике заболеваний, Анкоридж, Аляска, США

Chronic Hepatitis B: AASLD Practice Guidelines

Anna S.F. Lok¹, Brian J. McMahon²

¹Division of Gastroenterology, University of Michigan Medical Center, Ann Arbor, MI

²Viral Hepatitis Program, Alaska Native Medical Center and Arctic Investigations Program, Centers for Disease Control and Prevention, Anchorage, AK

Предисловие

Данные практические рекомендации были созданы в помощь врачам-клиницистам и другим медицинским работникам в диагностике и ведении пациентов с хронической инфекцией, вызванной *вирусом гепатита В (HBV)*. Они разработаны в целях оптимизации подходов к ведению пациентов с хроническим гепатитом В. Представленные рекомендации не претендуют на роль единственно приемлемого и правильного руководства по ведению и лечению таких пациентов. В связи с имеющимися в каждом конкретном клиническом случае особенностями терапии практические рекомендации не могут являться единственным приемлемым стандартом по ведению пациентов с хроническим гепатитом В и должны совершенст-

воваться по мере поступления новых данных.

Настоящие практические рекомендации разработаны и одобрены Комитетом по созданию практических рекомендаций Американской ассоциации по изучению заболеваний печени. Они должны восприниматься исключительно как рекомендации, а не как стандарт оказания медицинской помощи. Данные, использованные для разработки рекомендаций, получены в результате анализа литературы, касающейся особенностей естественного течения, диагностики и лечения хронического гепатита В.

При создании рекомендаций были использованы материалы последнего симпозиума Ассоциации национальных институтов здоровья (США) «Ведение пациентов с гепатитом В 2000» [1].

Каждая предлагаемая рекомендация отнесена к определенной категории в зависимости от качества доказательств в соответствии с рейтинговой системой, приведенной в табл. 1 [2].

Введение

В настоящее время во всем мире насчитывается 350 млн человек с хронической HBV-инфекцией [3]. В США зарегистрировано 1,25 млн носителей HBV, являющихся, по определению, «лицами, у которых на протяжении более чем 6 мес в сыворотке крови обнаруживается HBsAg» [4, 5]. Носители HBV представляют собой группу высокого риска развития цирроза печени, печеночной недостаточности и *гепатоцеллюлярной карциномы* (ГЦК) [6]. Несмотря на то что у большинства пациентов с HBV-

Таблица 1. Категории оценки качества доказательств, на которых основаны предлагаемые рекомендации

Категория	Определение
I	Доказательства получены из нескольких хорошо организованных рандомизированных контролируемых клинических исследований, в каждом из которых использована статистически достоверная выборка
II	Доказательства получены как минимум из одного крупного, хорошо организованного клинического исследования с/без рандомизации, из исследований на больших группах населения или контролируемых аналитических исследований, или из хорошо организованного метаанализа
III	Доказательства основаны на клиническом опыте или получены из описательных исследований или официальных докладов экспертных комитетов
IV	Доказательства получены из неуточненных источников

Примечание. Приведенные определения качества доказательств являются модифицированными *Комитетом по созданию практических рекомендаций Американского общества по изучению заболеваний печени* категориями, взятыми из стандартов качества, разработанных *Американским обществом по инфекционным болезням* [2].

инфекцией не возникает осложнений, характерных для хронического гепатита В, однако у 15–40% из них в определенные периоды жизни развиваются тяжелые нарушения функции печени [7]. Рекомендации, представленные в данном руководстве, касаются следующих вопросов:

- 1) обследование пациентов с хронической HBV-инфекцией;
- 2) профилактика HBV-инфекции;
- 3) роль системы контроля за распространенностью ГЦК;
- 4) лечение хронического гепатита В.

Вирус гепатита В

HBV принадлежит к семейству гепаднавирусов. Геном HBV представляет собой релаксированную кольцевую частично двухцепочечную молекулу ДНК размером приблизительно в 3200 пар оснований. В его составе имеются 4 частично перекрывающиеся открытые рамки считывания, кодирующие синтез антигенов оболочки (pre S/S), белков сердцевинки, или нуклеокапсида вируса (рcore/core), маркер синтеза ДНК-полимеразы и синтез протеина X [8, 9].

Открытая рамка считывания pre S/S кодирует синтез боль-

ших, средних и малых поверхностных протеинов. Открытая рамка считывания рcore/core транслируется в рcore полипептид, который в дальнейшем модифицируется в растворимый белок – HBeAg (*e-антиген HBV*), и нуклеокапсидный белок – HBcAg (*сердцевинный антиген HBV*). Установлено, что мутации core promoter и рамки считывания рcore приводят к снижению или полному прекращению продукции HBeAg [10, 11].

Полимераза функционирует как обратная транскриптаза, а также как ДНК-полимераза.

Протеин X является мощным трансактиватором и, возможно, участвует в процессе канцерогенеза печени.

Цикл репликации HBV начинается с прикрепления вириона к поверхности гепатоцита. Затем внутри ядра гепатоцита завершается синтез недостающего участка плюс-цепи ДНК вируса, и вирусный геном трансформируется в *ковалентно-замкнутую кольцевую ДНК* (сссДНК); сссДНК является матрицей для синтеза прегеномной РНК, с которой путем обратной транскрипции синтезируется минус-цепь молекулы ДНК вируса.

Существуют 2 возможных пу-

ти накопления в организме сссДНК HBV: проникновение в гепатоцит новых вирусных частиц или транслокация вновь синтезированной ДНК вируса из цитоплазмы гепатоцита. Большинство изученных до настоящего времени противовирусных препаратов или совсем не влияет на ковалентно-замкнутую кольцевую молекулу ДНК, или слабо на нее действует [12]. Этим объясняется быстрое повторное появление в сыворотке крови HBV ДНК после прекращения противовирусной терапии.

Эпидемиология гепатита В

Несмотря на то что лица с хронической HBV-инфекцией встречаются во всем мире, HBV наиболее широко распространен в Азии, странах Южно-Тихоокеанского региона, Южной и Центральной Африки, в отдельных группах коренного населения, живущего за Северным полярным кругом (Аляска, Гренландия, Северная Канада), в Австралии, Новой Зеландии, странах Южной Америки и Среднего Востока [7, 13, 14].

HBV-инфекция также широко распространена среди некоторых групп населения в развитых странах, таких, как иммигранты

Таблица 2. Частота выявления серологических маркеров HBV в группах населения, подлежащих скринингу на HBV-инфекцию, %

Группа населения	HBsAg	Любой маркер
Лица, родившиеся в эндемичных регионах	13	70–85
Гомосексуалисты	6	35–80
Внутривенные наркоманы	7	60–80
Пациенты, находящиеся на гемодиализе	3–10	20–80
ВИЧ-инфицированные	8–11	89–90
Беременные (США)	0,4–1,5	
Члены семьи, лица, совместно проживающие, а также имевшие половые контакты с больными HBV-инфекцией	3–6	30–60

из эндемичных по гепатиту В регионов, гомосексуалисты, внутривенные наркоманы, лица, ведущие беспорядочную половую жизнь [5, 15–19]. В некоторых частях земного шара, таких, как Китай и Южная Африка, ГЦК, ассоциированная с HBV-инфекцией, является одним из ведущих онкологических заболеваний у мужчин [6, 7]. В табл. 2 представлены данные о частоте выявления серологических маркеров HBV-инфекции в тех группах населения, которые должны подвергаться массовому скринингу на HBV-инфекцию и иммунопрофилактике в случае выявления среди них серонегативных лиц.

Пути передачи HBV являются парентеральный, половой, перинатальный, а также контактно-бытовой, реализующийся, вероятно, при тесном контакте с открытыми повреждениями и ранами и распространенный особенно среди детей, проживающих в эндемичных регионах с высокой распространенностью HBV-инфекции [5, 15–17]. HBV может длительно сохраняться вне организма, а HBeAg-позитивные лица с HBV-инфекцией при наличии открытых ран и их контакте с поверхностями окружающей среды способны оставлять на них большое количество (10^7 – 10^9) вирусных частиц [20, 21].

Риск развития хронической HBV-инфекции после инфици-

рования HBV колеблется от 90% у новорожденных, родившихся от HBeAg-позитивных матерей, до 25–30% у грудных детей и детей в возрасте до 5 лет и составляет менее 10% у взрослых [22–26]. Кроме того, вероятность трансформации острого вирусного гепатита В в хронический намного выше у лиц с иммунодефицитными состояниями [27, 28].

Группы населения, которые должны подвергаться скринингу на HBV-инфекцию: лица, родившиеся в эндемичных регионах с высокой распространенностью HBV, гомосексуалисты, внутривенные наркоманы, пациенты, находящиеся на гемодиализе, ВИЧ-инфицированные, беременные женщины, а также члены семьи, лица, проживающие в тесном контакте, и лица, имевшие половые контакты с пациентами с HBV-инфекцией (II).

Терминология и естественное течение хронической HBV-инфекции

В табл. 3 приведены общепринятые определения и диагностические критерии, касающиеся HBV-инфекции, принятые на симпозиуме Ассоциации национальных институтов здоровья (США) «Ведение пациентов с гепатитом В 2000».

Наиболее широко используемым определением термина «носительство HBV-инфекции» является следующее: «выявление в

сыворотке крови пациента HBsAg на протяжении как минимум 6 мес». Необходимо помнить, что в отдельных случаях процесс элиминации HBsAg из организма после перенесенной острой инфекции может затягиваться и занимать промежуток времени на несколько месяцев больший, однако HBsAg не должен определяться в сыворотке крови уже через 1 год после перенесенной острой HBV-инфекции [25].

На начальном этапе развития хронической HBV-инфекции в сыворотке крови присутствует HBeAg и определяются высокие уровни HBV ДНК. У большинства пациентов с HBV-инфекцией в конечном итоге из крови исчезает HBeAg и появляются *антитела к HBeAg* (anti-HBe) [29–33]. У большинства пациентов, у которых произошла сероконверсия HBeAg в anti-HBe, концентрация HBV ДНК в сыворотке крови снижается до уровня, не определяемого неамплификационными методами ($\approx 10^5$ копий/мл), возвращается к нормальным значениям уровень активности *аланинаминотрансферазы* (АлАТ), снижается активность воспалительного и некротического процессов в печени [29, 32]. Однако у некоторых пациентов заболевание принимает персистирующий характер или рецидивирует спустя некоторое время после периода отсутствия

Таблица 3. Основные клинические термины и определения, связанные с HBV-инфекцией

Определения*Хронический гепатит В*

Хроническое воспалительно-некротическое заболевание печени, связанное с персистирующей инфекцией, вызванной HBV. Хронический гепатит В подразделяется на HBeAg-положительный и HBeAg-отрицательный гепатит В «Носительство HBsAg»

Персистирующая HBV-инфекция печени без выраженного воспалительно-некротического процесса

Разрешившийся гепатит В

Перенесенная HBV-инфекция с отсутствием в дальнейшем вирусологических, биохимических или гистологических доказательств активности вирусной инфекции или патологического процесса в печени

Обострение или рецидив гепатита В

Периодическое повышение активности печеночных аминотрансфераз более чем в 10 раз по сравнению с верхней границей нормы и более чем в 2 раза по сравнению с исходным уровнем

Реактивация гепатита В

Повторное развитие воспалительно-некротического процесса в печени у пациентов, находившихся в фазе «носительства HBsAg» или перенесших гепатит В

Элиминация HBeAg

Исчезновение HBeAg из крови у ранее HBeAg-положительных пациентов

Сероконверсия HBeAg

Исчезновение HBeAg и появление anti-HBe в крови у ранее HBeAg-положительных и anti-HBe-отрицательных пациентов, сопровождающееся снижением уровня HBV ДНК $<10^5$ копий/мл

Реверсия HBeAg

Повторное появление в крови HBeAg у ранее HBeAg-отрицательных и anti-HBe-положительных пациентов

Диагностические критерии*Хронический гепатит В*

1. Наличие в крови HBsAg более 6 мес
2. Уровень HBV ДНК в сыворотке крови $>10^5$ копий/мл
3. Постоянно или периодически повышенный уровень активности АлАТ/АсАТ в сыворотке крови
4. Гистологическая картина хронического гепатита по данным биопсии печени (гистологический индекс активности воспалительно-некротического процесса в печени ≥ 1)¹

«Носительство HBsAg»

1. Наличие в крови HBsAg более 6 мес
2. Отсутствие в крови HBeAg и наличие anti-HBe
3. Уровень HBV ДНК в сыворотке крови $<10^5$ копий/мл
4. Нормальный уровень активности АлАТ/АсАТ в сыворотке крови
5. Отсутствие гистологической картины гепатита по данным биопсии печени (гистологический индекс активности воспалительно-некротического процесса в печени <4)¹

Разрешившийся гепатит В

1. Перенесенный острый или хронический гепатит В в анамнезе или наличие в крови anti-HBc ± anti-HBs
2. Отсутствие в крови HBsAg
3. Отсутствие HBV ДНК в сыворотке крови²
4. Нормальный уровень активности АлАТ в сыворотке крови

¹ Необязательный критерий.

² Очень низкие уровни HBV ДНК могут определяться высокочувствительным методом ПЦР.

активных проявлений. У большинства из этих пациентов определяются мутации в core promoter или пресоре участке ДНК вируса.

В настоящее время установлено существование 3 серологических типов хронической HBV-инфекции. Для стран Азии и Океании, где хроническая HBV-инфекция по меньшей мере в 50% случаев является результатом перинатального инфицирования HBV, характерны более длительное сохранение в крови

HBeAg и развитие сероконверсии у большинства пациентов в более старшем возрасте, после достижения совершеннолетия (тип 1) [34, 35].

Среди лиц с HBV-инфекцией, приобретенной в перинатальный период, у большого процента HBeAg-положительных пациентов имеется высокое содержание HBV ДНК в сыворотке крови при нормальном уровне активности АлАТ [34, 35]. Считается, что эти пациенты находятся в фазе «иммунологической толерантно-

сти». У многих из них в дальнейшем развивается HBeAg-положительный хронический гепатит В с повышенным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови, и уже в более старшем возрасте они описываются как серологический тип 2 [33, 36, 37].

В странах Южной и Центральной Африки, на Аляске и в Средиземноморском регионе HBV передается, как правило, от человека к человеку в детском возрасте, в то время как перинатальный путь инфицирования

является менее распространенным (тип 2) [25, 38–40]. В этих популяциях большинство HBeAg-положительных детей имеет повышенный уровень активности АлАТ в сыворотке крови, а сероконверсия HBeAg в anti-HBe обычно происходит в пубертатный период или вскоре после его начала.

Серологический тип 3 встречается, как правило, у пациентов, которые стали HBV-инфицированными уже будучи взрослыми. Этот тип сходен с типом 2 и наиболее широко распространен в развитых странах, где преобладающим путем передачи инфекции являются половые контакты (тип 3) [15, 41]. Характерные особенности серологического типа 3 в настоящее время мало изучены, но в то же время установлено, что у пациентов с высоким уровнем HBV ДНК в сыворотке крови, как правило, наблюдается патологический процесс в печени [30, 32, 42].

В странах Азии и Океании у взрослого населения, имеющего повышенный уровень активности АлАТ в сыворотке крови, а также у пациентов всех возрастных групп с HBV-инфекцией, приобретенной в детском возрасте или во взрослом состоянии, частота элиминации HBeAg из организма варьирует в среднем от 8 до 12% в год [29–33, 43].

Частота элиминации HBeAg намного ниже у детей в странах Азии (большинство из которых имеет нормальный уровень активности АлАТ в сыворотке крови) [34, 35], а также у лиц с иммунодефицитными состояниями [28, 44]. В самом крупном проспективном исследовании, проведенном на Аляске, в которое были включены 1536 детей и взрослых с HBV-инфекцией, наблюдавшихся в течение 12 лет, спонтанная элиминация HBeAg из организма отмечалась у 45%

пациентов через 5 лет и у 80% спустя 10 лет [43].

В исследованиях, проведенных на Тайване и в Италии, в которые были включены дети с повышенным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови, не получавшие лечения, спонтанное исчезновение HBeAg из организма через 3 года и 5 лет наблюдалось соответственно у 50 и 70% исследованных детей [36, 39]. Старший возраст и повышенный уровень активности АлАТ в сыворотке крови являются предикторами элиминации HBeAg из организма. Исчезновение HBeAg из организма может также наблюдаться после обострения гепатита, которое проявляется повышением активности АлАТ в сыворотке крови [31, 33].

Большинство пациентов с HBV-инфекцией, у которых произошла сероконверсия HBeAg, в последующем остаются HBeAg-негативными и anti-HBe-положительными с нормальным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови и отсутствием воспалительного и некротического процессов в печени или их минимальной активностью. Такое состояние было названо носительством HBsAg [29, 32, 33, 39, 40, 43, 45]. Течение и исход носительства HBsAg, как правило, но не без исключения имеют доброкачественный характер и зависят от длительности и тяжести предшествующего хронического гепатита.

В связи с тем, что в различные периоды хронической HBV-инфекции имеются колебания активности АлАТ и концентрации HBV ДНК в сыворотке крови, пациентам до того, как они будут признаны носителями HBsAg, с определенным интервалом в последующем должны проводиться стандартные диагностические тесты. У 20% носителей HBsAg могут развиваться обострения гепатита, которые подтверждаются

повышением активности АлАТ в сыворотке крови в 5–10 раз по сравнению с верхней границей нормы с/без реверсии anti-HBe ⇒ HBeAg [33, 37, 46, 47]. Повторные рецидивы или реактивация вируса могут способствовать развитию прогрессирующего фиброза печени.

HBeAg-негативный хронический гепатит, характеризующийся высоким уровнем HBV ДНК в сыворотке крови, определяемым неамплификационными методами и активностью воспалительно-некротических процессов в печени, встречается во всех странах мира, однако наиболее широко распространен в Средиземноморском регионе и странах Азии [48–64]. Большинство пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В инфицированы штаммами HBV, имеющими мутации в core promoter или пресоре участках генома [49–56, 59, 62–67].

Наиболее распространенная мутация пресоре участка ДНК, G₁₈₉₆A, приводит к появлению преждевременного терминального кодона в последовательности, кодирующей синтез пресоре антигена, и таким образом блокирует продукцию HBeAg [67]. Эта мутация обычно характерна для генотипа D HBV, который преобладает в странах Средиземноморского региона и редко связана с генотипом А HBV, который широко распространен в США и странах Северо-Западной Европы [51, 68].

Наиболее распространенная мутация core promoter участка, A₁₇₆₂T + G₁₇₆₄A, нарушает процесс транскрипции РНК с пресоре последовательности ДНК и снижает тем самым продукцию HBeAg [11]. Существуют также различия в клинической картине HBeAg-положительного и HBeAg-негативного хронического гепатита В [57]. Пациенты с HBeAg-

негативным хроническим гепатитом В имеют тенденцию к более низкому содержанию HBV ДНК в сыворотке крови и более высокую вероятность волнообразного течения заболевания, характеризующегося постоянно повышенной или колеблющейся активностью АлАТ в сыворотке крови [57, 60, 62].

Элиминация HBsAg из крови ежегодно регистрируется приблизительно у 0,5% носителей HBsAg; у большинства из них происходит сероконверсия HBsAg \rightarrow anti-HBs [43, 69, 70]. Несмотря на это у 50% этих пациентов после исчезновения HBsAg в крови могут обнаруживаться низкие уровни HBV ДНК, определяемые только методом *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) [71]. Значимость обнаружения в сыворотке крови очень низких уровней HBV ДНК остается неизвестной.

В одном популяционном исследовании, в которое были включены носители HBsAg, было установлено, что частота развития у них декомпенсированного цирроза печени составляет 0,5 случаев на 1000 лет. В то же время у носителей HBsAg, наблюдающихся в медицинских центрах, частота развития цирроза достигает 2–3% в год, что, возможно, связано с наличием у них сопутствующего хронического гепатита [61, 72–74].

К прогностическим факторам развития цирроза печени относятся: наличие в крови HBeAg, старший возраст пациента и повышенная активность АлАТ в сыворотке крови [72, 73, 75]. Для пациентов с компенсированным циррозом печени 5- и 10-летняя выживаемость составляют соответственно 84 и 68% [75, 76]. У носителей HBsAg с декомпенсированным циррозом 5-летняя выживаемость составляет всего 14% [76, 77]. Факторами риска

развития декомпенсации у пациентов с циррозом печени являются: наличие в крови HBeAg и отсутствие ответа на лечение интерфероном [77, 78].

Показатели 5-летней выживаемости при компенсированном циррозе печени оказываются значительно выше у HBeAg-негативных пациентов (97%), чем у HBeAg-позитивных (72%) [76]. Спонтанное или связанное с противовирусной терапией исчезновение из крови HBeAg снижает риск развития печеночной недостаточности и повышает выживаемость пациентов [72, 74, 76–81].

К факторам риска развития ГЦК у пациентов с хронической HBV-инфекцией относятся: мужской пол, наличие в семейном анамнезе случаев ГЦК, старший возраст, цирроз печени, а также коинфекция *вирусом гепатита С* (HCV) [6, 7, 43, 77, 82]. Однако, несмотря на то что ГЦК наиболее часто встречается у пациентов с циррозом печени, в 30–50% случаев ГЦК, ассоциированная с HBV, развивается при отсутствии цирроза [7]. Элиминация HBsAg снижает риск развития печеночной недостаточности и, возможно, риск возникновения ГЦК [69, 83], однако последняя может развиваться и у HBsAg-негативных пациентов при условии длительного предшествующего носительства HBsAg [43, 70, 84].

Коинфекция HCV или *вирусом иммунодефицита человека* (ВИЧ) обычно встречается у внутривенных наркоманов [5]. Сочетание HBV- и ВИЧ-инфекций регистрируется также у гомосексуалистов. У пациентов с сочетанной хронической HBV- и HCV-инфекцией может быстрее прогрессировать патологический процесс в печени [85] и, кроме того, для них характерен более высокий риск развития ГЦК, чем у пациентов с изолированной

HBV-инфекцией [7]. Для пациентов с сочетанной HBV- и ВИЧ-инфекцией характерны более высокое содержание HBV ДНК в сыворотке крови, более низкая частота спонтанной сероконверсии HBeAg в anti-HBe [28, 44] и более тяжелое течение болезни [86].

Вирус гепатита D (HDV) представляет собой сателлитный вирус, синтез белков внешней оболочки которого зависит от присутствия в гепатоцитах HBV [87]. Сочетанная HBV/HDV-инфекция наиболее широко распространена в Средиземноморском регионе и некоторых странах Южной Америки. Появление доступных вакцин против вирусного гепатита В, а также реализация массовых образовательных программ по вопросам предотвращения передачи HBV-инфекции привели к значительному снижению распространенности HDV-инфекции в последнее десятилетие [88, 89].

HDV-инфекция может протекать в 2 формах. Одна из них обусловлена одновременным инфицированием вирусами гепатита В и D (*коинфекция*), что обычно приводит к более тяжелому течению острого гепатита с более высокой летальностью по сравнению с изолированным острым гепатитом В [87, 90], но значительно реже вызывает развитие хронической инфекции. Другая форма является результатом суперинфекции HDV у пациента с HBV-инфекцией.

Суперинфекция HDV может манифестировать как тяжелый «острый» гепатит у ранее бессимптомных носителей HBV или проявляться в виде обострений предшествующего хронического гепатита В. В отличие от коинфекции суперинфекция HDV у HBV-инфицированных пациентов почти во всех случаях приводит к развитию хронической ин-

фекции, вызванной обоими вирусами. У пациентов с хронической формой сочетанной HBV/HDV-инфекции чаще, чем у пациентов с изолированной хронической HBV-инфекцией, регистрируются случаи развития цирроза печени, печеночной недостаточности и ГЦК [91, 92].

Обследование и ведение пациентов с хронической HBV-инфекцией

Первичное обследование

Первичное обследование пациентов с хронической HBV-инфекцией должно включать тщательный сбор анамнеза и физическое исследование. При этом особое внимание следует уделять выявлению факторов риска развития сочетанной инфекции, употребления пациентом алко-

ля, а также выявлению в семейном анамнезе случаев HBV-инфекции и рака печени.

Лабораторные методы исследования должны включать оценку характера патологических процессов в печени, определение маркеров репликации HBV, а также тесты для выявления коинфекции вирусами гепатита С, D и ВИЧ у пациентов, относящихся к группе риска (табл. 4). Кроме того, следует провести вакцинацию против вирусного гепатита А согласно схемам, рекомендованным *Центрами по контролю и профилактике заболеваний (CDC)* для лиц с хроническим гепатитом В [93]. Перед вакцинацией необходимо определить в крови пациента антитела к HAV (всех классов или только IgG) при условии, что распространенность инфекции в данной

популяции составляет выше 33% [93].

Рекомендации по вакцинации против гепатита А пациентов с хронической HBV-инфекцией: всем лицам с хроническим гепатитом В, не иммунизированным против гепатита А, следует ввести 2 дозы вакцины против гепатита А с интервалом от 6 до 18 мес.

В настоящее время не разработано оптимального метода оценки уровня HBV ДНК в сыворотке крови, который мог бы применяться при первичном обследовании пациента с хронической HBV-инфекцией. Произвольное значение, соответствующее более 10^5 копий ДНК в 1 мл, выбрано в качестве диагностического критерия хронического гепатита В на последнем симпозиуме Ассоциации национальных институтов

Таблица 4. **Обследование пациентов с хронической HBV-инфекцией**

<p>Первичное обследование</p> <p>Анамнез и физическое обследование</p> <p>Лабораторные методы исследования, позволяющие оценить характер процесса в печени: развернутый общий анализ крови с определением количества тромбоцитов, активности ферментов печеночного комплекса, протромбинового времени</p> <p>Методы определения репликативной активности HBV: определение в крови HBeAg/anti-HBe, HBV ДНК</p> <p>Методы обследования, позволяющие исключить другие причины заболевания печени: определение в крови anti-HCV, anti-HDV</p> <p>Методы, используемые для скрининга на ГЦК: тест на α-фетопротеин, УЗИ у пациентов группы высокого риска</p> <p>Биопсия печени с целью определения степени активности и стадии процесса у пациентов, соответствующих критериям хронического гепатита</p>
<p>Приблизительный план дальнейшего наблюдения пациентов, не нуждающихся в лечении</p> <p><i>Пациенты с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В, содержанием в крови HBV ДНК $>10^5$ копий/мл и нормальным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови</i></p> <p>Определение уровня активности АлАТ каждые 3–6 мес</p> <p>При повышении активности АлАТ более чем в 1–2 раза по сравнению с верхней границей нормы – повторный контроль активности АлАТ каждые 1–3 мес</p> <p>При повышении уровня активности АлАТ более чем в 2 раза по сравнению с верхней границей нормы в течение 3–6 мес, наличии HBeAg в крови и содержании HBV ДНК в сыворотке крови $>10^3$ копий/мл – рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени и назначении лечения</p> <p>Проведение скрининга на ГЦК в группах риска</p> <p><i>Пациенты в фазе «носительства HBsAg»</i></p> <p>Определение уровня активности АлАТ каждые 6–12 мес</p> <p>При повышении активности АлАТ более чем в 1–2 раза по сравнению с верхней границей нормы – определить концентрацию HBV ДНК в сыворотке крови и исключить другие причины заболевания печени</p> <p>Проведение скрининга на ГЦК в группах риска</p>

Таблица 5. Сравнительная характеристика методов количественного определения HBV ДНК [25]

Название метода (производитель)	Объем образца, мкл	Чувствительность ¹		Линейность, копий/мл	Определяемые генотипы	Коэффициент вариации, %
		пг/мл	копий/мл			
Branched DNA (Bayer)	10	2,1	7×10^5	$7 \times 10^5 - 5 \times 10^9$	A, B, C, D, E, F	6–15
	30	0,5	$1,4 \times 10^5$	$2 \times 10^5 - 1 \times 10^9$	A, B, C, D	10–15
Hybrid capture (Digene)	1	0,02	5×10^3	$5 \times 10^3 - 3 \times 10^6$		
Liquid hybridization (Abbott)	100	1,6	$4,5 \times 10^5$ [8×10^6] ²	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^{10}$	Генотип D определяется лучше, чем генотип A	12–22
PCR-Amplicor (Roche)	50	0,001	4×10^2	$4 \times 10^2 - 1 \times 10^7$ Cobas: $- 10^5$ Taqman: $- 10^{10}$	(A), B, C, D, E	14–44
Molecular Beacons	10–50	–	<50	$50 - 1 \times 10^9$	A–F	5–10

¹ 1 пг HBV ДНК = 283 000 копиям ($\approx 3 \times 10^5$ вирусных геномов).

² Скорректированный порог выявления.

здоровья США по проблемам гепатита В [1]. Тем не менее до сих пор существует ряд проблем, связанных с использованием этого критерия.

Во-первых, существующие методы количественного определения HBV ДНК недостаточно стандартизированы (табл. 5) [94–96].

Во-вторых, для некоторых пациентов с хроническим гепатитом В характерны колебания уровня HBV ДНК в сыворотке крови, который иногда снижается до менее 10^5 копий/мл.

В-третьих, пороговый уровень HBV ДНК в сыворотке крови, который служит показателем прогрессирования патологического процесса в печени, до настоящего времени неизвестен.

Количественные амплификационные методы позволяют обнаруживать содержание HBV ДНК, составляющее менее 10^2 копий/мл, однако результаты, полученные с использованием этих методов, должны интерпретироваться с большой осторожностью в связи с отсутствием четких представлений о клинической значимости обнаружения в крови низких уровней ДНК ви-

руса. С учетом современных знаний и критериев течения хронического гепатита В подходящими для первичного обследования пациентов с хронической HBV-инфекцией можно считать количественные неамплификационные методы, имеющие порог чувствительности, составляющий от 10^5 до 10^6 копий ДНК вируса в 1 мл.

Биопсия проводится для оценки степени поражения печени, а также исключения других возможных причин патологического процесса. Международная группа экспертов предложила включать в гистологический диагноз хронического гепатита следующие разделы: этиологию заболевания, степень активности некротического и воспалительного процессов в печени и степень выраженности и распространенности фиброза [97]. Было разработано несколько систем количественной оценки, которые позволяют статистически сравнивать активность воспалительно-некротического процесса в печени и степень выраженности фиброза [98–100].

Результаты гистологического исследования могут также помочь в определении прогноза за-

болевания [101]. Однако необходимо знать, что гистологическая картина печени может значительно улучшаться при стойком ответе на противовирусную терапию, а также при спонтанной сероконверсии HBeAg. С другой стороны, гистологическая картина печени может быстро ухудшаться у пациентов с рецидивирующим течением болезни или реактивацией гепатита. Биоптаты печени могут быть использованы для иммуногистохимического исследования с целью обнаружения HBsAg и HBeAg в тканях печени.

Наблюдение пациентов, не нуждающихся в противовирусной терапии

HBsAg-позитивные пациенты с высоким содержанием HBV ДНК и нормальной активностью АлАТ в сыворотке крови. Эти пациенты должны проходить обследование 1 раз в 3–6 мес (табл. 4). В целом биопсия печени не является необходимой процедурой, если пациенту не предполагается назначение противовирусной терапии. Более частое обследование следует проводить в том случае, если отмечает-

ся повышение активности АлАТ в сыворотке крови.

Имеются сообщения о том, что перед спонтанной элиминацией НВеАг из крови у 40% пациентов может развиваться обострение болезни [31, 33, 37, 47]. У пациентов, которые остаются НВеАг-позитивными и сохраняют уровень HBV ДНК в сыворотке крови более 10^5 копий/мл после периода повышенной активности АлАТ длительно от 3 до 6 мес, следует рассмотреть вопрос о биопсии печени и назначении противовирусной терапии.

Рекомендации по наблюдению пациентов с хронической HBV-инфекцией:

1) НВеАг-позитивные пациенты с повышенным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови могут наблюдаться в течение 3–6 мес перед назначением противовирусной терапии в связи с возможностью возникновения у них спонтанной сероконверсии НВеАг \rightarrow anti-НВе (III);

2) пациенты, соответствующие критериям хронического гепатита В (содержание HBV ДНК в сыворотке крови более 10^5 копий/мл и постоянно или периодически повышенная активность печеночных аминотрансфераз), в дальнейшем должны наблюдаться в зависимости от результатов биопсии печени (III);

3) пациенты, являющиеся носителями HBsAg, должны находиться под наблюдением с периодическим определением у них биохимических показателей активности процесса в печени в связи с тем, что заболевание может перейти в активную фазу даже после многих лет неактивного состояния (III).

Консультирование пациентов и профилактика гепатита В

Пациенты с хронической HBV-инфекцией должны быть

проконсультированы по вопросам изменения их образа жизни и предотвращения передачи вируса другим лицам. В настоящее время не существует специфических диетических мероприятий, которые бы обладали каким-либо эффектом на прогрессирование хронического гепатита В. Тем не менее со злоупотреблением алкоголем (употребление более 40 г/сут в пересчете на чистый спирт) связаны повышение активности АлАТ в сыворотке крови [102, 103] и развитие цирроза печени [104]. Более того, выявлено, что развитие цирроза печени и ГЦК у лиц с хроническим гепатитом В, злоупотребляющих алкоголем, наблюдается в более молодом возрасте [105, 106].

HBV-инфицированные должны быть проконсультированы в отношении риска передачи вируса другим лицам. Рекомендации должны касаться соблюдения мер предосторожности для предотвращения передачи вируса во время половых контактов, в перинатальный период, а также случайной его передачи путем контаминации предметов окружающей среды при попадании на них крови.

Лица, проживающие в тесном контакте с носителями HBV-инфекции, составляют группу повышенного риска развития HBV-инфекции, в связи с чем они должны быть вакцинированы против гепатита В, но только при наличии у них отрицательных результатов исследования на серологические маркеры HBV-инфекции [5]. Также следует проводить скрининг с определением в крови HBsAg и anti-HBs. Положительные результаты исследования на наличие антител к НВеАг не позволяют провести дифференциальный диагноз между перенесенной и хронической инфекциями. Более того, ложноположительные результаты не являются редкостью у па-

циентов с наличием в крови антител к НВеАг [107, 108].

Продемонстрировано также, что вакцинация половых партнеров является эффективной мерой профилактики передачи HBV-инфекции половым путем [5]. Постоянные половые партнеры должны быть обследованы. При отрицательных результатах исследования на серологические маркеры HBV-инфекции их следует вакцинировать против гепатита В.

Случайные или постоянные половые партнеры, которые не прошли комплексное обследование или не завершили полный курс иммунизации, должны использовать барьерные методы контрацепции. НВеАг-позитивные беременные женщины должны быть предупреждены о том, что их детям сразу после рождения могут быть введены специфический иммуноглобулин и вакцина против гепатита В [5]. Более того, их следует проинформировать о том, что их дети должны пройти полный курс вакцинации в соответствии с действующими схемами иммунизации против гепатита В и в возрасте 1 года пройти дополнительное обследование на наличие серологических маркеров HBV-инфекции.

Было продемонстрировано, что эффективность профилактики в перинатальный период HBV-инфекции, проводимой сразу после рождения путем одновременного введения специфического иммуноглобулина и вакцины против гепатита В, составляет 95% [16, 109]. Лицам с HBV-инфекцией необходимо советовать закрывать открытые раны и царапины, удалять с использованием дезинфицирующих средств капли крови, попавшие на предметы окружающей среды, поскольку на них вирус может сохраняться по меньшей мере в течение недели [20].

Следует отметить, что пациенты с HBV-инфекцией, имеющие высокий уровень HBV ДНК в сыворотке крови, являются более контагиозными, что доказывается передачей вируса от таких матерей детям [110]. В ряде исследований показана также возможность передачи инфекции в редких случаях при выполнении медицинскими работниками своих профессиональных обязанностей [111, 112].

Для пациентов с HBV-инфекцией, являющихся медицинскими работниками, CDC дает следующие рекомендации: HBeAg-позитивные лица не имеют права выполнять инвазивные процедуры без предварительной консультации и решения экспертной комиссии, согласно которому они допускаются к проведению этих процедур только при наличии определенных условий [113]. Эти условия включают предварительное информирование пациентов до выполнения процедуры о наличии у врача HBV-инфекции.

Рекомендации по предотвращению передачи вируса гепатита В от пациентов с хронической HBV-инфекцией:

1) пациенты с HBV-инфекцией должны быть проконсультированы по вопросам предотвращения передачи вируса другим лицам (I);

2) лица, находившиеся в половом и тесном бытовом контактах с носителями HBV-инфекции, должны быть обследованы на наличие серологических маркеров HBV-инфекции (HBsAg и anti-HBs) и при отрицательных результатах исследования пройти полный курс вакцинации против гепатита В (II);

3) новорожденным, родившимся от матерей с HBV-инфекцией, сразу после рождения следует ввести специфический иммуноглобулин и вакцину против

гепатита В, а в последующем завершить полный курс вакцинации согласно схемам иммунизации (I);

4) даже после вакцинации лица, составляющие группу риска по HBV-инфекции, к которым относятся дети грудного возраста, родившиеся от HBsAg-позитивных матерей, медицинские работники и пациенты, находящиеся на гемодиализе, должны пройти обследование для определения титра anti-HBs в сыворотке крови; дети, родившиеся от матерей-носителей HBV-инфекции, должны обследоваться через 3–9 мес, а медицинские работники – через 1–6 мес после вакцинации; пациенты, находящиеся на гемодиализе, должны обследоваться ежегодно (I);

5) для лиц с HBV-инфекцией рекомендуется полный отказ или ограничение употребления алкоголя (III).

Периодический скрининг на ГЦК

В длительных проспективных клинических исследованиях убедительно продемонстрировано, что пациенты с HBV-инфекцией имеют повышенный риск развития ГЦК [6, 7, 39]. ГЦК может иметь длительный период бессимптомного течения продолжительностью до 2 и более лет [114].

У большинства пациентов рак печени начинается как появление одиночной опухоли, нередко инкапсулированной. В клинических исследованиях установлено, что период, за который ГЦК увеличивается в 2 раза, колеблется от 2 до 12 мес, составляя в среднем 4 мес [115–117].

Имеются убедительные доказательства того, что ГЦК может быть выявлена еще на ранних стадиях, если пациентов с HBV- или HCV-инфекцией подвергать периодическому скринингу. Были опубликованы результаты

4 популяционных скрининговых исследований пациентов с HBV-инфекцией, в которых использовался тест на α -фетопротеин. В 3 из них проводилось периодическое обследование пациентов, а в одном – однократный массовый скрининг [118–121]. Используя тест на α -фетопротеин в качестве скрининг-метода, у 37–59% пациентов с ГЦК были обнаружены гепатоцеллюлярные карциномы малых размеров, определяемые как опухоли диаметром менее 5 см.

В клинических исследованиях эффективности периодического скрининга пациентов с HBV-инфекцией, в которых использовались тест на α -фетопротеин и ультразвуковое исследование, опухоли малых размеров были выявлены соответственно у 57 и 83% пациентов с ГЦК [122, 123]. Эффективные лечебные мероприятия при ГЦК малых размеров приводили к успешному радикальному удалению опухоли и увеличению периода безопухолевой выживаемости [124–129].

В двух популяционных исследованиях сообщается о том, что период выживаемости у пациентов, у которых при скрининге с использованием теста на α -фетопротеин были обнаружены ГЦК малых размеров, в последующем удаленные хирургическим путем, составил от 5 до 10 лет [118, 119]. Продолжительность периода безопухолевой выживаемости более 5 лет свидетельствует в пользу того, что решающим фактором скорее всего является время от момента выявления опухоли до начала лечения.

В одном из этих исследований использовался в качестве скрининг-метода только тест на α -фетопротеин и сравнивалась выживаемость пациентов, прошедших скрининг, и контрольных пациентов из той же популяции. Значительное увеличение 5- и 10-лет-

ней выживаемости наблюдалось в первой группе пациентов [119].

В других неконтролируемых клинических исследованиях сообщается о длительной выживаемости пациентов, которые после выявления у них ГЦК малых размеров подверглись хирургическому лечению или лечились чрескожными инъекциями этанола непосредственно в карциному [126]. Однако, несмотря на убедительное доказательство связи длительного периода выживаемости некоторых пациентов с ГЦК малых размеров и своевременным хирургическим лечением, до настоящего времени не проводилось рандомизированных клинических исследований, в которых сравнивались бы пациенты с HBV-инфекцией, проходившие и не проходившие скрининг на ГЦК.

Более того, необходимо отметить, что высокая частота ложноположительных результатов теста на α -фетопроtein у пациентов с HBV-инфекцией и хроническим гепатитом или циррозом печени приводит к увеличению расходов на такие дорогостоящие процедуры, как радиографическое обследование или биопсия печени.

Основываясь на знании факторов риска развития ГЦК, описанных выше, можно легко определить группы пациентов с HBV-инфекцией, которым в первую очередь следует проводить скрининг на ГЦК (например, мужчины старше 45 лет, пациенты с HBV-инфекцией и циррозом печени, с наличием в семейном анамнезе случаев ГЦК). Однако, несмотря на это, у пациентов с HBV-инфекцией любого возраста, в том числе и у пациентов с бессимптомным течением, нормальной активностью АЛТ в сыворотке крови и отсутствием или минимальной активностью патологического процесса в печени, может развиваться ГЦК.

В исследовании, проведенном на Аляске, была продемонстрирована более высокая выживаемость более молодых пациентов с диагностированной ГЦК, у большинства из которых не было цирроза печени [119]. Тем не менее необходимо помнить, что в большинстве случаев ГЦК у пациентов с хронической HBV-инфекцией развивается через несколько десятилетий от момента инфицирования. В связи с этим оптимальный возраст, с которого следует начинать проведение скрининга на ГЦК, остается неизвестным.

Проведено несколько проспективных скрининговых исследований пациентов с HBV-инфекцией, в которых использовались лабораторные и радиографические методы исследования [119–123, 130–134]. Из всех лабораторных методов наиболее тщательно изучено определение α -фетопроteина. Чувствительность метода зависит от используемых пограничных значений. Нормальный уровень в крови α -фетопроteина составляет менее 8–20 нг/мл. Если в качестве пограничного значения используется концентрация 20 нг/мл, то чувствительность данного метода для выявления ГЦК малых размеров колеблется в пределах от 50 до 75%.

Специфичность теста на α -фетопроtein составляет более 90% в исследованиях, включающих не только пациентов с хроническим гепатитом или циррозом, но также и носителей HBsAg. Прогностическое значение отрицательного результата данного теста составляет 99% [119, 122]. Тем не менее достоверность получаемых положительных результатов достаточно низкая и колеблется в пределах 9–30%.

Ступенчатое повышение содержания в крови α -фетопроteина – убедительное подтвержде-

ние наличия ГЦК, и пациенты с постоянной умеренно повышенной концентрацией его в крови (<200 нг/мл) имеют более высокий риск развития ГЦК, чем пациенты, у которых выявлялось лишь однократное повышение его уровня [119].

В других исследованиях в качестве маркеров для выявления ГЦК малых размеров использовались дес- γ -карбокситромбин (ДСР), фракция II сывороточной γ -глутамилтранспептидазы и α -L-фукозидаза [135–140]. Только в отношении ДСР были проведены проспективные исследования. В нескольких исследованиях было показано, что, несмотря на увеличение концентрации ДСР при ГЦК малых размеров, метод, основанный на определении ДСР в крови, обладает меньшей чувствительностью, чем тест на α -фетопроtein [135–137]. Однако в двух последних исследованиях с использованием более чувствительных методов установлено, что при сочетании применения тестов по определению концентрации в сыворотке крови ДСР и α -фетопроteина достигается более высокая чувствительность, чем применение каждого из этих методов в отдельности [141, 142]. В настоящее время методы, основанные на определении содержания ДСР в крови, недоступны для применения в США и пока не могут рассматриваться в качестве скрининга пациентов.

Единственный метод лучевой диагностики, который изучен в проспективных клинических исследованиях как средство визуализации для контроля за распространением ГЦК – *ультразвуковое исследование (УЗИ)*. Согласно данным, полученным в клинических исследованиях, чувствительность метода УЗИ при выявлении ГЦК малых размеров колеблется от 68 до 87%, а

частота ложноположительных результатов – от 28 до 82% [122, 123, 133, 134, 143].

Самая распространенная причина ложноположительных результатов – узлы, обнаруживаемые в печени у пациентов с циррозом. УЗИ является значительно более дорогостоящим методом по сравнению с тестом на α -фетопротеин. В большинстве развитых стран для его выполнения требуется наличие врача лучевой диагностики. Чувствительность метода УЗИ при выявлении ГЦК малых размеров варьирует в зависимости от опыта проводящего его специалиста.

Более того, крупное телосложение пациента затрудняет визуализацию печени. Определенные трудности представляет также выявление опухолей малых размеров в цирротически измененной печени. Однако метод УЗИ обладает более высокой чувствительностью при выявлении ГЦК малых размеров, чем тест на α -фетопротеин. Оказалось, что комбинация теста на α -фетопротеин и УЗИ по чувствительности превосходит каждый из этих методов в отдельности. Тем не менее пока проведено всего одно рандомизированное клиническое исследование, изучавшее чувствительность комбинированного использования обоих методов, а количество случаев и длительность наблюдения (36 мес) оказались недостаточными, чтобы достоверно установить какие-либо различия в чувствительности данных методов при использовании их в ранней диагностике ГЦК [122].

Отсутствуют также рандомизированные исследования, в которых бы изучалась оптимальная периодичность обследования для выявления ГЦК у пациентов с HBV-инфекцией (или лиц с другими заболеваниями печени, которые составляют группу риска

по ГЦК). Тем не менее результаты 6 клинических исследований, в которых использовались тест на α -фетопротеин и УЗИ, включавших от 140 до 1069 пациентов с циррозом печени, развившимся как осложнение HBV- или HCV-инфекции, показали, что проведение скрининга каждые 6 мес имеет преимущество перед ежегодным обследованием с целью выявления ГЦК малых размеров [122, 123, 130–133]. Оказалось, что нет никаких различий между результатами скрининга, проводимого каждые 3 или 6 мес.

Проведено несколько фармакоэкономических исследований системы периодического скрининга пациентов с HBV-инфекцией на ГЦК. В одном из клинических исследований в Гонконге (имеет государственную систему здравоохранения) для скрининга всех пациентов использовались тест на определение α -фетопротеина и УЗИ, а также компьютерная томография у пациентов с концентрацией α -фетопротеина более 20 нг/мл. Вычислено, что стоимость одной выявленной опухоли составляет 1667 долларов США [144]. В этом исследовании, использовавшем тест на α -фетопротеин, обнаруженные ГЦК в 61% случаев оказались операбельными.

В других исследованиях стоимость одной выявленной опухоли варьировала в пределах от 11 800 до 25 000 долларов США [121, 145]. В клинических исследованиях на Аляске [146] стоимость качества года жизни, сохраненного благодаря лечению, колебалась от 10 000 до 15 000 долларов США и была значительно ниже широко распространенного лимита за качество сохраненного года жизни, составляющего 50 000 долларов США. Однако проспективные исследования по изучению показателя *цена/эффективность* и

влиянию системы контроля за распространенностью ГЦК на выживаемость пациентов должны проводиться до того, как будут разработаны конкретные рекомендации по контролю за ГЦК.

В заключение приводятся имеющиеся данные, подтверждающие необходимость контроля за распространенностью ГЦК:

1) периодическое обследование пациентов позволяет выявить ГЦК на операбельной стадии более чем в 50% случаев;

2) у некоторых пациентов с HBV-инфекцией после резекции ГЦК малых размеров наблюдается длительный период выживаемости;

3) проведение скрининга с использованием только теста на α -фетопротеин позволяет выявить ГЦК на ранних стадиях у некоторых пациентов с HBV-инфекцией из эндемичных районов, где высок риск перинатального инфицирования или инфицирования в раннем детстве; в одном популяционном исследовании, в котором участвовали преимущественно пациенты с HBV-инфекцией без цирроза печени, 10-летняя безопухолеватая выживаемость отмечалась в 27% случаев;

4) установлено, что УЗИ, несмотря на более высокую стоимость, является более чувствительным методом выявления ГЦК, чем тест на α -фетопротеин; комбинированное использование обоих методов является оптимальным диагностическим подходом;

5) несмотря на то что тест на α -фетопротеин обладает меньшей чувствительностью по сравнению с УЗИ, он имеет высокую специфичность, составляющую 99% у пациентов с низким риском развития ГЦК, что предполагает возможность использования этого метода в качестве первич-

ного скрининг-теста у пациентов без цирроза печени из группы низкого риска [120, 122, 143];

6) кроме пациентов группы высокого риска, всем пациентам с HBV-инфекцией целесообразно проходить периодическое обследование с проведением теста на α -фетопротеин. Возраст, в котором следует начинать обследование пациентов с HBV-инфекцией из группы низкого риска и кратность обследования, остаются неизвестными; согласно имеющимся доказательным данным, пациентам с низким риском развития ГЦК достаточно только теста на α -фетопротеин, тогда как пациенты группы высокого риска должны проходить тест на α -фетопротеин и УЗИ;

7) возраст, в котором следует начинать скрининг пациентов на ГЦК, остается неизвестным;

8) оптимальная кратность обследования на ГЦК составляет 1 раз в 6 мес. Точных данных о степени риска развития ГЦК у таких групп пациентов из эндемичных регионов, как инфицированные в зрелом возрасте белокожие пациенты с HBV-инфекцией, проживающие в развитых странах, не получено, в связи с чем роль скрининга на ГЦК в

этих группах населения остается неизвестной.

Рекомендации по контролю за распространенностью ГЦК

Пациенты с HBV-инфекцией из группы высокого риска развития ГЦК, к которым относятся мужчины старше 45 лет, больные циррозом печени и лица с наличием в семейном анамнезе случаев ГЦК, должны проходить периодическое обследование, включающее тест на α -фетопротеин и УЗИ (III).

Дать точные рекомендации по проведению скрининга на ГЦК у пациентов с хронической HBV-инфекцией и низкой степенью риска не представляется возможным в связи с недостаточным количеством доказательных данных. В то же время следует рассмотреть возможность периодического обследования на ГЦК путем проведения теста на α -фетопротеин у пациентов с HBV-инфекцией из эндемичных регионов (III).

Лечение хронического гепатита В

Цель лечения хронического гепатита В – достижение стойкого подавления репликации виру-

са и ремиссии хронического гепатита В. Критериями, используемыми для оценки эффективности лечения, являются:

- нормализация активности АлАТ в сыворотке крови;
- отсутствие HBV ДНК в сыворотке крови, определяемой неамплификационными методами;
- исчезновение HBeAg;
- улучшение гистологической картины печени.

Несоответствие различных критериев ответа на лечение, отсутствие стандартизированных методов количественного определения HBV ДНК и неоднородность пациентов в различных группах не позволяют адекватно сравнить эффективность терапии при клинических исследованиях. На последнем симпозиуме Ассоциации национальных институтов здоровья (США) «Ведение пациентов с гепатитом В 2000» было предложено разделить ответ на противовирусное лечение на такие категории, как *биохимический ответ* (БО), *вирусологический ответ* (ВО) и *гистологический ответ* (ГО), а также на категории в зависимости от сроков оценки – *ответ на фоне терапии* и *стойкий ответ после завершения терапии* (табл. 6) [1].

Таблица 6. Типы ответов на противовирусную терапию при хроническом гепатите В

Тип ответа	
<i>Биохимический</i> (БО)	Снижение активности АлАТ в сыворотке крови до нормальных значений
<i>Вирусологический</i> (ВО)	Снижение концентрации HBV ДНК в сыворотке крови до уровня, не определяемого неамплификационными методами ($<10^3$ копий/мл), и исчезновение из крови HBeAg у ранее HBeAg-положительных пациентов
<i>Гистологический</i> (ГО)	Снижение гистологического индекса активности как минимум на 2 балла по сравнению с индексом до начала лечения
<i>Полный</i> (ПО)	Соответствие критериям биохимического и вирусологического ответов и отсутствие в крови HBsAg
По срокам оценки	
<i>На фоне терапии</i>	Во время лечения
<i>Во время терапии</i>	Сохраняется на протяжении всего курса лечения
<i>По окончании терапии</i>	В конце определенного курса лечения
<i>Стойкий</i>	После завершения терапии
<i>Стойкий</i> (СО-6)	Через 6 мес после прекращения терапии
<i>Стойкий</i> (СО-12)	Через 12 мес после прекращения терапии

Таблица 7. Частота ответа на противовирусную терапию интерфероном и ламивудином у пациентов с HBeAg-положительным хроническим гепатитом В, %

Параметр	Интерферон		Ламивудин	
	12–24 нед	Контрольная группа	52 нед	Контрольная группа
Исчезновение из крови HBV ДНК	37	17		
Исчезновение из крови HBeAg	33	12	17–32	6–11
Сероконверсия HBeAg	Разница составляет 18%		16–18	4–6
Исчезновение из крови HBsAg	7,8	1,8	<1	0
Нормализация активности АлАТ	Разница составляет 23%		41–72	7–24
Улучшение гистологической картины печени			49–56	23–25

В настоящее время *Администрацией по контролю за лекарствами и пищевыми продуктами США (FDA)* для лечения хронического гепатита В одобрено 2 препарата.

Интерферон

Интерфероны (ИФН) обладают противовирусным, противоопухолевым и иммуномодулирующим действием. Установлено, что *α-интерферон (ИФН-α)* эффективно подавляет репликацию HBV и приводит к ремиссии болезни. Тем не менее сфера его применения ограничивается относительно небольшим количеством пациентов, соответствующим критериям отбора для терапии данным препаратом.

Эффективность ИФН-α у различных категорий пациентов

1. Пациенты с HBeAg-положительным хроническим гепатитом В.

Постоянно или периодически повышенная активность АлАТ в сыворотке крови. Данные показатели характерны для пациентов с «типичным» течением хронического гепатита В. Метаанализ 15 рандомизированных контролируемых клинических исследований, в которые были включены 837 взрослых пациентов, показал, что у пациентов, получавших лечение *α-интерфероном*, вирусологический ответ наблюдался

значительно чаще, чем у больных, не получавших лечение (табл. 7) [147]. Наиболее важными предикторами ответа на терапию ИФН-α являются высокая активность АлАТ до начала лечения и низкое содержание HBV ДНК в сыворотке крови.

Нормальная активность АлАТ в сыворотке крови. Данные показатели наблюдаются, как правило, у детей и лиц молодого возраста с HBV-инфекцией, приобретенной в перинатальный период. Вирусологический ответ на терапию регистрируется менее чем у 10% этих пациентов [150–153].

Пациенты из стран Азии. В клинических исследованиях, проведенных в странах Азии, в которые были включены пациенты с HBeAg-положительным хроническим гепатитом В, было обнаружено, что лица с нормальной активностью АлАТ в сыворотке крови имеют неудовлетворительный ответ на лечение [153], тогда как у пациентов с повышенной активностью АлАТ регистрируется ответ на терапию, сходный с таковым у представителей белой расы [150].

Дети. Эффективность терапии у детей сходна с таковой у взрослых. В клинических исследованиях установлено, что у детей с повышенной активностью АлАТ в сыворотке крови элиминация HBeAg у получавших терапию ИФН-α наблюдалась в 30% случаев по сравнению с 10%

у пациентов контрольной группы [154–156]. В то же время элиминация HBeAg отмечалась менее чем у 10% детей, получавших терапию ИФН-α и имевших нормальный уровень активности АлАТ в сыворотке крови [151, 152]. Метаанализ исследований, включавший 240 детей, показал, что терапия ИФН-α увеличивает частоту элиминации HBV ДНК (отношение шансов – 2,2), частоту элиминации HBeAg (отношение шансов – 2,2) и нормализацию активности АлАТ (отношение шансов – 2,3) по сравнению с контрольными пациентами, не получавшими лечение [157]. Нежелательные лекарственные реакции были сходными с таковыми у взрослых пациентов.

2. Пациенты с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В.

Исчезновение HBeAg или его сероконверсия у этой группы пациентов не может служить критерием оценки ответа на терапию. В связи с этим ответом на терапию считаются исчезновение HBV ДНК в сыворотке крови при исследовании неамплификационными методами и нормализация активности АлАТ. Анализ результатов клинических исследований эффективности терапии ИФН-α у HBeAg-негативных пациентов с хроническим гепатитом В затрудняется неоднородностью не только клинической картины болезни, но также и ге-

терогенностью вируса и дизайна самих исследований.

Согласно результатам четырех рандомизированных контролируемых клинических исследований, включавших 86 пациентов, получавших терапию ИФН- α , и 84 контрольных пациентов, ответ по окончании терапии наблюдался у 38–90% больных, получавших лечение, по сравнению с 0–37% в контрольной группе. Частота стойкого ответа, регистрируемого через 12 мес после завершения терапии, составляла 10–47% (в среднем – 24%) у пациентов, получивших лечение, по сравнению с 0% у пациентов контрольной группы [158–161]. Ни факторы до начала терапии, ни доза ИФН- α не имели прогностического значения в определении ответа на лечение. Однако более продолжительные курсы лечения (12 мес vs 6 мес) опосредуют в 2 раза более высокую частоту достижения стойкого ответа [1, 162, 163].

Основная проблема при лечении ИФН- α пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В – рецидивирование болезни. Приблизительно у 50% пациентов с ответом на терапию после ее завершения регистрируются рецидивы заболевания [164]. Рецидивирование хронического гепатита В может наблюдаться еще в течение 5 лет после завершения терапии [164]. Тем не менее стойкий ответ может быть достигнут в 15–25% случаев, а длительные наблюдения показали, что у 15–30% пациентов со стойким ответом на терапию отмечается элиминация HBeAg из организма [1, 164].

3. Пациенты с отсутствием ответа на терапию ИФН- α .

Во многих клинических исследованиях продемонстрирована низкая эффективность повторных курсов ИФН- α у пациентов с отсутствием эффекта на

ранее проводимую терапию ИФН- α . Тем не менее в недавно проведенном исследовании показано, что частота элиминации HBeAg у пациентов, получавших повторный курс лечения ИФН- α , составляет 33% по сравнению с 10% у пациентов, не получавших лечение [165]. Однако в описанное исследование были включены больные, предварительно получавшие субоптимальные дозы ИФН- α , в связи с чем существует опасность переоценки преимуществ назначения повторных курсов терапии ИФН- α .

4. HBeAg-позитивные пациенты с циррозом печени.

Приблизительно у 20–40% пациентов с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В на фоне терапии ИФН- α регистрируется внезапное резкое повышение активности АлАТ в сыворотке крови (цитолитический криз). Предполагается, что повышение активности АлАТ в процессе лечения является отражением индуцированного интерфероном иммунологически опосредованного разрушения инфицированных гепатоцитов и представляет собой предиктор ответа на терапию. У больных циррозом печени цитолитический криз может сопровождаться развитием печеночной недостаточности.

В двух клинических исследованиях по оценке эффективности терапии ИФН- α у пациентов с циррозом печени, относящихся по степени тяжести к классам В и С (гистологический индекс Child – Pugh), не было выявлено никаких преимуществ проводимой терапии. Более того, у пациентов развивались серьезные нежелательные лекарственные реакции, обусловленные присоединением бактериальной инфекции и обострением патологического процесса в печени, которые наблюдались даже при использовании низких доз ИФН- α (3 млн

МЕ/сут через день) [166, 167]. Тем не менее ИФН- α является безопасным препаратом и может эффективно использоваться при компенсированном циррозе печени. Так, до 60% пациентов с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В, включенных в исследования, имели гистологически подтвержденный цирроз печени. При этом печеночная недостаточность развилась менее чем у 1% пациентов, получавших стандартные дозы ИФН- α [149, 150].

Режим дозирования

ИФН- α назначается в виде подкожных инъекций. Рекомендуемая доза для взрослых – 5 млн МЕ ежедневно или 10 млн МЕ 3 раза в неделю и 6 млн МЕ/м² 3 раза в неделю для детей (максимальная разовая доза – 10 млн МЕ). Рекомендуемая продолжительность терапии для пациентов с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В составляет 16–24 нед.

В настоящее время имеется мало данных по изучению эффективности более длительных курсов лечения пациентов с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В [168–170]. В одном клиническом исследовании было выявлено, что ответы на терапию ИФН- α у пациентов после 12- и 24-недельных курсов лечения были одинаковыми [169]. В другом клиническом исследовании у больных с сохраняющимся HBeAg в крови после завершения 16-недельного курса терапии ИФН- α , рандомизированных для продолжения лечения общей продолжительностью 32 нед, частота элиминации HBeAg была значительно выше, чем у пациентов, прекративших лечение [170].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что длительность терапии пациентов с

НВeAg-негативным хроническим гепатитом В должна составлять не менее 12 мес, однако остается неясным, будут ли более длительные курсы лечения увеличивать частоту достижения стойких ответов.

Предварительная терапия глюкокортикоидами («преднизолоновый прайминг»)

Обоснованием для назначения до начала противовирусной терапии курса глюкокортикоидов с постепенным снижением дозы («преднизолоновый прайминг») является то, что восстановление функции иммунной системы, развивающееся после отмены кортикостероидов, может вызывать дополнительный эффект, особенно если по времени оно совпадает с началом терапии ИФН- α .

Метаанализ 7 рандомизированных клинических исследований эффективности монотерапии ИФН- α и комбинации терапии ИФН- α и «преднизолонового прайминга» у 376 пациентов с НВeAg-положительным хроническим гепатитом В не подтвердил дополнительных преимуществ предварительного назначения глюкокортикоидов [171]. Однако проведенное позже исследование, в которое были включены 200 пациентов, показало, что у больных, получивших «преднизолоновый прайминг», частота развития сероконверсии НВeAg оказалась значительно выше [172].

Несмотря на это необходимо помнить, что «преднизолоновый прайминг» вызывает дополнительный эффект при лечении лишь небольшого числа пациентов, в то время как у пациентов с сопутствующим циррозом печени существует риск развития тяжелых обострений. В связи с этим назначение «преднизолонового прайминга» не рекомендуется в

качестве стартовой терапии хронического гепатита В.

Нежелательные лекарственные реакции

Для терапии ИФН- α характерно большое количество нежелательных лекарственных реакций. Наиболее распространенными из них являются гриппоподобный синдром, общая слабость, лейкопения и депрессия. Тогда как у большинства пациентов гриппоподобный синдром исчезает в течение первой недели после начала лечения, такие симптомы, как слабость, анорексия, выпадение волос и эмоциональная лабильность, включая тревогу, раздражительность и депрессию, могут сохраняться на протяжении всего курса лечения, а также в течение нескольких недель после его завершения.

Терапия ИФН- α может также способствовать развитию обострений сопутствующих аутоиммунных заболеваний. Анализ 9 рандомизированных контролируемых клинических исследований ($n=552$) показал, что у 35% пациентов, получивших терапию ИФН- α , пришлось уменьшить дозу препарата, а в 5% случаев досрочно прекратить лечение [173].

Длительность ответа и отдаленные исходы у пациентов, получивших терапию ИФН- α

Согласно результатам клинических исследований, длительное (в течение 4–8-летнего периода наблюдения) отсутствие НВeAg в крови после лечения ИФН- α зарегистрировано у 80–90% пациентов [80, 81, 174–176]. Тем не менее содержание НВV ДНК в сыворотке крови у многих из этих пациентов оставалось на уровне, определяемом методом ПЦР. В 5 клинических исследованиях, проведенных в Европе и США, была выяв-

лена замедленная элиминация НВsAg, наблюдавшаяся у 12–65% пациентов, НВeAg-негативных уже на протяжении 5 лет. В то же время в 2 других исследованиях, проведенных в Китае, не зарегистрировано задержки элиминации НВsAg [78–81, 174, 175, 177].

Достижение стойкого вирусологического ответа на терапию обычно сопровождается снижением активности воспалительного и некротического процессов в печени. Однако достаточно часто при этом сохраняются остаточные изменения в печени [178]. Согласно данным нескольких клинических исследований, общая 5-летняя частота элиминации НВeAg оказалась сходной у пациентов, получивших лечение, и у больных контрольной группы. Однако у пациентов, получивших терапию ИФН- α , часто регистрировались нормальная активность АлАТ в сыворотке крови и элиминация НВsAg [79, 179]. Эти результаты позволяют говорить о том, что основная роль ИФН- α заключается в сокращении продолжительности периода активности процесса в печени путем ускорения освобождения организма от вируса.

Количество данных о длительности сохранения эффекта от терапии ИФН- α весьма ограничено в связи с тем, что хронический гепатит В является «коварной» болезнью, и такие неблагоприятные исходы, как трансформация в цирроз, развитие печеночной недостаточности или ГЦК, могут клинически не проявляться в течение нескольких десятков лет. Более того, пациентам, первоначально рандомизированным в контрольную группу, после завершения клинического исследования назначается противовирусная терапия.

В настоящее время имеются результаты всего одного клини-

ческого исследования, в котором сравнивались исходы заболевания у пациентов, получавших лечение, и больных контрольной группы. Результаты 8-летнего наблюдения больных мужского пола ($n=101$), включенных в контролируемое клиническое исследование эффективности терапии ИФН- α , проведенное на Тайване, показали, что пациенты, получавшие лечение, имели более низкую частоту развития ГЦК (1,5% против 12%, $p=0,04$) и более высокую выживаемость (98% против 57%, $p=0,02$) [80]. В других клинических исследованиях не было достоверно подтверждено, что терапия ИФН- α снижает частоту развития ГЦК у пациентов стран Европы и Северной Америки, что, вероятно, обусловлено низкой распространенностью ГЦК у лиц, не получавших лечение [79, 81].

В клинических исследованиях, сравнивавших исходы болезни у пациентов, достигших ответа на лечение, и у больных с отсутствием эффекта от терапии, было обнаружено, что HBeAg-негативные пациенты имели более высокие показатели выживаемости в целом и периода выживаемости без развития печеночной недостаточности в частности [78, 80, 81].

Количество данных по отдаленным клиническим исходам болезни у пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В, получавших лечение, в настоящее время ограничено. Согласно результатам клинических исследований, у 20% лиц со стойким ответом на терапию элиминация HBsAg наблюдалась через 5 лет после завершения терапии [1, 164]. Более того, оказалось, что лица со стойким ответом на терапию имели сниженный риск развития ГЦК и летальных исходов от различных заболеваний печени [164].

Ламивудин (эпивир-НВВ, ЗТС)

Ламивудин представляет собой (-) энантиомер 2'-3'-дидеокси-3'-тиацитидина. Встраивание активного трифосфата (ЗТС-ТР) в растущие цепи ДНК приводит к преждевременному завершению репликации и таким образом подавляет синтез HBV ДНК.

Эффективность ламивудина у различных категорий пациентов

1. Пациенты с HBeAg-позитивным хроническим гепатитом В.

Постоянно или периодически повышенная активность АлАТ в сыворотке крови. В 3 клинических исследованиях, включавших 731 пациента, не получавших ранее лечения, которые в течение 1 года получали ламивудин, сероконверсия HBeAg (определялась как отсутствие HBeAg, наличие в крови anti-HBe и отсутствие в сыворотке крови HBV ДНК, определяемое неамплификационными методами) наблюдалась в 16–18% случаев по сравнению с 4–6% в контрольной группе [180–182] (табл. 7).

Улучшение гистологической картины печени, определяемое как снижение индекса активности некротического и воспалительного процессов более чем на 2 балла, отмечалось у 49–56% пациентов, получавших лечение, и у 23–25% больных контрольной группы. Результаты многоцентрового клинического исследования, проведенного в Азии, показали, что частота сероконверсии HBeAg увеличивается параллельно с увеличением длительности терапии с 17% при продолжительности курса лечения, составляющем 1 год, до 27, 33 и 47% при длительности 2, 3 и 4 года соответственно [183–185].

Вопрос о том, является ли увеличение частоты сероконверсии HBeAg результатом увеличения продолжительности терапии ламивудином, остается неясным. Это объясняется тем, что многие пациенты, рандомизированные в группу плацебо, на втором году исследования были переведены на лечение ламивудином.

Установлено, что активность АлАТ в сыворотке крови до начала лечения является наиболее важным предиктором ответа на терапию [186]. Результаты нескольких клинических исследований, в которые были включены 406 пациентов, в течение 1 года получавших ламивудин в дозе 100 мг ежедневно, показали, что сероконверсия HBeAg отмечалась у 2, 9, 21 и 47% пациентов с нормальным уровнем активности АлАТ в сыворотке крови до начала терапии, повышенным в 1–2 раза, 2–5 раз и более чем в 5 раз соответственно [187]. Эти же показатели у 196 пациентов в группе плацебо составили 0, 5, 11 и 14% соответственно.

Нормальный уровень активности АлАТ в сыворотке крови. Сероконверсия HBeAg наблюдалась менее чем у 10% пациентов, имевших до начала терапии повышенный уровень активности АлАТ в сыворотке крови по сравнению с нормой менее чем в 2 раза [186, 187].

Пациенты стран Азии. Характер ответа на терапию ламивудином у пациентов в странах Азии сходен с таковым у представительной белой расы.

Дети. В настоящее время опыт применения ламивудина у детей ограничен. В одно контролируемое клиническое исследование были включены 286 детей в возрасте от 2 до 17 лет с активностью АлАТ в сыворотке крови, превышавшей нормальные значения более чем в 1,3 раза. Все де-

ти были рандомизированы в 2 группы в соотношении 2:1, в одной из которых получали ламивудин в дозе от 3 до 100 мг/кг/сут в течение 52 нед. Другая группа была контрольной, в которой дети получали плацебо. Предварительные результаты этого исследования показали, что у детей, получавших лечение, частота сероконверсии HBeAg была значительно выше и составляла 23% по сравнению с 13% в контрольной группе [187a].

Как и у взрослых, частота сероконверсии HBeAg оказалась выше у тех детей, у которых активность АЛТ в сыворотке крови до начала терапии превышала нормальные значения более чем в 2 раза (34 против 16%). Частота и характер нежелательных лекарственных реакций оказались сходными в обеих группах. Эти данные свидетельствуют о том, что ламивудин представляет собой безопасный и эффективный препарат для лечения детей. Однако возможные преимущества его применения должны быть тщательно взвешены с риском селекции мутантных штаммов вируса, резистентных к препарату. В этом исследовании ламивудинорезистентные штаммы HBV были выделены от 18% детей, получавших препарат.

2. Пациенты с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В.

В клинических исследованиях продемонстрировано, что ламивудин обладает эффективностью у пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В [188–193]. В одном клиническом исследовании вирусологический и биохимический ответы достигнуты у 34 (63%) из 54 пациентов, получавших терапию ламивудином в течение 24 нед, по сравнению с 3 из 53 пациентов (6%) контрольной группы ($p < 0,001$).

Из 54 пациентов, которые получали терапию ламивудином в течение 1 года, концентрация HBV ДНК в сыворотке крови достигла уровня, не определяемого методом Branched DNA, у 65%, и методом ПЦР – у 39% пациентов. При этом улучшение гистологической картины печени наблюдалось в 60% случаев [188]. Другие исследователи сообщают о сходной частоте ответа (70%) у пациентов, получавших лечение в течение 1 года [189, 191, 193]. Тем не менее у подавляющего большинства пациентов (90%) после прекращения терапии возникали рецидивы болезни [194].

3. Пациенты с отсутствием ответа на терапию ИФН-α.

В одном многоцентровом клиническом исследовании 238 пациентов с отсутствием ответа на терапию ИФН-α были рандомизированы в 3 группы, в одной из которых проводилась монотерапия ламивудином в течение 52 нед, в другой пациентов лечили ламивудином в течение 8 нед с переходом на комбинированную терапию ламивудином и ИФН-α в течение последующих 16 нед, в третьей группе пациенты получали плацебо. У пациентов, получавших монотерапию ламивудином, отмечалась самая высокая частота сероконверсии HBeAg, которая составила 18% по сравнению соответственно с 12 и 13% в двух других группах, однако различия оказались статистически незначимыми [195].

Эти данные позволяют предположить, что пациенты с отсутствием эффекта на терапию ИФН-α имели ответ на терапию ламивудином, сходный с таковым у ранее не получавших лечение, а повторные курсы терапии комбинацией ИФН-α и ламивудина не обладают преимуществами по сравнению с дополнительным курсом монотерапии ламивудином.

4. HBsAg-позитивные пациенты с циррозом печени.

Исследования эффективности терапии ламивудином у пациентов с декомпенсированным циррозом печени показали, что препарат обладает хорошей переносимостью и способствует улучшению течения заболевания у многих пациентов [196–199], однако оптимальные сроки начала лечения и категории пациентов, у которых будет достигаться наиболее выраженный эффект, остаются неизвестными.

В одном клиническом исследовании, в которое были включены 35 пациентов (10 пациентов были отнесены к классу С по шкале Child–Pugh и 25 – к классу В), улучшение течения болезни, определяемое как снижение индекса степени тяжести цирроза по шкале Child–Pugh более чем на 2 балла, наблюдалось у 22 из 23 пациентов, которые прошли минимальный 6-месячный курс терапии. Несмотря на это у 7 пациентов заболевание приобрело прогрессирующий характер, что потребовало трансплантации печени и привело к 5 летальным исходам в течение первых 6 мес.

Основной проблемой, связанной с ранним началом терапии, является селекция мутантных штаммов вируса, резистентных к ламивудину. В упомянутом исследовании [197] у 3 пациентов было зарегистрировано обострение инфекции на фоне терапии. Несмотря на то что во всех 3 случаях пациенты остались клинически стабильными, необходимо провести исследования, которые позволят установить характер отдаленных исходов у пациентов с циррозом печени и развившейся резистентностью к ламивудину, а также риск развития у них рецидивов гепатита В и эффективность применения специфического иммуноглобулина против гепатита В для предотвращения

рецидивирования после трансплантации печени.

Нежелательные лекарственные реакции

В целом ламивудин обладает хорошей переносимостью. Различные нежелательные реакции, включая умеренное (в 2–3 раза) повышение активности АлАТ в сыворотке крови, отмечались у пациентов, получавших ламивудин. Однако эти реакции наблюдались с такой же частотой и у пациентов контрольной группы [180–182].

Длительность ответа на терапию

Имеется небольшое количество данных, касающихся длительности сероконверсии HBeAg после прекращения терапии ламивудином. По предварительным данным исследования пациентов с положительной динамикой во II или III фазе клинических испытаний эффективности ламивудина, у 34 (81%) из 42 пациентов с сероконверсией HBeAg наблюдался длительный ответ на терапию через 21 мес наблюдения (колебания – от 0 до 30 мес). Нормальные значения активности АлАТ отмечались у 28 (65%) пациентов. Более того, у 9 (21%) пациентов наблюдалась сероконверсия HBsAg [200].

Однако в 2 клинических исследованиях, проведенных в Азии, отмечалась более низкая частота длительного ответа на терапию, составлявшая от 38 до 73% [185, 201]. В исследовании, проведенном в Корее, у 34 пациентов сероконверсия HBeAg наблюдалась после завершения курса лечения, составившего в среднем $9,3 \pm 3,0$ мес [201]. Общая частота развития рецидивов заболевания через 1 и 2 года после завершения лечения составила 38 и 49% соответственно. В большинстве случаев (у 12 из

16 пациентов) рецидивы заболевания развивались в течение первых 12 мес после прекращения терапии.

При множественном анализе установлено, что длительность дополнительных курсов терапии ламивудином, проводимой после сероконверсии HBeAg, и уровень HBV ДНК в сыворотке крови являются независимыми предикторами рецидивирования болезни после завершения терапии.

Резистентность к ламивудину

Селекция ламивудинорезистентных штаммов является основной проблемой при лечении ламивудином. Наиболее распространенной является мутация YMDD участка, кодирующего ДНК-полимеразу HBV (M204V/I, или по старой классификации M552V/I) [202, 203]. Эта мутация часто сопровождается мутацией L180M (по старой классификации L528M).

Резистентность к ламивудину проявляется, как правило, в виде обострения инфекции на фоне терапии, определяемого как повторное выявление неамплификационными методами HBV ДНК в сыворотке крови, регистрируемое 2 или более раз после ее первоначального исчезновения. Однако возникновение обострения на фоне терапии ламивудином также может быть следствием низкой комплаентности пациента. Генотипически обусловленная резистентность может выявляться у 14–32% пациентов через 1 год после завершения лечения [180–182].

В исследовании, проведенном в Азии, уровень генотипически обусловленной резистентности, составившей через 1 год после завершения лечения 14%, увеличился до 38, 49 и 66% соответственно через 2, 3 и 4 года после завершения терапии [183–185].

Клиническое течение заболевания у пациентов с HBV-инфекцией, вызванной ламивудинорезистентными штаммами, носит разнообразный характер, а изучение отдаленных исходов терапии требует дальнейшего исследования.

У некоторых пациентов появление ламивудинорезистентных штаммов вируса может сопровождаться обострением патологического процесса в печени, в редких случаях – развитием печеночной недостаточности [204–206]. Несмотря на это у большинства пациентов, которые продолжают терапию ламивудином, отмечаются более низкие по сравнению со значениями до начала лечения уровни HBV ДНК и активности АлАТ в сыворотке крови. Сохраняющаяся эффективность лечения, возможно, связана с подавляющим эффектом ламивудина на сохранившийся в организме вирус дикого типа и нарушенной способностью мутантных штаммов вируса к репликации [207, 208]. Более того, приблизительно у 25% пациентов, продолживших лечение после выделения у них ламивудинорезистентных штаммов вируса, была зарегистрирована сероконверсия HBeAg [183, 204].

Клинические исследования показали, что распространенность резистентности вируса к ламивудину подвержена большим колебаниям у получавших лечение пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В (0–27% через 1 год после прекращения терапии и 10–56% – через 2 года) [188–190, 192].

Режим дозирования

Рекомендуемая доза для взрослых с сохраненной функцией почек (клиренс креатинина более 50 мл/мин) и отсутствием коинфекции ВИЧ составляет 100 мг/сут ежедневно. Рекомен-

дуемая доза для детей составляет 3 мг/кг/сут (максимальная – 100 мг/сут). У пациентов с почечной недостаточностью требуется уменьшение дозы. Пациенты с сочетанной ВИЧ- и HBV-инфекцией должны получать 150 мг ламивудина 2 раза в сутки ежедневно в сочетании с другими антиретровирусными препаратами.

Конечной целью лечения HBeAg-положительных пациентов является достижение сероконверсии HBeAg. В целом ламивудин следует принимать в течение 1 года, так как уменьшение длительности терапии ассоциируется с более низкой частотой сероконверсии HBeAg [180–182, 209, 210]. Лечение должно быть завершено у тех пациентов, которые прошли годовую курс терапии и имеют стойкую сероконверсию HBeAg (отсутствие HBeAg, наличие в крови anti-HBe и отсутствие HBV ДНК в сыворотке крови при определении неамплификационными методами в нескольких исследованиях, проведенных с интервалом в 2–3 мес).

Предполагается, что стойкий ответ на терапию после завершения лечения будет достигаться в 70–80% случаев. Вопрос о том, можно ли прекратить терапию ламивудином у тех пациентов, прошедших годовую курс терапии, у которых отмечается стойкое отсутствие в крови HBeAg и anti-HBe, остается открытым. На основании результатов исследования, проведенного в Корее, установлена нецелесообразность назначения терапии длительностью менее 1 года у пациентов с ранней сероконверсией HBeAg [201].

В связи с тем, что сероконверсия HBeAg может возникать при увеличении длительности терапии, лечение ламивудином может быть продолжено у пациен-

тов, не достигших сероконверсии HBeAg и не имеющих признаков «обострения инфекции на фоне терапии» [183]. Однако целесообразность увеличения продолжительности терапии более 1 года до конца не изучена, а ее преимущества должны быть тщательно взвешены с учетом возможного риска селекции резистентных штаммов вируса.

У пациентов с развитием «обострения на фоне терапии ламивудином», обусловленной появлением ламивудинорезистентных штаммов вируса, терапия может быть продолжена до тех пор, пока она сохраняет свои преимущества (эффективность оценивается на основании клинических данных, определения активности АлАТ и уровня HBV ДНК в сыворотке крови). Пациенты, у которых регистрируется ухудшение течения патологического процесса в печени, вызванное ламивудинорезистентными штаммами вируса, должны включаться в клинические исследования для проведения им «спасительной» терапии другими аналогами нуклеозидов/нуклеотидов, такими, как адефовир дипивоксил и энтекавир.

Обострения хронического гепатита с/без развития печеночной недостаточности могут возникать после прекращения терапии ламивудином. Обострения могут развиваться даже у пациентов с достигнутой сероконверсией HBeAg и наблюдаться в течение года (в среднем 4 мес) после завершения терапии [211].

Таким образом, все пациенты должны находиться под наблюдением в течение как минимум 1 года после завершения лечения. Назначение повторных курсов терапии ламивудином обычно оказывается эффективным при контроле обострений хронического гепатита В у пациентов без «обострений инфекции на фоне

терапии» в анамнезе, лечение ламивудином которых может способствовать возникновению в последующем сероконверсии HBeAg [211].

Однако у пациентов с развитием «обострений инфекции на фоне терапии ламивудином» эффект от повторного лечения ламивудином является кратковременным, что связано с быстрой селекцией резистентных штаммов вируса, наблюдающейся после отмены препарата [192].

Критерии оценки эффективности терапии пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В окончательно не установлены. Рецидивы болезни после завершения лечения могут развиваться даже у пациентов с уровнем HBV ДНК в сыворотке крови, не определяемым методом ПЦР. В связи с высокой частотой рецидивирования болезни у пациентов с ответом на терапию, развившимся после 12-месячного курса лечения, может потребоваться назначение более длительных курсов терапии. Тем не менее до настоящего времени не определены критерии завершения терапии, а клиническое значение ламивудинорезистентных штаммов у пациентов, имеющих мутации в core promoter/precore участках HBV ДНК, остается неясным.

Другие препараты

Фамцикловир представляет собой препарат-пролекарство, действующим веществом которого является пенцикловир. В клинических исследованиях было показано, что фамцикловир обладает хорошей переносимостью и эффективно подавляет репликацию HBV, однако его противовирусная активность уступает таковой ламивудина. При проведении фазы III клинического исследования, в которое были включены 417 пациентов с

НВеAg-позитивным хроническим гепатитом В, была зарегистрирована более высокая, чем в контрольной группе, частота сероконверсии НВеAg (9 против 3%) [212].

В некоторых исследованиях выявлена резистентность вируса к фамцикловиру, обусловленная мутацией L180M (по старой классификации L528M) [213]. Учитывая низкую эффективность препарата, обуславливающую необходимость 3-кратного приема препарата в течение суток, и перекрестную резистентность с ламивудином, маловероятно, что фамцикловир будет играть большую роль в лечении хронического гепатита В.

Адефовир дитивоксил представляет собой пролекарство, действующим веществом которого является адефовир. Фазы I и II клинических исследований препарата показали, что адефовир снижает уровень HBV ДНК в сыворотке крови в 100–10 000 раз [214]. В высоких дозах адефовир обладает нефротоксичностью.

В настоящее время проводится фаза III клинических исследований, целью которой является изучение безопасности и эффективности низких доз адефовира. Данные *in vitro* и предварительные результаты клинических исследований показывают, что адефовир эффективно подавляет репликацию ламивудинорезистентных штаммов HBV [215, 216].

Другие противовирусные препараты. К другим противовирусным препаратам, продемонстрировавшим в клинических исследованиях обнадеживающие результаты, относятся *эмтрицитабин (FTC)* [217] и *энтекавир* [218]. *In vitro* исследования показали, что энтекавир обладает активностью в отношении ламивудинорезистентных штаммов HBV [219]. Однако отсутствуют данные по его эффек-

тивности *in vivo* у пациентов с «обострениями инфекции на фоне терапии ламивудином», обусловленными мутантными штаммами вируса.

Тимозин. Известно, что пептиды, являющиеся производными компонентов вилочковой железы, могут стимулировать Т-клеточный иммунитет. В клинических исследованиях выявлена хорошая переносимость *тимозина*. Однако данные о его эффективности остаются весьма противоречивыми [220–223].

Таким образом, необходимо провести больше клинических исследований, прежде чем можно будет рекомендовать тимозин для лечения хронического гепатита В.

Комбинированная терапия

Комбинированная терапия может обеспечивать аддитивное или синергидное противовирусное действие, снижать резистентность к препаратам или тормозить ее развитие. Доказано, что комбинированная терапия обладает большей эффективностью при лечении хронической HCV-инфекции и ВИЧ-инфекции.

К недостаткам комбинированной терапии относятся более высокая стоимость, повышенная токсичность и особенности лекарственного взаимодействия.

Комбинация ИФН-α и ламивудина. Эффективность комбинированной терапии ИФН-α и ламивудином оценивалась в 2 клинических исследованиях. В одном исследовании 226 не получавших ранее лечения пациентов были рандомизированы в 3 группы, в одной из которых больные получали монотерапию ламивудином в течение 52 нед, в другой – монотерапию ИФН-α в течение 16 нед, в третьей – монотерапию ламивудином в течение 8 нед с последующим переходом на применение комбинации ла-

мивудина и ИФН-α в течение еще 16 нед.

Через 52 нед от начала лечения частота сероконверсии НВеAg в группах пациентов составила соответственно 18, 19 и 29%, однако различия между группами оказались статистически незначимыми [182]. Эти результаты указывают на то, что годовой курс монотерапии ламивудином обладает такой же эффективностью, как и 16-недельный курс ИФН-α, а комбинированная терапия ламивудином и ИФН-α не обладает дополнительными преимуществами.

Подобные результаты получены и в другом исследовании, оценивавшем эффективность различных схем терапии у пациентов с хроническим гепатитом В, у которых ранее не был достигнут ответ на терапию [195]. Однако недостатки дизайна этих двух исследований, связанные с численностью групп, более короткой продолжительностью терапии ламивудином (24 нед по сравнению с 52) в группе пациентов, получавших комбинацию препаратов, и сроками проведения повторной биопсии печени (28 нед после завершения терапии по сравнению с биопсией во время лечения), не позволяют сделать окончательного заключения по поводу эффективности комбинированной терапии ламивудином и ИФН-α. В настоящее время проводятся исследования других режимов терапии.

Таким образом, комбинированная терапия ИФН-α и ламивудином не может быть рекомендована для лечения хронического гепатита В до тех пор, пока не будет получено достаточного количества достоверных данных.

Комбинация ламивудина и фамцикловира. В исследованиях *in vitro* и *in vivo*, проведенных на североамериканских лесных

сурках, было показано, что комбинация ламивудина и фамцикловира обладает аддитивным или синергидным противовирусным действием. В одном пилотном исследовании было установлено, что короткий курс комбинированной терапии ламивудином и фамцикловиrom вызывает аддитивный противовирусный эффект [224]. Вопрос о том, будет ли этот эффект способствовать увеличению частоты достижения стойкого ответа на противовирусную терапию или снижению резистентности, требует дальнейшего изучения.

Сочетанный вирусный гепатит В и D

Первоначальной целью лечения является подавление репликации HDV, которое обычно сопровождается нормализацией активности АлАТ в сыворотке крови и уменьшением активности воспалительного и некротического процессов, выявляемых при биопсии печени. Во многих странах единственным препаратом, одобренным для терапии хронического гепатита D, является

ИФН- α . В настоящее время количество данных об эффективности ИФН- α при лечении хронического гепатита D весьма ограничено.

В одном клиническом исследовании ($n=61$), в котором сравнивались результаты лечения пациентов, получавших ИФН- α в дозе 3–5 млн МЕ/м² 3 раза в неделю в течение 12 мес, и у контрольных пациентов, не получавших терапию, не было выявлено никаких различий в длительности вирусологического ответа между этими группами. И только у 1 пациента был зарегистрирован стойкий биохимический ответ на противовирусную терапию [225].

В другом клиническом исследовании ($n=42$) было обнаружено, что пациенты, получавшие высокие дозы ИФН- α (9 млн МЕ 3 раза в неделю), имели более высокую частоту как вирусологического, так и биохимического и гистологического ответов на противовирусную терапию [226]. Несмотря на то что у большинства пациентов, получавших высокие дозы ИФН- α , в последующем наблюдались вирусологические рецидивы, улучшение гистологиче-

ской картины печени сохранялось у них в течение 10 лет после завершения терапии [227].

В клинических исследованиях на небольшом числе пациентов установлено, что ламивудин не дает ингибирующего эффекта на репликацию HDV [228].

Таким образом, исходя из полученных данных можно говорить о том, что применение высоких доз ИФН- α (9 млн МЕ 3 раза в неделю) в течение 1 года вызывает длительный благоприятный эффект у пациентов с хроническим гепатитом D. В связи с низкой распространенностью гепатита D пациенты с хронической HDV-инфекцией должны направляться для лечения в специализированные центры.

Рекомендации по лечению хронического гепатита В: кого лечить и чем лечить (табл. 8).

Современная терапия хронического гепатита В обладает ограниченной по продолжительности эффективностью.

Таким образом, перед принятием решения о необходимости

Таблица 8. Рекомендации по лечению хронического гепатита В

HBsAg	HBV ДНК ¹	АлАТ	Тактика лечения
+	+	Выше нормы менее чем в 2 раза	Низкая эффективность терапии как ИФН- α , так и ламивудином Наблюдение пациента, рассмотрение вопроса о назначении терапии при повышении активности АлАТ в сыворотке крови
+	+	Выше нормы более чем в 2 раза	Терапия ИФН- α или ламивудином; у пациентов с отсутствием ответа на терапию ИФН- α и пациентов, имеющих противопоказания к применению ИФН- α , препаратом выбора является ламивудин
–	+	Выше нормы более чем в 2 раза	Терапия ИФН- α или ламивудином, требуется длительный курс лечения
–	–	Выше нормы менее чем в 2 раза	Лечение не требуется
+/-	+	Цирроз печени	Компенсированный: терапия ИФН- α (требует тщательного наблюдения) или ламивудином Декомпенсированный: терапия ламивудином Оптимальная продолжительность лечения не установлена, показана трансплантация печени
+/-	–	Цирроз печени	Компенсированный: наблюдение пациента Декомпенсированный: трансплантация печени

¹ Концентрация HBV ДНК >10⁵ копий/мл. Это значение выбрано эмпирически и может быть ниже для пациентов с HBsAg-негативным хроническим гепатитом В и с декомпенсированным циррозом печени.

лечения следует тщательно взвесить такие факторы, как возраст пациента, степень тяжести болезни, вероятность достижения ответа на терапию, возможные нежелательные лекарственные реакции и осложнения.

У всех пациентов, за исключением пациентов с декомпенсированным циррозом печени, в качестве стартовой терапии может быть использован ИФН- α или ламивудин. К преимуществам ИФН- α относятся более короткая продолжительность терапии и отсутствие риска развития резистентности. Недостатками препарата являются его высокая стоимость и высокая частота нежелательных лекарственных реакций. Ламивудин по сравнению с ИФН- α является более экономически выгодным препаратом (если курс лечения составляет 1 год) и обладает хорошей переносимостью. Однако остаются неопределенными длительность ответа на терапию и клиническое значение формирования резистентных штаммов вируса.

1. *HBsAg-позитивные пациенты с хроническим гепатитом В.*

Уровень активности АлАТ в сыворотке крови превышает нормальные значения в 2 раза и более или средняя/тяжелая степень гепатита по данным биопсии печени. Пациенты этой группы нуждаются в лечении. Терапия может приводить к достижению вирусологического, биохимического и гистологического ответов (I) и улучшать клинический исход (II). Терапия может быть начата как ламивудином, так и ИФН- α в связи с тем, что оба препарата обладают одинаковой эффективностью.

Нормальный уровень активности АлАТ в сыворотке крови или минимальное его повышение (менее чем в 2 раза выше нормальных значений). Эти пациенты не нуж-

даются в лечении, за исключением тех случаев, когда при биопсии печени обнаруживается высокая активность воспалительного и некротического процессов (II).

Дети с уровнем активности АлАТ в сыворотке крови, превышающем нормальные значения более чем в 2 раза. Пациенты этой группы нуждаются в терапии (II). Для лечения детей с хроническим гепатитом В одобрены 2 препарата: ИФН- α и ламивудин.

2. *HBsAg-негативные пациенты с хроническим гепатитом В* (уровень HBV ДНК в сыворотке крови составляет $>10^5$ копий/мл, активность АлАТ превышает норму более чем 2 раза, средняя/тяжелая степень гепатита по данным биопсии печени) нуждаются в терапии. Лечение может быть начато ламивудином или ИФН- α (II).

3. *Пациентам с отсутствием эффекта на предшествующую терапию ИФН- α* может быть назначен дополнительный курс лечения ламивудином при условии, что они соответствуют критериям, описанным выше (II).

4. *Пациенты с декомпенсированным циррозом печени* нуждаются в терапии (III). Лечение должно быть согласовано с центрами по трансплантации печени. У пациентов с декомпенсированным циррозом печени не следует использовать ИФН- α (II).

5. «Носителям HBsAg» противовирусная терапия не показана.

Режимы дозирования

1. ИФН- α назначается в виде подкожных инъекций.

Рекомендуемая доза ИФН- α для взрослых составляет 5 млн МЕ ежедневно или 10 млн МЕ 3 раза в неделю.

Рекомендуемая доза ИФН- α для детей составляет 6 млн МЕ/м² 3 раза в неделю, при этом

максимальная разовая доза составляет 10 млн МЕ.

Рекомендуемая продолжительность лечения для HBsAg-позитивных пациентов с хроническим гепатитом В составляет 16 нед.

Рекомендуемая продолжительность лечения для HBsAg-негативных пациентов с хроническим гепатитом В составляет 12 мес.

2. Ламивудин применяется внутрь.

Рекомендуемая доза ламивудина для взрослых с нормальной функцией почек и отсутствием коинфекции ВИЧ составляет 100 мг/сут.

Рекомендуемая доза ламивудина для детей составляет 3 мг/кг/сут, при этом максимальная суточная доза составляет 100 мг.

Рекомендуемая продолжительность лечения для HBsAg-позитивных пациентов с хроническим гепатитом В составляет 1 год. Длительность терапии может быть увеличена у пациентов, у которых не произошла сероконверсия HBsAg. При этом необходимо тщательно взвесить преимущества продолжения лечения с возможным риском развития резистентности к препарату.

У пациентов с развитием «обострений инфекции на фоне терапии ламивудином», вызванных ламивудинорезистентными штаммами вируса, терапия может быть продолжена до тех пор, пока она сохраняет свои преимущества (достигаемая эффективность оценивается на основании клинических данных, определения активности АлАТ и уровня HBV ДНК в сыворотке крови).

Рекомендуемая продолжительность лечения для HBsAg-негативных пациентов с хроническим гепатитом В составляет более 1 года. Однако оптимальная длительность терапии до настоящего времени не установлена.

Литература

1. Lok A.S., Heathcote E.J., Hoofnagle J.H. Management of Hepatitis B 2000, Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 2001;120:1828-53.
2. Gross P.A., Barrett T.L., Dellinger E.P., Krause P.J., Martone W.J., McGowan J.E., Sweet R.L., et al. Infectious Diseases Society of America quality standards for infectious diseases: purpose of quality standards for infectious diseases/ *Clin Infect Dis* 1994;18:421.
3. Lee W. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-45.
4. McQuillan G.M., Townsend T.R., Fields H.A., Carrol M., Leahy M., Polk B.F. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in the United States. *Am J Med* 1989;87(suppl 3A):5S-10S.
5. CDC. Hepatitis B virus: a comprehensive strategy for limiting transmission in the United States through universal childhood vaccination. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). *MMWR* 1991;40:RR-13:1-25.
6. Beasley R.P. Hepatitis B virus: the major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-56.
7. McMahon B.J. Hepatocellular carcinoma and viral hepatitis. In: Wilson R.A., ed. *Viral Hepatitis*. New York: Marcel Dekker; 1997. p.315-30.
8. Seeger C., Mason W.S. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:51-68.
9. Ganem D., Schneider R.J. Hepadnaviridae and their replication. In: Knipe D.M., Howley P.M., Chanock R.M., Monath T.P., Roizman B., Straus S.E., eds. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001:2703-37.
10. Scaglioni P.P., Melegari M., Wands J.R. Biologic properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promoter and precore open reading frame. *Virology* 1997;233:374-81.
11. Buckwold V.E., Xu Z., Chen M., Yen T.S., Ou J.H. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol* 1996;70:5845-51.
12. Locarnini S., Birch C. Antiviral chemotherapy for chronic hepatitis B infection: lessons learned from treating HIV-infected patients. *J Hepatol* 1999;30:536-50.
13. Maynard J.E. Hepatitis B: global importance and need for control. *Vaccine* 1990;8(Suppl):S18-S20.
14. Mast E.E., Alter M.J., Margolis H.S. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine* 1999;17:1730-3.
15. Margolis H.S., Alter M.J., Hadler S.C. Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. *Semin Liver Dis* 1991;11:84-92.
16. CDC. Recommendations for protection against viral hepatitis. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). *MMWR* 1985;34:313-35.
17. CDC. Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus: prenatal screening of all pregnant women for hepatitis B surface antigen. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). *MMWR* 1988;37:341-6.
18. Scharschmidt B.F., Held M.J., Hollander H.H., Read A.E., Lavine J.E., Veereman G., McGuire R.F., et al. Hepatitis B in patients with HIV infection: relationship to AIDS and patient survival. *Ann Intern Med* 1992;117:837-8.
19. Rodriguez-Mendez M.L., Gonzalez-Quintela A., Aguilera A., Barrio E. Prevalence, patterns and course of past hepatitis B virus infection in intravenous drug users with HIV-1 infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1316-22.
20. Bond W.W., Favero M.S., Petersen N.J., Gravelle C.R., Eben J.W., Maynard J.E. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for one week [letter]. *Lancet* 1981;1:550-1.
21. Petersen N.J., Barrett D.H., Bond W.W., Berquist K.R., Favero M.S., Bender T.R., Maynard J.E. Hepatitis B surface antigen in saliva, impetiginous lesions, and the environment in two remote Alaskan villages. *Applied Environ Microbiol* 1976;32:572-4.
22. Beasley R.P., Hwang L.Y., Lee G.C.Y., Lin C.C., Roan C.H., Huang F.Y., Chen C.L. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet* 1983;1:1099-102.
23. Beasley R.P., Hwang L.Y., Lin C.C., Leu M.L., Stevens C.E., Szmunes W., Chen K.P. Incidence of hepatitis B virus in preschool children in Taiwan. *J Infect Dis* 1982;146:198-204.
24. Corsaget P., Yvonnet B., Chotard J., Vincelot P., Sarr M., Diouf C., Chiron J.P., et al. Age- and sex-related study of hepatitis B virus chronic carrier state in infants from an endemic area (Senegal). *J Med Virol* 1987;22:1-5.
25. McMahon B.J., Alward W.L.M., Hall D.B., Heyward W.L., Bender T.R., Francis D.P., Maynard J.E. Acute hepatitis B virus infection: Relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;151:599-603.
26. Tassopoulos N.C., Papaevangelou G.J., Sjogren M.H., Roumeliotou-Karayannis A., Gerin J.L., Purcell R.H. Natural history of acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis in Greek adults. *Gastroenterology* 1987;92:1844-50.
27. Horvath J., Raffanti S.P. Clinical aspects of the interactions between human immunodeficiency virus and the hepatotropic viruses. *Clin Infect Dis* 1994;18:339-47.
28. Bodsworth N., Donovan B., Nightingale B.N. The effect of concurrent human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B: a study of 150 homosexual men. *J Infect Dis* 1989;160:577-82.
29. Hoofnagle J.H., Dusheiko G.M., Seeff L.B., Jones E.A., Waggoner J.G., Bales Z.B. Seroconversion from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981;94:744-8.
30. Viola L.A., Harrison I.G., Coleman J.C., Paradinal F.J., Fluker J.L., Evans B.A., Murray-Lyon I.M. Natural history of liver disease in chronic hepatitis B surface antigen carriers: survey of 100 patients from Great Britain. *Lancet* 1981;2:1156-9.
31. Liaw Y.F., Chu C.M., Su I.J., Huang M.J., Lin D.Y., Chang-Chien C.S. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983;84:216-9.
32. Fattovich G., Rugge M., Brollo L., Pontisso P., Noventa F., Guido M., Alberti A., et al. Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986;6:167-72.
33. Lok A.S.F., Lai C.L., Wu P.C., Leung E.K.Y., Lam T.S. Spontaneous hepatitis e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1987;92:1839-43.
34. Lok A.S., Lai C.L. A longitudinal follow-up of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive Chinese children. *Hepatology* 1988;8:1130-3.
35. Chang M.H., Hsu H.Y., Hsu H.C., Ni Y.H., Chen J.S., Chen D.S. The significance of spontaneous hepatitis e antigen seroconversion in childhood: with special emphasis on the clearance of hepatitis e antigen before 3 years of age. *Hepatology* 1995;22:1387-92.
36. Lee P.I., Chang M.H., Lee C.Y., Hsu H.Y., Chen J.S., Chen P.J., Chen D.S. Changes in serum hepatitis B DNA and aminotransferase levels during the course of chronic hepatitis B virus infection in children. *Hepatology* 1990;12:657-60.
37. Lok A.S.K., Lai C.L. Acute exacerbations in Chinese patients with chronic hepatitis B (HBV) virus infection: Incidence, predisposing factors and etiology. *J Hepatol* 1990;10:29-34.
38. Dusheiko G.M., Brink B.A., Conradie J.D., Marimuthu T., Sher R. Regional prevalence of hepatitis B, Delta, and human immunodeficiency virus infection in Southern Africa: a large population survey. *Am J Epidemiol* 1989;129:138-45.
39. Bortolotti F., Cadrobbi P., Crivellaro C., Guido M., Rugge M., Noventa F., Calzia R., et al. Long-term outcome of

- chronic type B hepatitis in patients who acquire hepatitis B infection in childhood. *Gastroenterology* 1990;99:805-10.
40. Moreno M.R., Otero M., Millan A., Castillo I., Cabrerizo M., Jimenez F.J., Oliva H., et al. Clinical and histological outcome after hepatitis B e antigen to antibody seroconversion in children with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999;29:572-5.
 41. Stroffolini T., Mele A., Tosti M.E., Gallo G., Balocchini E., Ragni P., Santonastasi F., et al. The impact of hepatitis B mass immunisation campaign on the incidence and risk factors of acute hepatitis B in Italy. *J Hepatol* 2000;33:980-5.
 42. De Franchis R., Meucci G., Vecchi M., Tatarella M., Colombo M., Del Ninno E., Rumi N.G., et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993;118:191-4.
 43. McMahon B.J., Hoick P., Bulkow L., Snowball M.M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Int Med* 2001;135:759-68.
 44. Colin J.F., Cazals-Hatem D., Loriot M.A., Martinot-Peignoux M., Pham B.N., Auperin A., Degott C., et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B in homosexual men. *Hepatology* 1999;29:1306-10.
 45. Dragosics B., Ferenci P., Hitchman E., Denk H. Long-term follow-up study of symptomatic HBsAg-positive voluntary blood donors in Austria: a clinical and histologic evaluation of 242 cases. *Hepatology* 1987;7:302-6.
 46. Davis G.L., Hoofnagle J.H., Waggoner J.G. Spontaneous reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1984;86:230-5.
 47. Liaw Y.F., Tai D.I., Chu C.M., Pao C.C., Chen T.J. Acute exacerbation in chronic type B hepatitis: comparison between HBeAg and antibody-positive patients. *Hepatology* 1987;7:20-3.
 48. Fattovich G., Brollo L., Alberti A., Pontisso P., Giustina G., Realdi G. Long-term follow-up of anti-HBe-positive chronic active hepatitis B. *Hepatology* 1988;8:1651-4.
 49. Chan H.L.Y., Leung N.W.Y., Hussain M., Wong M.L., Lok A.S.F. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B in Hong Kong. *Hepatology* 2000;31:763-8.
 50. Brunetto M.R., Oliveri F., Rocca G., Crisculo D., Chiaberge E., Capalbo M., David E., et al. Natural course and response to interferon of chronic hepatitis B accompanied by antibody to hepatitis B e antigen. *Hepatology* 1989;10:198-202.
 51. Lindh M., Andersson A.S., Gusdal A. Genotypes, nt 1858 variants, and geographic origin of hepatitis B virus - large-scale analysis using a new genotyping method. *J Infect Dis* 1997;175:1285-93.
 52. Laras A., Koskinas J., Avgidis K., Hadziyannis S.J. Incidence and clinical significance of hepatitis B virus precore gene translation initiation mutations in e antigen-negative patients. *J Viral Hepatitis* 1998;5:241-8.
 53. Naoumov N.V., Schneider R., Grotzinger T., Jung M.C., Miska S., Pape G.R., Will H. Precore mutant hepatitis B virus infection and liver disease. *Gastroenterology* 1992;102:538-43.
 54. Rodriguez-Frias F., Buti M., Jardi R., Cotrina M., Viladomiu L., Esteban R., Guardia J. Hepatitis B virus infection: precore mutants and its relation to viral genotypes and core mutations. *Hepatology* 1995;22:1641-7.
 55. Tu H., Xiong S.D., Treppe C., Wen Y.M. Frequency of hepatitis B virus e-minus mutants varies among patients from different areas of China. *J Med Virol* 1997;51:85-9.
 56. Shindo M., Hamada K., Koya S., Sokawa Y., Okuno T. The clinical significance of core promoter and precore mutations during the natural course and interferon therapy in patients with chronic hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 1999;94:237-45.
 57. Zarski J.P., Marcellin P., Cohard M., Lutz J.M., Bouche C., Rais A. Comparison of anti-HBe-positive and HBe-antigen-positive chronic hepatitis B in France. French Multicentre Group. *J Hepatol* 1994;20:636-40.
 58. Gray A.H., Fang J.W., Davis G.L., Mizokami M., Wu P.C., Williams R., Schuster S.M., et al. Variations of hepatitis B virus core gene sequence in Western patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepatitis* 1997;4:371-8.
 59. Grandjacques C., Pradat P., Stuyver L., Chevallier M., Chevallier P., Pichoud C., Maisonnas M., et al. Rapid detection of genotypes and mutations in the precore promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: correlation with viral persistence and disease severity. *J Hepatol* 2000;33:430-9.
 60. Hadziyannis S. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Viral Hepatitis Rev* 1995;1:7-36.
 61. Di Marco V., Camma C., Vaccaro A., Giunta M., Martorana G., Fuschi P., Almasio P., et al. The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999;30:257-64.
 62. Brunetto M.R., Giarin M.M., Oliveri F., Chiaberge E., Baldi M., Alfarano A., Serra A., et al. Wild-type and e antigen-minus hepatitis B viruses and course of chronic hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:4186-90.
 63. Chu C.M., Yeh C.T., Chiu C.T., Sheen I.S., Liaw Y.F. Precore mutant of hepatitis B virus prevails in acute and chronic infections in an area in which hepatitis B is endemic. *J Clin Microbiol* 1996;34:1815-8.
 64. Kramvis A., Kew M.C., Bukofzer S. Hepatitis B virus precore mutants in serum and liver of Southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1998;28:132-41.
 65. Lok A.S., Akarca U., Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4077-81.
 66. Carman W.F., Jacyna M.R., Hadziyannis S., Karayiannis P., McGarvey M.J., Makris A., Thomas H.C. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989;2:588-91.
 67. Okamoto H., Tsuda F., Akahane Y., Sugai Y., Yoshida M., Moriyama K., Tanaka T., et al. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol* 1994;68:8102-10.
 68. Magnius L.O., Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 1995;38:24-34.
 69. Adachi J., Kaneko S., Matsushita E., Inagaki Y., Unoura M., Kobayashi K. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 1992;16:1334-7.
 70. Liaw Y.F., Sheen I.S., Chen T.J., Chu C.M., Pao C.C. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 1991;13:627-31.
 71. Gandhi M.J., Yang G.G., McMahon B., Vyas G. Hepatitis B virions associated with antibodies to the pre-S1 domain reveal occult viremia in surface antigen negative/antibody-positive carriers by polymerase chain reaction. *Transfusion* 2000;40:910-6.
 72. Yu M.W., Hsu F.C., Sheen I.S., Chu C.M., Lin D.Y., Chen C.J., Liaw Y.F. Prospective study of hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis in asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers. *Am J Epidemiol* 1997;145:1039-47.
 73. Liaw Y.F., Tai D.I., Chu C.M., Chen T.J. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1988;8:493-6.
 74. Fattovich G., Brollo L., Giustina G., Noventa F., Pontisso P., Alberti A., Realdi G., et al. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 1991;32:294-8.
 75. Realdi G., Fattovich G., Hadziyannis S., Schalm S.W., Almasio P., Sanchez-Tapias J., Christensen E., et al. Survival and prognostic factors in 366 patients with compensated cirrhosis type B: a

- multicenter study. The investigators of the European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *J Hepatol* 1994;21:656-6.
76. De Jongh F.E., Janssen H.L.A., De Man F.A., Hop W.C.J., Schalm S.W., Van Blankenstein M.V. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992;103:1630-5.
 77. Fattovich G., Giustina G., Schalm S.W., Hadziyannis S., Sanchez-Tapias J., Almasio P., Christensen E., et al. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995;21:77-82.
 78. Niederau C., Heintges T., Lange S., Goldman G., Niederau C.M., Mohr L., Haussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996;334:1422-7.
 79. Fattovich G., Giustina G., Realdi G., Corrocher R., Schalm S.W., and the European Concerted Action of Viral Hepatitis (EUROHEP). Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. *Hepatology* 1997;26:1338-42.
 80. Lin S.M., Sheen I.S., Chien R.N., Chu C.M., Liaw Y.F. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999;29:971-5.
 81. Lau D.T., Everhart J., Kleiner D.E., Park Y., Vergalla J., Schmid P., Hoofnagle J.H. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997;113:1660-7.
 82. Liaw Y.F., Lin D.Y., Chen T.J., Chu C.M. Natural course after the development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Liver* 1989;9:235-41.
 83. Chung H.T., Lai C.L., Lok A.S. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. *Hepatology* 1995;22:25-9.
 84. Huo T.I., Wu J.C., Lee P.C., Chau G.Y., Lui W.Y., Tsai S.H., Ting L.T., et al. Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 1998;28:231-6.
 85. Roudot-Thoraval F., Bastie A., Pawlotsky J.M., Dhumeaux D., and the Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6664 patients. *Hepatology* 1997;26:485-90.
 86. Housset C., Pol S., Carnot F., Dubois F., Nalpas B., Housset B., Berthelot P., et al. Interactions between human immunodeficiency virus-1, hepatitis delta virus and hepatitis B virus infections in 260 chronic carriers of hepatitis B virus. *Hepatology* 1992;15:578-92.
 87. Hadziyannis S.J. Hepatitis D. *Clin Liver Dis* 1999;3:309-25.
 88. Hadler S.C., Alcalá de Monzon M., Rivero D., Perez M., Bracho A., Fields H. Epidemiology and long-term consequences of hepatitis Delta virus infection in the Yucpa Indians of Venezuela. *Am J Epidemiol* 1992;136:1507-16.
 89. Gaeta G.B., Stroffolini T., Chiaramonte M., Ascione T., Stornaiuolo G., Lorello S., Sagnelli E., et al. Chronic hepatitis D: a vanishing disease? An Italian multinational study. *Hepatology* 2000;32:824-7.
 90. Caredda F., Rossi E., d'Armi Monteforte A., Zampini L., Re T., Meroni B., Moroni M. Hepatitis B virus-associated coinfection and superinfection with delta agent: Indistinguishable disease with different outcome. *J Infect Dis* 1985;151:925-8.
 91. Fattovich G., Boscaro S., Noventa F., Pomaro E., Stenico D., Alberti A., Ruol A., et al. Influence of hepatitis delta virus infection on progression to cirrhosis in chronic hepatitis type B. *J Infect Dis* 1987; 155:931-5.
 92. Fattovich G., Giustina G., Christensen E., Pantalena M., Zagni I., Realdi G., Schalm S.W., and the European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. *Gut* 2000;46:420-6.
 93. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996;45:1-30.
 94. Gerlich W.H., Thomssen R. Quantitative assays for hepatitis B virus DNA: standardization and quality control. *Viral Hepatitis Reviews* 1995;1:53-7.
 95. Hawkins A., Davidson F., Simmonds P. Comparison of plasma virus loads among individuals infected with hepatitis C virus (HCV) genotypes 1, 2, and 3 by Quantiplex HCV RNA assay versions 1 and 2, Roche Monitor assay, and an in-house limiting dilution method. *J Clin Microbiol* 1997;35:187-92.
 96. Pawlotsky J.M., Bastie A., Hezode C., Lonjon I., Darthuy F., Remire J., Dhumeaux D. Routine detection and quantification of hepatitis B virus DNA in clinical laboratories: performance of three commercial assays. *J Virol Methods* 2000;85:11-21.
 97. Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H., Manns M., Scheuer P.J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-20.
 98. Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C., Chen T.S., Craig R., Kaplowitz N., Kiernan T.W., et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-5.
 99. Ishak K., Baptista A., Bianchi L., Callea F., De Groote J., Gudat F., Denk H., et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-9.
 100. The French Metavir Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:15-20.
 101. Weissberg J.I., Andres L.L., Smith C.I., Weick S., Nichols J.E., Garcia G., Robinson W.S., et al. Survival in chronic hepatitis B. An analysis of 379 patients. *Ann Intern Med* 1984;101:613-6.
 102. Villa E., Rubbiani L., Barchi T., Ferretti I., Grisendi A., De Palma M., Bellentani S., et al. Susceptibility of chronic symptomless HBsAg carriers to ethanol-induced hepatic damage. *Lancet* 1982;2:1243-5.
 103. Kim Y.I., Heathcote J., Wanless I.R. The hepatitis B carrier state – a follow-up study of 100 consecutive cases. *Clin Invest Med* 1987;10:383-7.
 104. Chevillotte G., Durbec J.P., Gerolami A., Berthezene P., Bidart J.M., Camatte R. Interaction between hepatitis B virus and alcohol consumption in liver cirrhosis: an epidemiologic study. *Gastroenterology* 1983;85:141-5.
 105. Imanishi T., Morikawa S., Ohmagari K., Kurihara S., Nishihata S., Kamiya T., Hayashida K., et al. The effect of habitual alcohol drinking on the development of type B chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Jpn J Gastroenterol* 1988;85:692-8.
 106. Chung H.T., Lai C.L., Wu P.C., Lok A.S.F. Synergism of chronic alcoholism and hepatitis B infection in liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1989;4:11-6.
 107. Lok A.S.F., Lai C.L., Wu P.C. Prevalence of isolated antibody to hepatitis B core antigen in an area endemic for hepatitis B virus infection: Implications in hepatitis B vaccination programs. *Hepatology* 1988;8:766-70.
 108. McMahon B.J., Parkinson A.J. Clinical significance and management when antibody to hepatitis B core antigen is the sole marker for HBV infection. *Viral Hepatitis Rev* 2000;6:229-36.
 109. Wong V.C., Ip H.M., Reesink H.W., Lelie P.N. Prevention of the HBsAg carrier state in newborn infants of mothers who are chronic carriers of HBsAg and HBeAg by administration of hepatitis-B vaccine and hepatitis-B immunoglobulin. *Lancet* 1984;1: 921-6.

110. Burk R.D., Hwang L.Y., Ho G.Y.F., Shafritz D., Beasley R.P. Outcome of perinatal hepatitis B virus exposure is dependent on maternal virus load. *J Infect Dis* 1994;170:1418-23.
111. Harpaz R., Von Seidlein L., Averhoff F.M., Tormey M.P., Sinha S.D., Kotsopoulou K., Lambert S.B., et al. Transmission of hepatitis B virus to multiple patients from a surgeon without evidence of inadequate infection control. *N Engl J Med* 1996;334:549-54.
112. Gerberding J.L. The infected health care provider. *N Engl J Med* 1996;334:594-5.
113. CDC. Recommendations for preventing transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to patients during exposure-prone invasive procedures. *MMWR* 1991;40:RR-8:1-7.
114. Heyward W.L., Bender T.R., Lanier A.P., Francis D.P., McMahon B.J., Maynard J.E. Serologic markers of hepatitis B virus and alpha-fetoprotein levels preceding primary hepatocellular carcinoma in Alaskan Eskimos. *Lancet* 1982;2:889-91.
115. Johnson P.J., Williams R. Serum alpha-fetoprotein estimations and doubling time in hepatocellular carcinoma: Influence of therapy and possible value in early detection. *J Nat Cancer Inst* 1980;64:1329-32.
116. Kaneko S., Unoura M., Kobayashi K. Early detection of hepatocellular carcinoma. In: Okuda K. and Tabor E., eds. *Liver Cancer*. New York: Churchill Livingstone 1997:393-406.
117. Sheu J.C., Sung J.L., Chen D.S., Yang P.M., Lai M.Y., Lee C.S., Hsu H.C., et al. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology* 1985;89:259-66.
118. Tang Z.Y., Yang B.H., Zhou X.D. Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1995;10:683-90.
119. McMahon B.J., Bulkow L., Harpster A., Snowball M., Lanier A., Sacco F., Dunaway E., et al. Screening for hepatocellular carcinoma in Alaska Natives infected with chronic hepatitis B: a 16-year population-based study. *Hepatology* 2000;32:842-6.
120. Lee C.S., Sheu J.C., Wang M., Hsu H.C. Long-term outcome after surgery for asymptomatic small hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 1996;83:330-3.
121. Mima S., Sekiya C., Kanagawa H., Kohyama H., Gotoh K., Mizuo H., Ijiri M., et al. Mass screening for hepatocellular carcinoma: experience in Hokkaido, Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 1994;9:361-655.
122. Sherman M., Peltekian K.M., Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. *Hepatology* 1995;22:432-7.
123. Sheu J.C., Sung J.L., Chen D.S., Lai M.Y., Wang T.H., Yu J.Y., Yang P.M. Early detection of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasonography. *Cancer* 1985;56:660-6.
124. Dusheiko G.M., Hobbs K.E.F., Dick R., Burroughs A.K. Treatment of small hepatocellular carcinomas. *Lancet* 1992;340:285-8.
125. Mor E., Kasper R.T., Sheiner P., Schwartz M. Treatment of hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis in the era of liver transplantation. *Ann Intern Med* 1998;129:643-53.
126. Liu C.L., Fan S.T. Nonresectional therapies for hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 1997;173:358-65.
127. Murakami R., Yoshimatsu S., Yamashita Y., Matsukawa T., Takahashi M., Sagara K. Treatment of hepatocellular carcinoma: value of percutaneous microwave coagulation. *Am J Radiol* 1995;164:1159-64.
128. Matsuzaki Y., Osuga T., Saito Y., Chuganji Y., Tanaka N., Shoda J., Tsuji H., et al. A new, effective, and safe therapeutic option using proton irradiation for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1994; 106:1032-41.
129. Gazelle G.S., Goldberg S.N., Solbiati L., Livraghi T. Tumor ablation with radio-frequency energy. *Radiology* 2000;217:633-46.
130. Zoli M., Magalotti D., Bianchi G., Gueli C., Marchesini G., Pisi E. Efficacy of a surveillance program for early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1996;78:977-85.
131. Oka H., Kurioka N., Kim K., Kanno T., Kuroki T., Mizoguchi Y., Kobayashi K. Prospective study of early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1990;12:680-7.
132. Cottone M., Turri M., Caltagirone M., Parisi P., Orlando A., Fiorentino G., Virdone R., et al. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with Child's A cirrhosis: an 8 year prospective study by ultrasound and alpha-fetoprotein. *J Hepatol* 1994;21:1029-34.
133. Colombo M., de Franchis R., Del Ninno, Sangiovanni A., De Fazio C., Tommasini M., Donato M.F., et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991;325:675-80.
134. Tanaka S., Kitamura T., Nakanishi K., Okuda S., Yamazaki H., Hiyama T., Fujimoto I. Effectiveness of periodic checkup by ultrasonography for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1990;66:2210-4.
135. Fujiyama S., Izuno K., Gohshi K., Shibata J., Sato T. Clinical usefulness of Des- γ -carboxy prothrombin in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 1991;36:1787-92.
136. Tanabe Y., Ohnishi K., Nomura F., Iida S. Plasma abnormal prothrombin levels in patients with small hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1988;83:1386-9.
137. Tsai S.L., Huang G.T., Yang P.M., Sheu J.C., Sung J.L., Chen D.S. Plasma Des- γ -carboxy prothrombin in early stage of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1990;11:481-7.
138. Xu K., Meng X.Y., Wu J.W., Shen B., Shi Y.C., Wei Q. Diagnostic value of serum γ -glutamyl transferase isoenzyme for hepatocellular carcinoma: a 10-year study. *Am J Gastroenterology* 1992;87:991-5.
139. Takahashi H., Saibara T., Iwamura I., Tomita A., Maeda T., Onishi S., Yamamoto Y., et al. Serum α -L-fucosidase activity and tumor size in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994;19:1414-7.
140. Giardina M.G., Matarazzo M., Morante R., Lucariello A., Varriale A., Guardasole V., De Marco G. Serum α -L-fucosidase activity and early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1998;83:2468-74.
141. Mita Y., Aoyagi Y., Yanagi M., Suda T., Suzuki Y., Asakura H. The usefulness of determining Des- γ -carboxy prothrombin by sensitive enzyme immunoassay in the early diagnosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1998;82:1643-8.
142. Nomura F., Ishijima M., Kuwa K., Tanaka N., Nakai T., Ohnishi K. Serum Des-gamma-carboxy prothrombin levels determined by a new generation of sensitive immunoassays in patients with small-sized hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94:650-4.
143. Yuen M.F., Cheng C.C., Lauder I.J., Lam S.K., Ooi C.G.C., Lai C.L. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000;31:330-5.
144. Solmi L., Primerano A.M.M., Gandolfi L. Ultrasound follow-up of patients at risk for hepatocellular carcinoma: Results of a prospective study on 360 cases. *Am J Gastroenterol* 1996;91: 1189-94.
145. Kang J.Y., Lee T.P., Yap I., Lun K.C. Analysis of cost-effectiveness of different strategies for hepatocellular carcinoma screening in hepatitis B virus carriers. *J Gastroenterol Hepatol* 1992;7:463-8.
146. Mark D.B., Hiattky M.A., Califf R.M., Naylor C.D., Lee K.L., Armstrong P.W., Barbash G., et al. Cost effectiveness of thrombolytic therapy with tissue plasminogen activator as compared with streptokinase for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1995;332:1418-24.
147. Wong D.K., Cheung A.M., O'Rourke K., Naylor C.D., Detsky A.S., Heathcote J. Effect of alpha-interferon treat-

- ment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med* 1993;119:312-23.
148. Brook M.G., Karayiannis P., Thomas H.C. Which patients with chronic hepatitis B virus infection will respond to alpha-interferon therapy? *Hepatology* 1989;10:761-3.
 149. Perrillo R.P., Schiff E.R., Davis G.L., Bodenheimer H.C., Jr., Lindsay K., Payne J., Dienstag J.L., et al. A randomized, controlled trial of interferon alfa-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1990;323:295-301.
 150. Lok A.S., Wu P.C., Lai C.L., Lau J.Y., Leung E.K., Wong L.S., Ma O.C., et al. A controlled trial of interferon with or without prednisone priming for chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1992;102:2091-7.
 151. Lai C.L., Lok A.S., Lin H.J., Wu P.C., Yeoh E.K., Yeung C.Y. Placebo-controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese HBsAg-carrier children. *Lancet* 1987;2:877-80.
 152. Lai C.L., Lin H.J., Lau J.N., Lok A.S., Wu P.C., Chung H.T., Wong L.K., et al. Effect of recombinant alpha 2 interferon with or without prednisone in Chinese HBsAg carrier children. *Q J Med* 1991;78:155-63.
 153. Lok A.S., Lai C.L., Wu P.C., Leung E.K. Long-term follow-up in a randomised controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1988;2:298-302.
 154. Gregorio G.V., Jara P., Hierro L., Diaz C., de la Vega A., Vegnente A., Iorio R., et al. Lymphoblastoid interferon alfa with or without steroid pretreatment in children with chronic hepatitis B: a multicenter controlled trial. *Hepatology* 1996;23:700-7.
 155. Sokal E.M., Conjeevaram H.S., Roberts E.A., Alvarez F., Bern E.M., Goyens P., Rosenthal P., et al. Interferon alfa therapy for chronic hepatitis B in children: a multinational randomized controlled trial. *Gastroenterology* 1998;114:988-95.
 156. Jara P., Bortolotti F. Interferon-alpha treatment of chronic hepatitis B in childhood: a consensus advice based on experience in European children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29:163-70.
 157. Torre D., Tambini R. Interferon-alpha therapy for chronic hepatitis B in children: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1996;23:131-7.
 158. Lampertico P., Del Ninno E., Manzin A., Donato M.F., Rumi M.G., Lunghi G., Morabito A., et al. A randomized, controlled trial of a 24-month course of interferon alfa 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. *Hepatology* 1997;26:1621-5.
 159. Fattovich G., Farci P., Rugge M., Brollo L., Mandas A., Pontisso P., Giustina G., et al. A randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon-alpha in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg. *Hepatology* 1992;15:584-9.
 160. Hadziyannis S., Bramou T., Makris A., Moussoulis G., Zignego L., Papaioannou C. Interferon alfa-2b treatment of HBeAg negative/serum HBV DNA positive chronic active hepatitis type B. *J Hepatol* 1990;11(Suppl. 1):S133-6.
 161. Pastore G., Santantonio T., Milella M., Monno L., Mariano N., Moschetta R., Pollice L. Anti-HBe-positive chronic hepatitis B with HBV-DNA in the serum response to a 6-month course of lymphoblastoid interferon. *J Hepatol* 1992;14:221-5.
 162. Oliveri F., Santantonio T., Bellati G., Colombatto P., Mels G.C., Carriero L., Dastoli G., et al. Long term response to therapy of chronic anti-HBe-positive hepatitis B is poor independent of type and schedule of interferon. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1366-72.
 163. Papatheodoridis G.V., Manesis E., Hadziyannis S.J. Long-term follow up after initial response to interferon therapy in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B (abstract). *Hepatology* 2000;32:378A.
 164. Papatheodoridis G.V., Manesis E., Hadziyannis S.J. The long-term outcome of interferon-alfa treated and untreated patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2001;34:306-13.
 165. Carreno V., Marcellin P., Hadziyannis S., Salmeron J., Diago M., Kitis G.E., Vafiadis I., et al. Retreatment of chronic hepatitis B e antigen-positive patients with recombinant interferon alfa-2a. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999;30:277-82.
 166. Perrillo R., Tamburro C., Regenstein F., Balart L., Bodenheimer H., Silva M., Schiff E., et al. Low-dose, titratable interferon alfa in decompensated liver disease caused by chronic infection with hepatitis B virus. *Gastroenterology* 1995;109:908-16.
 167. Hoofnagle J.H., Di Bisceglie A.M., Waggoner J.G., Park Y. Interferon alfa for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;104:1116-21.
 168. Saracco G., Mazzella G., Rosina F., Cancellieri C., Lattore V., Raise E., Rocca G., et al. A controlled trial of human lymphoblastoid interferon in chronic hepatitis B in Italy. *Hepatology* 1989;10:336-41.
 169. Scully L.J., Shein R., Karayiannis P., McDonald J.A., Thomas H.C. Lymphoblastoid interferon therapy of chronic HBV infection. A comparison of 12 vs. 24 weeks of thrice weekly treatment. *J Hepatol* 1987;5:51-8.
 170. Janssen H.L., Gerken G., Carreno V., Marcellin P., Naoumov N.V., Craxi A., Ring-Larsen H., et al. Interferon alfa for chronic hepatitis B infection: increased efficacy of prolonged treatment. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999;30:238-43.
 171. Cohard M., Poynard T., Mathurin P., Zarski J.P. Prednisone-interferon combination in the treatment of chronic hepatitis B: direct and indirect meta-analysis. *Hepatology* 1994;20:1390-8.
 172. Krogsgaard K., Marcellin P., Trepo C., Berthelot P., Sanchez-Tapias J.M., Bassendine M., Tran A., et al. Prednisolone withdrawal therapy enhances the effect of human lymphoblastoid interferon in chronic hepatitis B. INTERPRED Trial Group. *J Hepatol* 1996;25:803-13.
 173. Wong J.B., Koff R.S., Tine F., Pauker S.G. Cost-effectiveness of interferon-alpha 2b treatment for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med* 1995;122:664-75.
 174. Lok A.S., Chung H.T., Liu V.W., Ma O.C. Long-term follow-up of chronic hepatitis B patients treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1993;105:1833-8.
 175. Korenman J., Baker B., Waggoner J., Everhart J.E., Di Bisceglie A.M., Hoofnagle J.H. Long-term remission of chronic hepatitis B after alpha-interferon therapy. *Ann Intern Med* 1991;114:629-34.
 176. Krogsgaard K. The long-term effect of treatment with interferon-alpha 2a in chronic hepatitis B. The Long-Term Follow-up Investigator Group. The European Study Group on Viral Hepatitis (EUROHEP). Executive Team on Anti-Viral Treatment. *J Viral Hepat* 1998;5:389-97.
 177. Carreno V., Castillo I., Molina J., Porres J.C., Bartolome J. Long-term follow-up of hepatitis B chronic carriers who responded to interferon therapy. *J Hepatol* 1992;15:102-6.
 178. Fong T.L., Di Bisceglie A.M., Gerber M.A., Waggoner J.G., Hoofnagle J.H. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology* 1993;18:1313-8.
 179. Bortolotti F., Jara P., Barbera C., Gregorio G.V., Vegnente A., Zancan L., Hierro L., et al. Long term effect of alpha interferon in children with chronic hepatitis B. *Gut* 2000;46: 715-8.
 180. Dienstag J.L., Schiff E.R., Wright T.L., Perrillo R.P., Hann H.W., Goodman Z., Growther L., et al. Lamivudine as Initial Treatment for Chronic Hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999;341: 1256-63.
 181. Lai C.L., Chien R.N., Leung N.W., Chang T.T., Guan R., Tai D.I.,

- Ng K.Y., et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:61-8.
182. Schalm S.W., Heathcote J., Cianciara J., Farrell G., Sherman M., Willem B., Dhillon A., et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 2000;46:562-8.
183. Liaw Y.F., Leung N.W.Y., Chang T.T., Guan R., Tai D.I., Ng K.Y., Chien R.N., et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;119:172-80.
184. Leung N.W.Y., Lai C.L., Chang T.T., Guan R., Lee C.M., Ng K.Y., Wu P.C., et al. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001;33:1527-32.
185. Chang T.T., Lai C.L., Liaw Y.F., Guan R., Lim S.G., Lee C.M., Ng K.Y., et al. Incremental increases in HBeAg seroconversion and continued ALT normalization in Asian chronic HBV (CHB) patients treated with lamivudine for four years (abstract). *Antiviral Therapy* 2000;5(Suppl. 1):44.
186. Chien R.N., Liaw Y.F., Atkins M. Pretherapy alanine transaminase level as a determinant for hepatitis B e antigen seroconversion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Asian Hepatitis Lamivudine Trial Group. Hepatology* 1999;30:770-4.
187. Perrillo R.P., Schalm S.W., Schiff E.R., Brown N.A., Woessner M.A., Sullivan M. Predictors of HBsAg seroconversion in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine (abstract). *Hepatology* 1999;30:317A.
- 187a. Sokal E.M., Kelly D., Mizerski J., Badia L., Areias J., Schwarz K., Little N., Bell S., Greensmith M.J., Jonas M. An international double-blind placebo-controlled trial of lamivudine in 286 children with chronic hepatitis B (CHB). *J Hepatol* 2001;34(Suppl. 1):23A.
188. Tassopoulos N.C., Volpes R., Pastore G., Heathcote J., Buti M., Goldin R.D., Hawley S., et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. Lamivudine Precore Mutant Study Group. *Hepatology* 1999;29:889-96.
189. Santantonio T., Mazzola M., Iacovazzi T., Miglietta A., Guastadisegni A., Pastore G. Long-term follow-up of patients with anti-HBe/HBV DNA-positive chronic hepatitis B treated for 12 months with lamivudine. *J Hepatol* 2000;32:300-6.
190. Lok A.S.F., Hussain M., Cursano C., Margotti M., Gramenzi A., Grazi G.L., Jovine E., et al. Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. *Hepatology* 2000;32:1145-53.
191. Hadziyannis S.J., Papatheodoridis G.V., Dimou E., Laras A., Papaioannou C. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000;32:847-51.
192. Lau D.T., Khokhar M.F., Doo E., Ghany M.G., Herion D., Park Y., Kleiner D.E., et al. Long-term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine. *Hepatology* 2000;32:828-34.
193. Rizzetto M., Volpes R., Smedile A. Response of pre-core mutant chronic hepatitis B infection to lamivudine. *J Med Virol* 2000;61:398-400.
194. Tassopoulos N.C., Volpes R., Pastore G., Heathcote J., Buti M., Gray D.F., Barber J., et al. Post lamivudine treatment follow-up of patients with HBeAg negative chronic hepatitis B (abstract). *J Hepatol* 1999;30(Suppl. 1):117.
195. Schiff E., Karayalcin S., Grimm I., Perrillo R., Dienstag J., Husa P., Schalm S., et al. A placebo controlled study of lamivudine and interferon alpha 2b in patients with chronic hepatitis B who previously failed interferon therapy (abstract). *Hepatology* 1998;28:388A.
196. Perrillo R.P., Wright T., Rakela J., Levy G., Schiff E., Gish R., Martin P., et al. A multicenter United States-Canadian trial to assess lamivudine monotherapy before and after liver transplantation for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001;33:424-32.
197. Villeneuve J.P., Condreay L.D., Willems B., Pomier-Layrargues G., Fenyyes D., Bilodeau M., Leduc R., et al. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000;31:207-10.
198. Yao F.Y., Bass N.M. Lamivudine treatment in patients with severely decompensated cirrhosis due to replicating hepatitis B infection. *J Hepatol* 2000;33:301-7.
199. Fontana R.J., Perrillo R., Hann H.W.L., Wright T., Rakela J., Bacon B.R., Anshuetz G., et al. Determinants of survival in 133 patients with decompensated chronic hepatitis B treated with lamivudine (abstract). *Hepatology* 2000;32:221A.
200. Schiff E., Cianciara J., Karayalcin S., Kowdley K., Woessner M., McMullen S., Pearce M., et al. Durable HBeAg and HBsAg seroconversion after lamivudine for chronic hepatitis B (abstract). *J Hepatol* 2000;32(Suppl. 2):99.
201. Song E.C., Suh D.J., Lee H.C., Chung Y.H., Lee Y.S. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology* 2000;32:803-6.
202. Alien M.I., Deslauriers M., Andrews C.W., Tipples G.A., Walters K.A., Tyrrell D.L., Brown N., et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *Hepatology* 1998;27:1670-7.
203. Stuyver L.J., Locarnini S.A., Lok A., Richman D.D., Carman W.F., Dienstag J.L., Schinazi R.F., et al. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001;33:751-7.
204. Liaw Y.F., Chien R.N., Yeh C.T., Tsai S.L., Chu C.M. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999;30:567-72.
205. Bartholomew M.M., Jansen R.W., Jeffers L.J., Reddy K.R., Johnson L.C., Bunzendahl H., Condreay L.D., et al. Hepatitis-B-virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. *Lancet* 1997;349:20-2.
206. Tipples G.A., Ma M.M., Fischer K.P., Bain V.G., Kneteman N.M., Tyrrell D.L. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996;24:714-7.
207. Melegari M., Scaglioni P.P., Wands J.R. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology* 1998;27:628-33.
208. Ono-Nita S.K., Kato N., Shiratori Y., Masaki T., Lan K.H., Carrilho F.J., Omata M. YMDD motif in hepatitis B virus DNA polymerase influences on replication and lamivudine resistance: A study by in vitro full-length viral DNA transfection. *Hepatology* 1999;29:939-45.
209. Dienstag J.L., Perrillo R.P., Schiff E.R., Bartholomew M., Vicary C., Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1995;333:1657-61.
210. Lai C.L., Ching C.K., Tung A.K., Li E., Young J., Hill A., Wong B.C., et al. Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 1997;25:241-4.
211. Honkoop P., de Man R.A., Niesters H.G., Zondervan P.E., Schalm S.W. Acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection after withdrawal of lamivudine therapy. *Hepatology* 2000;32:635-9.
212. De Man R.A., Marcellin P., Habal F., Desmond P., Wright T., Rose T.,

- Jurewicz R., et al. A randomized, placebo-controlled study to evaluate the efficacy of 12-month famciclovir treatment in patients with chronic hepatitis B e antigen-positive hepatitis B. *Hepatology* 2000;32:413-7.
213. Aye T.T., Bartholomeusz A., Shaw T., Bowden S., Breschkin A., McMillan J., Angus P., et al. Hepatitis B virus polymerase mutations during antiviral therapy in a patient following liver transplantation. *J Hepatol* 1997;26:1148-53.
214. Heathcote E.J., Jeffers L., Wright T., Sherman M., Perrillo R., Sacks S., Carithers R., et al. Loss of serum HBV DNA and HBeAg and seroconversion following short-term (12 weeks) adefovir dipivoxil therapy in chronic hepatitis B: two placebo controlled phase II studies (abstract). *Hepatology* 1998;28:317A.
215. Xiong X., Flores C., Yang H., Toole J.J., Gibbs C.S. Mutations in hepatitis B DNA polymerase associated with resistance to lamivudine do not confer resistance to adefovir in vitro. *Hepatology* 1998;28:1669-73.
216. Perrillo R., Schiff E., Yoshida E., Statler A., Hirsch K., Wright T., Gutfreund K., et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 2000;32:129-34.
217. Gish R.G., Leung N.W.Y., Wright T.L., Trinh H., Robertson A.T., Harris J.J., Delehanty J.T., et al. Anti-hepatitis B virus (HBV) activity and pharmacokinetics of FTC in a 2 month trial in HBV infected patients (abstract). *Gastroenterology* 1999;116:A1216.
218. De Man R., Wolters L., Nevens F., Chua D., Sherman M., Lai C.L., Thomas N., et al. A study of oral entecavir given for 28 days in both treatment-naïve and pre-treated subjects with chronic hepatitis (abstract). *Hepatology* 2000;32:376A.
219. Ono-Nita S.K., Kato N., Shiratori Y., Yoshida H., Kato J., Goto T., Schinazi R.F., et al. Influence of B domain mutation (L528M) of the hepatitis B virus polymerase on replication ability and resistance to nucleoside analogues (abstract). *Hepatology* 2000;32:393A.
220. Andreone P., Cursaro C., Gramenzi A., Zavaglia C., Rezakovic I., Altomare E., Severini R., et al. A randomized controlled trial of thymosin-alpha 1 versus interferon alfa treatment in patients with hepatitis B e antigen antibody- and hepatitis B virus DNA-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 1996;24:774-7.
221. Chien R.N., Liaw Y.F., Chen T.C., Yeh C.T., Sheen I.S. Efficacy of thymosin alpha 1 in patients with chronic hepatitis B: a randomized, controlled trial. *Hepatology* 1998;27:1383-7.
222. Mutchnick M.G., Lindsay K.L., Schiff E.R., Cummings G.D., Appelman H.D., Peleman R.R., Silva M., et al. Thymosin alpha 1 treatment of chronic hepatitis B: results of a phase III multicentre, randomized, double-blind and placebo-controlled study. *J Viral Hepat* 1999;6:397-403.
223. Zavaglia C., Severini R., Tinelli C., Franzone J.S., Airolidi A., Tempini S., Bettale G., et al. A randomized, controlled study of thymosin-alpha 1 therapy in patients with anti-HBe, HBV-DNA-positive chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci* 2000;45:690-6.
224. Lau G.K., Tsiang M., Hou J., Yuen S., Carman W.F., Zhang L., Gibbs C.S., et al. Combination therapy with lamivudine and famciclovir for chronic hepatitis B-infected Chinese patients: a viral dynamics study. *Hepatology* 2000;32:394-9.
225. Rosina F., Pintus C., Meschievitz C., Rizzetto M. A randomized controlled trial of a 12-month course of recombinant human interferon-alpha in chronic delta (type D) hepatitis: a multicenter Italian study. *Hepatology* 1991;13:1052-6.
226. Farci P., Mandas A., Coiana A., Lai M.E., Desmet V., Van Eyken P., Gibo Y., et al. Treatment of chronic hepatitis D with interferon alfa-2a. *N Engl J Med* 1994;330:88-94.
227. Farci P., Chessa L., Peddis G., Strazzera R., Pascariello E., Scioscia R., Lai M.E., et al. Influence of alfa interferon on the natural history of chronic hepatitis D: dissociation of histologic and virologic response (abstract). *Hepatology* 2000;32:222A.
228. Lau D.T., Doo E., Park Y., Kleiner D.E., Schmid P., Kuhns M.C., Hoofnagle J.H. Lamivudine for chronic delta hepatitis. *Hepatology* 1999;30:546-9.

Краткие правила для авторов

(Полная версия правил публикуется в 1-м номере каждого тома журнала)

Материалы для публикации в журнале следует отправлять по адресу:

125284, г. Москва, а/я 74,

редакция журнала

«Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия»

или (предпочтительно) по электронной почте на адрес smac@antibiotic.ru

Требования к представляемым рукописям

Краткое изложение технических требований:

– печатайте все разделы рукописи через 2 интервала между строками;

– все страницы должны быть последовательно пронумерованы;

– представляйте материалы в следующем порядке: титульная страница, резюме и ключевые слова, основной текст, выражения признательности, список литературы, таблицы (каждая на отдельном листе), рисунки (каждый на отдельном листе);

– рукопись должна содержать разрешение на воспроизведение ранее опубликованного материала и на использование иллюстраций, позволяющих опознать изображенных на них людей;

– к рукописи должен быть приложен документ, подтверждающий передачу права на публикацию;

– обязательно укажите контактный адрес с указанием фамилии и полного имени и отчества контактного лица.

Титульная страница должна содержать:

1) название статьи;

2) фамилию и инициалы каждого автора с указанием учреждения;

3) фамилию, имя, отчество и адрес автора, ответственного за ведение переписки, связанной со статьей.

Вторая страница

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

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

Этические вопросы

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

Статистика

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

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

Список литературы

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

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

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

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

Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Статьи в журналах

1. *Стандартная журнальная статья*

Если в статье не более 6 авторов, то указываются все авторы:

Vega K.J., Pina I., Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124(11):980-3.

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

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

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

2. *Организация в качестве автора*

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

3. *Автор не указан*

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

4. *Статья написана не на английском языке*

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

Отечественные статьи указываются на русском языке.

5. *Том с приложением*

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

6. *Номер с приложением*

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

7. *Том, разделенный на части*

Ozben T., Nacitarhan S., Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus.

Ann Clin Biochem 1995; 32 (Pt 3): 303-6.

8. *Номер, разделенный на части*

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

9. *Журнал, номера которого не объединяются в тома*

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

10. *Журнал без деления на тома или номера*

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

11. *Нумерация страниц римскими цифрами*

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

12. *Тип статьи, указываемый при необходимости*

Enzensberger W., Fisher P.A. Metronome in Parkinson's disease [letter]. *Lancet* 1996; 347:1337.

Clement J., De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [abstract]. *Kidney Int* 1992; 42:1285.

13. *Статья, содержащая опровержение*

Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. In: *Nat Genet* 1994; 6:426-31] *Nat Genet* 1995; 11:104.

14. *Статья с опубликованным впоследствии опровержением*

Liou G.I., Wang M., Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retracted in *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:3127]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:1083-8.

15. *Статья с последующим опубликованием исправленной части или списка опечаток*

Hamlin J.A., Kahn A.M. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [published erratum appears in *West J Med*

1995; 162:278]. *West J Med* 1995; 162:28-31.

Книги и другие монографии

16. *Физические лица в качестве авторов*

Ringsven M.K., Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

17. *Редакторы, составители в качестве авторов*

Norman I.J., Redfem S.J., editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

18. *Организация в качестве автора и издателя*

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

19. *Глава в книге*

Phillips S.J., Whisnant J.P. Hypertension and stroke. In: Laragh J.H., Brenner B.M., editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

20. *Материалы конференции*

Kimura J., Shibasaki H., editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

21. *Доклад на конференции*

Bengtsson S., Solheim B.G. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun K.C., Degoulet P., Piemme T.E., Rienhoff O., editors. MED-INFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North Holland; 1992. p. 1561-5.

22. *Научный или технический отчет*

Изданный финансирующей организацией:

Smith P., Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSI-GOEI69200860.

Изданный исполняющей организацией:

Field M.J., Tranquada R.E., Feasley J.C., editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

23. Диссертация

Kaplan S.J. Posthospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

24. Патент

Larsen C.E., Trip R., Johnson C.R., inventors; No-voste Corporation, assignee. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Другие опубликованные материалы

25. Газетная статья

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50 000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

26. Аудио- и видеоматериалы

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

27. Юридические материалы

Публичное право:

Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

Законопроект:

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1st Sess. (1995).

Кодекс Федеральных правил:

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.25.7 (1995).

Материалы слушания:

Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms:

Hearings Before the subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm.

on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).

28. Карта

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [demographic map]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.

29. Библия

The Holy Bible. King James Version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

30. Словари и аналогичные издания

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119-20.

31. Классическая литература

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Неопубликованные материалы

32. В печати

Примечание: вместо формулировки «в печати» НМБ предпочитает формулировку «готовится к выходу», так как не все статьи будут напечатаны.

Leshner A.I. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. In press 1996.

Электронные материалы

33. Журнальная статья в электронном формате

Morse S.S. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

34. Монография в электронном формате

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD ROM]. Reeves J.P.T., Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed.

Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

35. Компьютерный файл

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Таблицы и рисунки

Печатайте каждую таблицу/рисунок на отдельном листе.

Все таблицы/рисунки должны быть озаглавлены и пронумерованы в порядке первого упоминания в тексте. Все разъяснения следует помещать в примечаниях (сносках), а не в названии таблицы/рисунка.

Убедитесь, что все таблицы/рисунки упомянуты в тексте.

Если Вы используете данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, получите на это разрешение и полностью приведите источник.

Единицы измерения

Измерения длины, высоты, ширины и объема должны представляться в метрических единицах (метр, килограмм, литр) или в их десятичных долях.

Температуру следует приводить в градусах Цельсия, а артериальное давление – в миллиметрах ртутного столба.

Все гематологические и биохимические показатели должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – SI).

Сокращения и символы

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