

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 4200 экз.

Подписные индексы:

38290 – для индивидуальных
подписчиков

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

Адрес для корреспонденции:

125284, г. Москва, а/я 74,
редакция журнала
«Клиническая микробиология
и антимикробная химиотерапия»
Тел./факс: (095)263-5372,
946-0716

Адрес электронной почты:

ctac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала
находится в Интернете
на веб-сайтах
www.antibiotic.ru/ctac
www.microbiology.ru/ctac

Присланные в редакцию статьи
рецензируются

Ответственность за достоверность
рекламных публикаций несут
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал
обязательна

© Клиническая микробиология
и антимикробная химиотерапия

Содержание

Болезни и возбудители

Ю.В. Лобзин, С.М. Захаренко, Г.А. Иванов – Современные
представления об инфекции *Clostridium difficile*200

И.В. Смоленов, Я.Г. Алексеева, Н.А. Смирнов –
Роль неантибактериальных лекарственных средств
в лечении пневмонии233

Л.В. Брегель, В.М. Субботин, Ю.М. Белозеров –
Этиология болезни Кавасаки239

Г.Я. Ценева, Н.Ю. Солодовникова, Е.А. Воскресенская – Молекулярные
аспекты вирулентности иерсиний248

Антибиотикорезистентность

Р.С. Козлов, О.И. Кречикова, О.В. Сивая, Л.И. Ахметова, Л.А. Вишнякова,
Е.Н. Гугуцидзе, В.Н. Ильина, Л.К. Катосова, В.А. Курчавов, В.Б. Кузин,
Н.Е. Марусина, Е.А. Молодова, И.Г. Мултых, А.Л. Павлов,
А.И. Синопальников, И.В. Смирнов, Ю.Г. Тихонов,
М.Е. Фаустова, В.А. Ларченко, Л.С. Страчунский – Антимикробная
резистентность *Streptococcus pneumoniae* в России:
результаты проспективного многоцентрового исследования
(фаза А проекта ПеГАС-I)267

Антимикробная терапия

Х. Гарау – Основы рационального выбора антимикробных
препаратов при интраабдоминальных инфекциях (Лекция)278

Т. Маццеи – Индивидуализация применения антибиотиков
в отделениях реанимации и интенсивной терапии (Лекция)288

Информация

Краткие правила для авторов294

Главный редактор:
Синопальников А.И. Москва

Исполнительный директор:
Пискунов Г.Г. Москва

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

Ответственный секретарь: Дехнич А.В.

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

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

Редактор номера:
Ляшенко Н.И. Москва

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

Production Manager:
Piskunov G.G. Moscow

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

Editorial Manager: Dekhnich A.V.

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

International Editorial Council:
Acar J. Paris, France
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

Editor of Issue:
Ljashenko N.I. Moscow

ISSN 1684-4386

Clinical
Microbiology and
Antimicrobial
Chemotherapy

Volume 4, No 3, 2002

Journal of Interregional Association
for Clinical Microbiology
and Antimicrobial Chemotherapy

Publisher:
«Ltd. Publishing House «M-Vesti»

Journal is registered by
Russian Committee
on Press and Mass Media
30 September 1999 (No 019273)
Print run 4,200

Corresponding Address:
Journal «Clinical Microbiology
and Antimicrobial Chemotherapy»,
125284, Moscow, Russia, PO Box 74
Tel./Fax: +7 095 263-5372
Email: cmac@antibiotic.ru

Internet address:
www.antibiotic.ru/cmac
www.microbiology.ru/cmac

Peer reviewed

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

All rights reserved

Proper citation is required

Contents

Diseases and Pathogens

- Yu.V. Lobzin, S.M. Zakharenko, G.A. Ivanov* – Current understanding
of *Clostridium difficile* infection200
- I.V. Smolenov, Ya.G. Alekseeva, N.A. Smirnov* – The Role
of Non-Antimicrobial Drugs in the Treatment of Pneumonia233
- L.V. Bregel, V.M. Subbotin, Yu.M. Belozеров* – Aetiology of Kawasaki
Disease239
- G.Ya. Tseneva, N.Yu. Solodovnikova, E.A. Voskresenskaya* – Molecular
Aspects of *Yersinia* Virulence248

Antimicrobial Resistance

- R.S. Kozlov, O.I. Kretchikova, O.V. Sivaya, L.I. Akhmetova,
L.A. Vishnyakova, E.N. Gugutsidze, V.N. Ilyina, L.K. Katosova,
V.A. Kurchavov, V.B. Kuzin, N.E. Marusina, E.A. Molodova, I.G. Mulykh,
A.L. Pavlov, A.I. Sinopalnikov, I.V. Smirnov, Yu.G. Tikhonov, M.E. Faustova,
V.A. Larchenko, L.S. Stratchounski* – Antimicrobial Resistance
of *Streptococcus pneumoniae* in Different Regions of Russia:
Results of Prospective Multicentre Study (phase A of project PeHAS-I) ..267

Antimicrobial Therapy

- J. Garau* – Bases for the Rational Choice of Antimicrobials
in the Treatment of Intra-abdominal Infections (Lecture)278
- T. Mazzei* – Individualization of Usage of Antimicrobials in Intensive
Care Units (Lecture)288

Information

- Instructions for Authors294

УДК 616.98:579.852.13

Современные представления об инфекции *Clostridium difficile*

Ю.В. Лобзин, С.М. Захаренко, Г.А. Иванов

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Clostridium difficile является основным возбудителем нозокомиальной диареи, связанной с назначением антимикробных препаратов. Однако данной проблеме в нашей стране не уделяется достаточного внимания. В настоящем обзоре литературы рассмотрены вопросы эпидемиологии *C. difficile*-инфекции, особенности взаимодействия *C. difficile* с макроорганизмом и роль факторов патогенности. Описаны клинические формы *C. difficile*-ассоциированных болезней: от бессимптомного носительства до псевдомемб-

ранозного колита. Дана сравнительная характеристика методов диагностики инфекции *C. difficile*. Изложены основные современные принципы лечения манифестных форм инфекции. Большое внимание уделено вопросам специфической терапии и проведения мероприятий по восстановлению микробиоценоза кишечника.

Ключевые слова: *C. difficile*, антибиотикоассоциированная диарея, антибактериальная терапия, *C. difficile*-ассоциированная диарея, псевдомембранозный колит.

Current Understanding of *Clostridium difficile* Infection

Yu.V. Lobzin, S.M. Zakharenko, G.A. Ivanov

Academy of Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia

At the present time *Clostridium difficile* is the main causative pathogen of nosocomial diarrhea, that linked to the use of antimicrobials. But at the same time there is an unjustified little attention paid to this problem in Russia. In the present literature review the following topics are described in details: the epidemiology of *C. difficile*-infection; the microorganism – macroorganism interaction and the role of dif-

ferent factors of pathogenesis; the clinical manifestation of different *C. difficile*-associated pathologies; the comparative characteristic of different methods for the diagnosis of *C. difficile*-infection; recent approaches to the therapy of this infection.

Key words: *C. difficile*, antibiotic-associated diarrhea, antibacterial therapy, *C. difficile*-associated diarrhea, pseudomembranous colitis.

Контактный адрес:
Юрий Владимирович Лобзин
Факс: (812) 329-71-65
Эл. почта: ylob@mail.admiral.ru

Введение

Истинное число случаев острой инфекционной диареи не совпадает с официально регистрируемой заболеваемостью и на порядок превосходит количество обращений за медицинской помощью по данному поводу. По оценке W.E. Garthright и соавт., в США ежегодно регистрируются 25–99 млн случаев острых диарейных заболеваний, вызванных инфекционными причинами [1].

По данным Центра Госсанэпиднадзора Санкт-Петербурга, острые кишечные инфекции в структуре госпитальных инфекций занимают второе место после гнойно-септических инфекций и составляют 0,74 на 1000 выписанных пациентов [2].

Анализ заболеваемости и смертности, проведенный в США, показал, что летальность от протозойных и вирусных диарей и диарей неустановленной этиологии с 1980 по 1992 г. оставалась относительно постоянной. В то же время летальность от диарей бактериальной этиологии возросла более чем на 60%: с 0,06 на 100 000 населения в 1980 г. до 0,104 в 1994 г. ($p < 0,00001$). При этом рост летальности за счет «прочих бактериальных возбудителей» был наиболее значительным – от 0,0102 на 100 000 населения до 0,0821 ($p < 0,000001$).

Анализ структуры заболеваемости и летальности от «прочих бактериальных диарей» в период 1993–1996 гг. в штате Нью-Мехико показал, что в 73% случаев этиологическим агентом служила *C. difficile*. В выданных в штате Вашингтон в 1985–1996 гг. свидетельствах о случаях смерти, связанных с диареями, вызванными «прочими бактериальными агентами», возбудителем в 88% была *C. difficile* [3].

Статистические данные о частоте инфекции *C. difficile* официально признаются неточными, поскольку значительное количество внутри- и внебольничных диарей, связанных с применением антибактериальных препаратов, не регистрируется. С другой стороны, не во всех случаях расшифровывается их этиология.

C. difficile в настоящее время признается в качестве одного из наиболее частых возбудителей антибиотикоассоциированных диарей (ААД) и колита, микроорганизмом, ответственным за развитие подавляющего большинства случаев антибиотикоассоциированного псевдомембранозного колита (ПМК). Необходимо отметить, что *C. difficile* – не единственная причина ААД, хотя и является наиболее изученной [4].

Данные о частоте *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в разных странах различны. Однако очевидно, что широкое и неконтролируемое приме-

нение антибиотиков будет приводить к увеличению их числа.

ААД – одно из осложнений лечения антибиотиками, встречается у 5–25% пациентов, получающих эти препараты [5]. Частота развития ААД зависит от используемых препаратов, влияния различных факторов риска и отмечается в ортопедических, акушерско-гинекологических, хирургических и других стационарах, отделениях трансплантации и у пациентов, получающих лечение амбулаторно [6].

ААД – полиэтиологическое состояние, обусловлено в 15–25% случаев *C. difficile* [7].

Отсутствие отечественных диагностических систем, питательных сред для выделения *C. difficile* и их высокая стоимость являются одной из причин «низкой» частоты регистрации этой инфекции в нашей стране и, как следствие, недостаточного внимания, уделяемого столь важному вопросу [8, 9]. Вместе с тем число зарегистрированных случаев инфекции *C. difficile* составляет в разных странах от десятков тысяч до нескольких миллионов в год [3, 10–13]. Именно это обстоятельство и обуславливает необходимость выделения инфекции *C. difficile* из группы «прочих бактериальных диарей» в самостоятельную проблему, требующую тщательного изучения и контроля.

История вопроса

Впервые ПМК описан в 1893 г. J.M. Finney [14]. У 22-летней пациентки на 10-е сутки после операции на желудке развилась тяжелая кровянистая диарея, приведшая к летальному исходу. Обнаруженные при патологоанатомическом исследовании изменения в кишечнике были описаны как «дифтеритический колит».

До начала эры антибиотиков ПМК оставался относительно редким заболеванием. Ежегодно регистрировалось 3–4 его случая после обширных операций. Однако диагноз у таких больных устанавливался только на аутопсии по характерным изменениям в кишечнике [8].

С началом эры антибиотиков число больных ПМК стало заметно увеличиваться.

В 1948 г. появилось описание случая, связанного с гибелью грудного ребенка в результате энтерита, развившегося после перорального применения стрептомицина. Этиологическим фактором тогда был назван *Staphylococcus aureus*. Позднее I.L. Bennet и соавт. повторно исследовали образцы материала, полученного J.M. Finney, в которых обнаружили «большое количество грамположительных кокков» [15].

В 50–60-х годах стали появляться сообщения о развитии стафилококкового энтероколита, этиоло-

гия которого подтверждалась выделением *S. aureus* из фекалий и патогистологического материала, полученных от пациентов с ААД. В нескольких исследованиях *S. aureus* был выделен из псевдомембран кишечника.

На основании результатов этих исследований, совпавших с периодом широкого распространения антибактериальной терапии, золотистый стафилококк был признан этиологической причиной этого состояния [16, 17]. Однако другие исследования, в которых *S. aureus* обнаруживался в испражнениях лишь у незначительного числа пациентов с псевдомембранозным энтероколитом, опровергали стафилококковую теорию. Постепенно с конца 60-х годов, а также в связи с описанием в 1977 г. *C. difficile* в качестве основного возбудителя *антибиотикоассоциированного колита* (ААК), понятие «антибиотикоассоциированная стафилококковая диарея» фактически исчезло из медицинской литературы [18].

С середины 70-х годов акцент в медицинских публикациях стали делать на установлении связи между увеличением числа случаев диареи и ПМК и использованием определенных антибиотиков. Так, по данным разных авторов, частота клондамицин-ассоциированной диареи составляла от 7 до 21%, а диареи, связанной с применением ампициллина, – 4–17% [19, 20, 21].

В 1974 г. F.J. Tedesco и соавт., по результатам проспективного клинического исследования, выделили состояние, получившее название «клондамицин-ассоциированный колит» [22]. Из 200 пациентов, получавших клондамицин, у 42 (21%) развилась диарея, а у 20 (10%) – клиническая картина ПМК, подтвержденного при эндоскопическом исследовании.

Несмотря на относительную простоту методов выделения *S. aureus*, результаты культурального исследования клинического материала (псевдомембраны, мазки со слизистой оболочки кишечника, испражнения) оказались отрицательными. Пятью годами позже в фекалиях, сохраненных после этого исследования, и в пробе культуры тканей был обнаружен токсин *C. difficile* [22].

Первым, наиболее полным исследованием токсинов *C. difficile* стала работа S. Hafiz, опубликованная в 1974 г. [23]. Оказалось, что этот микроорганизм широко распространен в природе и выделяется из испражнений животных. Большинство изученных штаммов клостридий вырабатывали токсин, приводивший к летальному исходу.

Роль бактериальных токсинов в развитии ПМК впервые предположили Н.Е. Larson и соавт.: копрофильрат, полученный от пациентов с доказанным ПМК, обладал цитопатическим эффектом в культу-

ре клеток HeLa, клеток почек макак резус и эмбриональных фибробластов легких человека [27]. Вскоре после появления этого сообщения сразу несколько других исследовательских групп подтвердили данное наблюдение [24].

В 1977 г. J.G. Bartlett и соавт. опубликовали результаты экспериментов на животных с клондамицин-ассоциированным энтероколитом. Они установили следующие факты:

1) материал из слепой кишки сирийских хомячков с ААК содержал фильтрующийся белковый токсин, вызывавший цитопатический эффект в культуре клеток и воспроизводивший типичные поражения при его введении здоровым животным;

2) бульонная культура клостридий и ее фильтрат вызывали при введении лабораторным животным синдромосходное заболевание;

3) развивавшийся при введении фильтрата эффект мог быть нейтрализован антисывороткой, содержащей антитела к возбудителю газовой гангрены *Clostridium perfringens*.

В то же время *C. difficile* и ее цитотоксин были выделены у всех хомячков с ААК и практически у всех пациентов с ПМК [25].

Примерно в это же время G.D. Rifkin и соавт. показали, что копрофильраты, полученные от пациентов с ПМК, приводили к летальному исходу при введении их хомячкам. Они вызывали у кроликов отек, геморрагические изменения и повышение проницаемости сосудов при инокуляции в кожу. Кроме того, наблюдаемый в культуре клеток цитотоксический эффект может быть нейтрализован антитоксической сывороткой против *Clostridium sordellii* [26].

Спустя 7 мес после собственного наблюдения Н.Е. Larson и соавт. идентифицировали в образцах фекалий у 9 из 9 пациентов с ПМК и у 2 из 2 – с антибиотикоассоциированным неспецифическим колитом токсин, который нейтрализовался антитоксической сывороткой против *C. sordellii* [27]. В последние несколько лет многие исследователи подтвердили роль *C. difficile*, выделив токсигенные штаммы возбудителя из кишечника пациентов с ПМК.

В настоящее время выяснены многие вопросы патогенеза *C. difficile*-ассоциированных болезней. Но, как часто бывает в науке, исследования поставили перед учеными еще большее количество вопросов, требующих детального изучения. Известны лишь некоторые факторы, инициирующие процесс токсинообразования. Спорным является вопрос об эндо- и экзогенном характере инфекции, путях передачи возбудителя. Не нашли однозначного объяснения факты различной восприимчивости к токсинам *C. difficile* людей разных возрастных

групп. Вместе с тем решены практические вопросы лабораторной диагностики инфекции *C. difficile*, определены показания к терапии, разработаны схемы лечения.

Этиология и эпидемиология *C. difficile*-ассоциированных болезней

Характеристика возбудителя

C. difficile – грамположительная спорообразующая облигатно анаэробная бактерия. Факторами патогенности являются экзотоксины, вызывающие цитопатогенный и энтеротоксический эффекты.

Споры *C. difficile* устойчивы к воздействию физических и химических факторов, благодаря чему возбудитель способен длительное время выживать во внешней среде. Некоторые штаммы образуют тонкую капсулу, другие – структуры, подобные фимбриям. Тем не менее их роль в качестве факторов вирулентности остается недоказанной.

Для выделения *C. difficile* используется описанная W.L. George и соавт. питательная среда, приготовленная на основе яичного желтка и содержащая в качестве селективных компонентов циклосерин и цефокситин, подавляющие рост других микроорганизмов, а также фруктозу (CCFA) [28].

Данная среда является одновременно селективной и дифференциально-диагностической и позволяет определить *C. difficile* в исследуемом материале при условии, что плотность микробной популяции составляет не менее 6×10^{10} бактерий в 1 г фекалий [29]. Как и для большинства клостридий, рост *C. difficile* на агаре сопровождается образованием характерного запаха, описываемого как запах лошадиного помета.

Частота развития нозокомиальной диареи, связанной с *C. difficile*, значительно различается в разных регионах и даже стационарах и отделениях. Ежегодно в США регистрируются от 300 тыс. до 3 млн случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита [10], на территории Англии, в том числе Уэльса, – более 16 тыс. случаев [11].

По данным J. Wistrom и соавт., полученным при анализе историй болезни 2462 пациентов в 5 стационарах Швеции, частота ААД составила 4,9% (от 1,8 до 6,9% в различных центрах). В испражнениях 55,4% пациентов был обнаружен токсин В, продуцируемый *C. difficile* [12].

Инфекция *C. difficile* официально признается нозокомиальной. Подавляющее большинство ее случаев связано с экзогенным инфицированием пациентов во время пребывания в стационаре. Распространенность нозокомиальной *C. difficile*-ассоциированной диареи в каждом стационаре значи-

тельно зависит от применения антибиотиков, особенностей циркулирующих в учреждении штаммов возбудителя и критериев, используемых для определения ААД.

Так, частота *C. difficile*-ассоциированного колита у пациентов, госпитализированных по поводу острых заболеваний, по данным различных исследований, варьирует от 1 до 10 случаев на 1000 выписанных [30, 31]. По другим данным, частота клинически манифестных случаев инфекции *C. difficile* может варьировать от 0,3 до 22,5 на 1000 выписанных пациентов [32].

Внутрибольничные случаи инфекции *C. difficile* могут иметь как спорадический, так и эпидемический характер. При возникновении вспышки *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в стационарах или домах сестринского ухода ею могут быть охвачены от 16 до 29% от числа всех пациентов стационара [6].

Эпидемические вспышки наиболее характерны для отделений интенсивной терапии [33], хирургических [34], онкогематологических отделений [35], гериатрических центров, центров экстракорпоральной детоксикации и учреждений длительного ухода [36]. В отделениях трансплантологии частота *C. difficile*-ассоциированной диареи составляет 8,6 случаев на 1000 койко-дней [13]. По данным J. Wistrom и соавт., в неврологических и гериатрических отделениях частота ААД может составлять 6,7 и 7,1% случаев соответственно [12].

Инфекция *C. difficile* особенно широко распространена среди госпитализированных пациентов, нуждающихся в длительном уходе, и в тех лечебных учреждениях, где находится много лиц, восприимчивых к возбудителю вследствие частого использования антибиотиков, проводятся хирургические вмешательства или имеется большое количество других факторов риска, способствующих нарушению микроэкологии кишечника [37, 38].

Доказано, что не все штаммы *C. difficile* имеют одинаковое эпидемиологическое значение. Описаны многочисленные вспышки, вызванные наиболее широко распространенными штаммами. Так, в стационарах Великобритании приблизительно в 60% случаев выделяют один и тот же штамм, получивший название «*риботун*» 1 [39].

В другом исследовании установлено, что 44–65% случаев *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в 3 стационарах Японии, расположенных в различных отдаленных регионах, было вызвано одним и тем же штаммом (риботип smz) [40].

В одном многоцентровом эпидемиологическом исследовании на основании результатов молекулярного типирования, проводившемся с помощью

рестрикционного анализа, гель-электрофореза в пульсирующем поле и *полимеразной цепной реакции* (ПЦР), было установлено, что за вспышки инфекции *C. difficile*, наблюдавшихся более 10 лет в Бельгии, Франции и Бенине, ответственны значительно отличающиеся друг от друга штаммы возбудителя, принадлежащие к одной генетически стабильной серогруппе С [41].

Однако, несмотря на существование так называемых эпидемических штаммов, высокая частота *C. difficile*-ассоциированной диареи в определенных условиях не обязательно предполагает клональный характер вспышки. Так, в исследовании, проведенном в Новой Англии, была выявлена выраженная гетерогенность циркулирующей в госпитале популяции возбудителя. От 106 госпитализированных пациентов, включая бессимптомных носителей и пациентов с клинической картиной ААД, было выделено 55 различных типов *C. difficile* [42]. Возможность циркуляции в одном лечебном учреждении нескольких штаммов возбудителя может затруднять проведение эпидемиологического анализа [43].

Штаммы *C. difficile*, постоянно продуцирующие токсины А и В, и штаммы с варибельным токсинообразованием имеют различное эпидемиологическое значение. Эпидемические штаммы, как правило, продуцируют оба токсина, чем и отличаются от штаммов, выделенных из окружающей среды вне стационара [44].

Источники и пути передачи *C. difficile*

Инфицирование *C. difficile* может осуществляться как экзогенным (передача из внешних источников), так и эндогенным путем (активация собственной микрофлоры). Однако не вызывает сомнения тот факт, что предсуществующий эндогенный резервуар *C. difficile* не является обязательным условием развития клинически манифестных форм инфекции, и в подавляющем большинстве случаев возбудитель попадает в организм из внешней среды.

Наиболее значимые экзогенные источники *C. difficile* – лица с манифестными формами инфекции и бессимптомные носители, выделяющие возбудителя в окружающую среду. Инфицирование в большинстве случаев происходит в стационаре, объекты окружающей среды которого в первую очередь, а также медицинский персонал и пациенты являются вероятными источниками инфекции. В связи с этим, как уже указывалось, инфекция *C. difficile* считается преимущественно нозокомиальной [45, 46].

Внутрибольничное инфицирование может носить как спорадический, так и эпидемический характер [47], что зависит от политики применения

антибиотиков в конкретном лечебном учреждении, особенностей и характера чувствительности циркулирующих в нем штаммов возбудителя и степени реализации программы инфекционного контроля [48]. Для некоторых стационаров и домов сестринского ухода *C. difficile* может быть эндемичным возбудителем, что подтверждается рядом исследований, описывающих повторные нозокомиальные вспышки данной инфекции, вызванные одним штаммом [49, 36].

С.Р. Clabots и соавт. установили интересный факт, заключающийся в том, что пациенты, являющиеся уже при поступлении в лечебное учреждение носителями *C. difficile*, в недавнем прошлом находились на стационарном лечении [50]. Риск колонизации *C. difficile* значительно возрастает при поступлении пациента в лечебное учреждение с регистрируемым высоким уровнем манифестных форм болезней, вызванных *C. difficile*.

Частота колонизации *C. difficile* у госпитализированных пациентов прямо пропорциональна длительности пребывания пациента в стационаре – каждая последующая неделя увеличивает риск инфицирования на 8% [50].

Очевидно, что риск инфицирования и развития *C. difficile*-ассоциированных болезней значительно возрастает при пребывании в одной палате с пациентом, имеющим ААД или ААК или являющимся носителем токсигенных штаммов возбудителя.

Очень высокий показатель обнаружения в кале *C. difficile* (или одного из ее токсинов) отмечается у здоровых детей раннего возраста, особенно у новорожденных, составляя, по данным разных авторов, от 2 до 70%. Долгое время *C. difficile* считалась «безвредным» микроорганизмом, а именно после ее описания в 1935 г. как части нормальной кишечной микрофлоры у здоровых новорожденных [51].

Согласно R. Viscidi и соавт., с наибольшей частотой *C. difficile* выделяется от здоровых новорожденных – до 30%. При этом более 90% выделенных штаммов продуцируют токсин А. С возрастом частота носительства постепенно снижается и к концу первого года жизни составляет 9%, а количество токсинообразующих штаммов снижается до 50% [52]. Несмотря на высокий уровень носительства токсигенных штаммов, клинически манифестные формы болезней, вызываемых *C. difficile*, у детей практически не встречаются.

Одним из предполагаемых механизмов столь низкой чувствительности к патогену в этом возрасте является отсутствие высокоаффинных рецепторов к токсину А [53]. Установлено также, что *секреторный иммуноглобулин А* (SIgA), содержащийся в грудном молоке, способен связывать ток-

син А, вырабатываемый *C. difficile* [54], а также ингибировать его взаимодействие со специфическими рецепторами кишечного эпителия [55].

Вместе с тем появились данные, свидетельствующие о том, что наряду с другими микроорганизмами *C. difficile* может служить причиной синдрома внезапной смерти новорожденных, возникающего в результате абсорбции токсинов в кишечнике, приводящей к развитию инфекционно-токсического шока [56].

У здоровых взрослых частота бессимптомного носительства *C. difficile* составляет, как правило, менее 3%, но может достигать 8% [57, 58]. Высеваемость заметно возрастает у «асимптомных» госпитализированных пациентов, достигая 20%. Еще больше она увеличивается у получающих антибиотики лиц без диареи, достигая в некоторых лечебных учреждениях 63% [36]. Несмотря на высокую частоту бессимптомного носительства *C. difficile* у здоровых взрослых, в испражнениях у них крайне редко обнаруживаются высокие уровни токсинов А и/или В [59].

Однозначно оценить значение бессимптомного носительства с точки зрения риска развития манифестной инфекции *C. difficile* нельзя. Так, J.K. Shim и соавт. утверждают, что носительство токсигенных и нетоксигенных штаммов этого микроорганизма снижает риск развития *C. difficile*-ассоциированных болезней, составляющий 4,5% у «неколонизированных» пациентов, до 1,1% у лиц, являющихся бессимптомными носителями [60].

Важное значение в процессе внутрибольничного инфицирования имеет фактор передачи инфекции через руки медицинского персонала [61]. Во многих исследованиях отмечено достоверное снижение числа случаев заболеваний, вызванных *C. difficile*, при использовании «контактной» изоляции (резиновые перчатки) [62]. Контактный путь передачи инфекции через руки медицинского персонала является, вероятно, одним из наиболее значимых механизмов распространения внутрибольничной инфекции *C. difficile* [32].

По данным различных исследователей, возбудитель может высеиваться с рук у 20–59% медицинского персонала, осуществляющего уход за пациентами, инфицированными *C. difficile* и соответственно выделяющими микроорганизм в окружающую среду [61, 63].

Споры *C. difficile* также могут обнаруживаться на различных объектах больничной среды [63, 64]. Наибольшая степень обсемененности отмечается непосредственно у постели пациентов с манифестными формами инфекции *C. difficile*. По данным одного исследования, спорами *C. difficile* было кон-

таминировано 49% палат, в которых находились пациенты с диареей, и 29% палат с больными, не имевшими клинических признаков инфекции [61].

К.-Н. Kim и соавт. провели бактериологическое исследование на *C. difficile* 114 проб, взятых с различных объектов стационара, в котором неоднократно регистрировались случаи *C. difficile*-ассоциированных диарей [65]. Возбудитель был выделен из 37 (32%) образцов. Контаминированными оказались преимущественно туалеты, подкладные судна, пол, спинки кроватей и руки медицинского персонала. В то же время в другом подобном исследовании микроорганизм был обнаружен всего в 6 (1,3%) из 445 исследованных проб материала, взятого в стационаре, благополучном по инфекции *C. difficile* [66].

И все-таки роль объектов внешней среды как источника внутрибольничного инфицирования остается неясной: одни исследователи приходят к выводу о значимости этого источника [61], другие получают отрицательные результаты.

C. difficile часто обнаруживается в различных источниках окружающей среды, вне условий лечебного учреждения: в почве, плавательных бассейнах, естественных водоемах (морях, реках), водопроводной воде. Однако роль данного фактора остается неясной. Высказывались предположения, что резервуаром *C. difficile* являются домашние животные, но выяснилось, что штаммы *C. difficile*, носителями которой были домашние животные, отличны от тех, что вызывают инфекцию у людей [67].

C. difficile может играть определенную роль в патогенезе колитов у амбулаторных пациентов, получающих антибактериальную терапию [68]. Однако клинически манифестные формы внебольничной инфекции *C. difficile* встречаются редко и составляют менее 1 случая на 10 тыс. амбулаторных пациентов, получающих антибиотики [69], что в очередной раз доказывает нозокомиальный характер инфекции.

Факторы риска

Фактором риска колонизации *C. difficile* является собственно госпитализация в лечебное учреждение (табл. 1). L.V. McFarland и соавт. при обследовании 399 пациентов у 7% (29) выявили носительство *C. difficile* уже при поступлении. За период пребывания в стационаре частота колонизации у этих пациентов составила 20,8% (83), у 52 (62,7%) из них носительство было бессимптомным, тогда как у 31 (36,3%) развилась диарея [61]. Результаты кластерного анализа подтвердили факт передачи штаммов *C. difficile* от пациента к пациенту. К моменту выписки 82% инфицированных пациентов продолжали быть носителями *C. difficile*.

Таблица 1. Факторы риска развития инфекции *C. difficile*

Доказанные	Требующие дальнейшего изучения ¹
<i>Факторы риска, связанные с пациентом</i>	
Применение антибиотиков (клиндамицин, цефалоспорины, пенициллины)	Пожилый возраст, женский пол, наличие сопутствующей патологии
<i>Факторы риска, связанные с пребыванием в стационаре</i>	
Госпитализация в медицинское учреждение, пребывание в одной палате с пациентом, имеющим манифестную форму инфекции <i>C. difficile</i>	Оперативные вмешательства, инвазивные диагностические и лечебные процедуры

¹ Роль факторов этой группы выявлена либо в небольших по объему исследованиях, либо является логически обоснованной. У пациентов, принимающих антибактериальные препараты, их значение значительно возрастает [12].

Общепризнанный фактор риска развития *C. difficile*-ассоциированных болезней – применение антибиотиков. Фактически антибактериальная терапия играет роль триггера (пускового звена патогенеза), нарушающего микроэко систему и аминокислотный состав кишечной среды и создающего тем самым необходимые условия для *C. difficile*.

Как известно, все антимикробные препараты могут обуславливать развитие инфекции *C. difficile*, однако наиболее часто она связана с предшествующим применением клиндамицина, аминопенициллинов и цефалоспоринов [4, 70]. В частности, установлено, что терапия цефалоспорином III поколения предрасполагает к развитию *C. difficile*-ассоциированных болезней гораздо чаще, чем пеницилинами узкого спектра активности (бензилпенициллин, феноксиметилпенициллин) и ингибиторозащищенными пенициллинами. Напротив, для некоторых препаратов подобная связь практически отсутствует.

Так, при ретроспективном анализе 61 000 историй болезни пациентов, получавших курс терапии тикарциллином/клавуланатом, не зарегистрировано ни одного случая *C. difficile*-ассоциированного заболевания [71].

Наибольшую опасность развития инфекции *C. difficile* представляют антимикробные препараты, активные в отношении анаэробов и вызывающие наиболее значимые нарушения состава микрофлоры кишечника.

Индуктировать развитие инфекции *C. difficile* могут и некоторые противоопухолевые препараты, обладающие умеренной антимикробной активностью. К ним, в частности, относятся противоопухолевые антибиотики (доксорубин), препараты платины (цисплатин), антиметаболиты (5-фторурацил, метотрексат), циклофосфамид [72, 73]. Более того, возникновению *C. difficile*-ассоциированных болезней может способствовать лекарственный препарат

любой группы, способный нарушать микробиотоз кишечника.

Помимо госпитализации и предшествующей антибактериальной терапии в ходе изучения инфекции *C. difficile* выявлены и другие факторы макроорганизма и окружающей среды, предрасполагающие к развитию болезней, обусловленных *C. difficile*. Установлено, что *пожилый возраст*, число и степень тяжести *сопутствующих болезней* у госпитализированных пациентов существенно повышают риск инфицирования *C. difficile*.

Так, по данным различных исследователей, к группе высокого риска относятся пациенты с тяжелыми ожогами [74], уреимией [75], гемобластозами [76], а также больные, которым проводились операции на органах брюшной полости [77].

Многофакторный регрессионный анализ более 500 тыс. историй болезни в 172 стационарах США с 1993 по 1998 г. позволил выявить достоверную корреляционную связь *C. difficile*-ассоциированного колита с ВИЧ-инфекцией, кандидозом, злокачественными новообразованиями и химиотерапией, дефицитом питания, аспирационной пневмонией, кишечной непроходимостью, дивертикулезом, почечной недостаточностью, инфекциями мочевыводящих путей, длительной гиподинамией и остеомиелитом [78].

Оперативные вмешательства на органах грудной клетки, биопсия костного мозга, катетеризация артерий и вен, мочевого пузыря, гемодиализ, наложение гастростомы, по данным этого исследования, также часто приводят к развитию *C. difficile*-ассоциированного колита [78].

J. Wistrom и соавт. считают, что на частоту возникновения ААД существенно не влияют катетеризация сосудов, эндоскопические исследования, операции на органах брюшной полости или одно из таких сопутствующих заболеваний, как диабет, злокачественное новообразование, хроническая патология почек, воспалительные заболевания кишечника. В то же время эти исследователи отмечают,

что риск развития *C. difficile*-ассоциированных болезней резко возрастает при наличии 2 и более указанных сопутствующих заболеваний, а также при продолжительности антибактериальной терапии более 3 сут [12].

В другом сравнительном исследовании, оценивавшем влияние факторов риска у бессимптомных носителей *C. difficile* и лиц с манифестными формами инфекции, продемонстрировано, что пациенты, имевшие более 3 острых проблем, связанных со здоровьем, 3 сопутствующих заболеваний или получавшие antimicrobные препараты более 20 дней, имеют более высокий риск развития клинически манифестных форм – диареи и колита [79].

Собственно ВИЧ-инфекция не предрасполагает к колонизации *C. difficile*. По данным L.R. Mody и соавт., у 75,5% ВИЧ-инфицированных пациентов развившаяся *C. difficile*-ассоциированная диарея заканчивается летальным исходом [80]. Однако высокая частота и тяжесть течения болезней, связанных с *C. difficile*, у ВИЧ-инфицированных обусловлена не повышенной восприимчивостью этой категории пациентов к возбудителю, а интенсивной antimicrobной химиотерапией, проводимой в связи с резким дефицитом иммунитета, и, следовательно, снижением противоинфекционной защиты организма. Наиболее частая причина диареи у этих пациентов – применение цефалоспоринов III поколения.

На основании результатов многофакторного анализа A. Selva O'Callaghan и соавт. выявили основные факторы риска развития *C. difficile*-ассоциированной диареи у пациентов пожилого возраста. К наиболее важным из них относятся, в частности, интубация дыхательных путей и продолжительная антибактериальная терапия [81].

К другим дополнительным факторам, повышающим вероятность развития *C. difficile*-ассоциированной диареи, относятся: применение препаратов, снижающих секрецию неорганических ионов в кишечнике и угнетающих его перистальтику (противодиарейные препараты), их ректальное введение, использование слабительных средств и средств, размягчающих каловые массы [82, 83].

Патогенез *C. difficile*-ассоциированных болезней

Ключевыми звеньями патогенеза *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита являются:

1) нарушение микроэкосистемы кишечника в результате использования антибиотиков или противоопухолевых и других препаратов, обладающих antimicrobной активностью;

2) колонизация кишечника токсигенными штаммами *C. difficile*;

3) продукция возбудителем токсинов А и/или В;

4) повреждение слизистой оболочки кишечника и развитие воспалительного процесса.

Клинически манифестные формы *C. difficile* инфекции реализуются только при наличии всех основных патогенетических факторов. Для развития болезни недостаточно только колонизации кишечника *C. difficile*, равно как и нарушение нормального состава кишечной микрофлоры не приведет к развитию ПМК без участия токсигенных штаммов *C. difficile*.

Патогенез развития *C. difficile*-ассоциированных болезней представлен на рисунке.

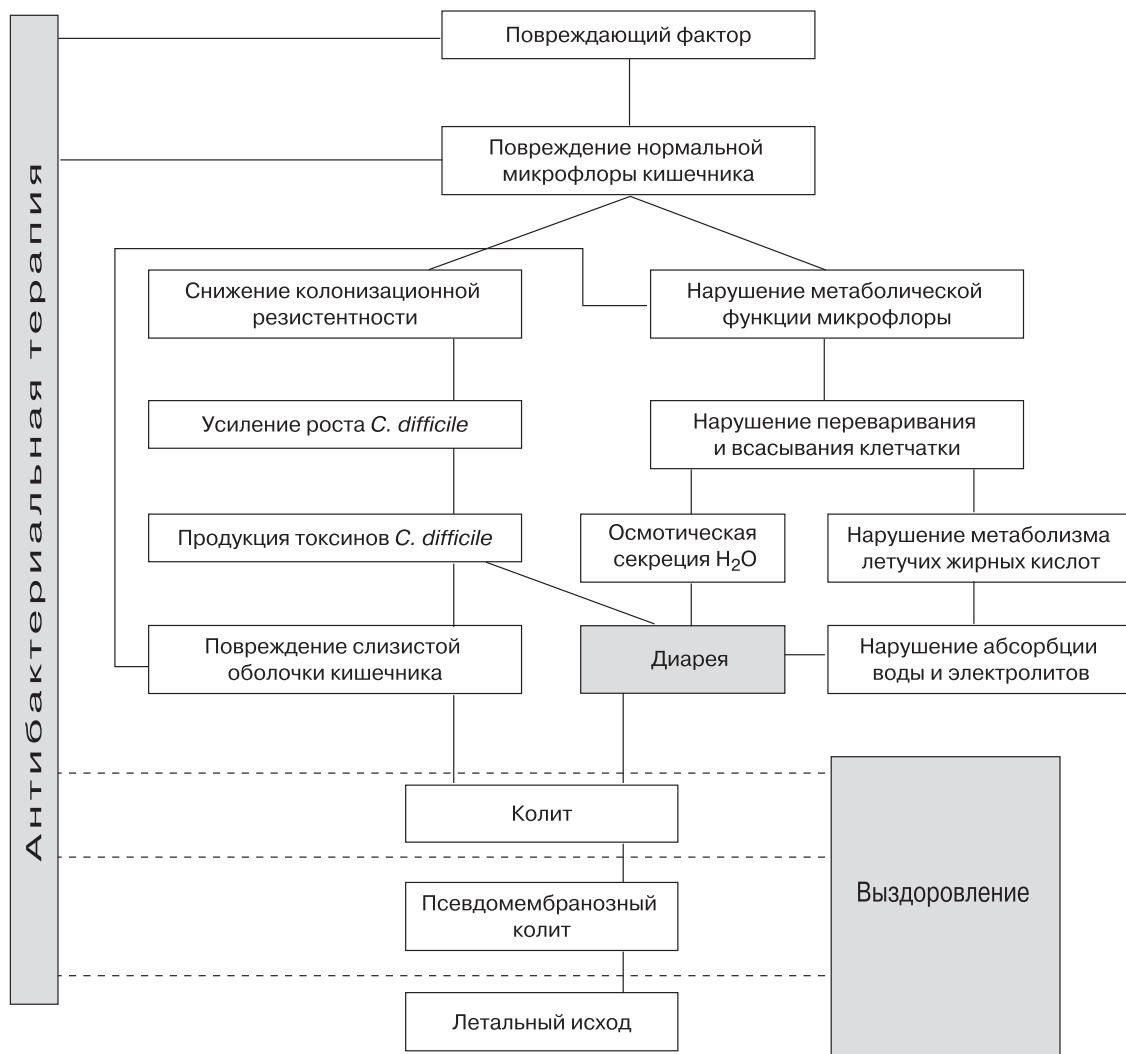
В результате воздействия повреждающего фактора изменяется состав микрофлоры кишечника. Повреждающим фактором чаще всего бывают антибиотики. Наряду с их действием изменения кишечной микрофлоры могут быть обусловлены применением противоопухолевых химиопрепаратов, лучевой терапией, оперативными вмешательствами на органах желудочно-кишечного тракта, болезнями или травмами, приводящими к нарушению кровоснабжения и ишемии внутренних органов.

Необходимо отметить, что риск развития инфекции *C. difficile* не связан с *in vitro* чувствительностью возбудителя к причинному антибиотику.

Эндогенная микрофлора кишечника здорового человека представляет собой сложную и еще недостаточно изученную систему защиты макроорганизма. В многочисленных экспериментах на животных показано, что нормальная кишечная микрофлора способна эффективно подавлять рост *C. difficile* – явление, получившее название *колонизационной резистентности*. Изменение микробной популяции кишечника под действием антибиотиков приводит к снижению колонизационной резистентности, изменению содержания аминокислот и нарушению метаболизма углеводов и желчных кислот, осуществляемого резидентными анаэробами.

Нарушение колонизационной резистентности, в свою очередь, значительно повышает чувствительность кишечника к различным микроорганизмам, устойчивым к действию повреждающего фактора, к которым относится, в частности, *C. difficile*. Колонизация кишечника данным возбудителем или активация эндогенного резервуара *C. difficile* на этом фоне запускает цепь процессов, приводящих при сочетании определенных факторов к развитию клинически манифестных форм инфекции.

В создавшихся благоприятных условиях на фоне сниженной колонизационной резистентности начинается прогрессирующее размножение возбудителя. У пациентов с клинически манифестными формами болезни плотность колонизации кишечника *C. diffi-*



Патогенез инфекции *C. difficile*

cile составляет, как правило, более 10^8 КОЕ/мл. Вегетативные формы возбудителя размножаются непосредственно в просвете толстой кишки.

После достижения микроорганизмом поздней логарифмической и ранней стабильной фаз размножения в толстой кишке начинаются продукция и выделение *C. difficile* экзотоксинов, приводящих в конечном итоге к диарее и колиту. Большинство штаммов продуцирует оба токсина (А и В). Однако заболевание может вызываться и штаммами, образующими только один токсин.

Воздействие токсинов *C. difficile* на слизистую оболочку толстой кишки замыкает «порочный

круг», сформировавшийся под влиянием фактора, нарушающего микроэкосистему кишечника. Повреждение колоноцитов, секреция жидкости в просвет кишечника и развитие местной воспалительной реакции приводят к развитию осмотической диареи, нарушению трофики кишечного эпителия и усугублению изменений состава микробиоценоза.

Помимо непосредственного цитотоксического действия токсинов *C. difficile* на слизистую оболочку кишечника в развитии диареи важное значение имеет и нарушение метаболизма ряда естественных субстратов, связанное с уменьшением количества

нормальной кишечной микрофлоры в результате действия антибиотиков.

Известно, что многие углеводы, поступающие с пищей, не способны абсорбироваться в толстой кишке. Анаэробы нормальной кишечной микрофлоры, используя углеводы в качестве источника энергии, расщепляют их до молочной кислоты и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), абсорбция которых сопровождается всасыванием воды и электролитов. Уменьшение количества анаэробов под действием антибиотиков приводит к нарушению метаболизма углеводов. В результате нарушения всасывания углеводов развивается осмотическая диарея, обусловленная накоплением в просвете кишечника катионов, связанных с являющимися анионами органическими кислотами и углеводами. Это, в свою очередь, снижает метаболическую активность кишечной микрофлоры.

Снижение метаболизма углеводов анаэробами приводит также к нарушению функции слизистой оболочки кишечника. В дистальных отделах толстой кишки N-масляная кислота, подвергаясь внутриклеточному окислению, является основным энергетическим субстратом для клеток слизистой оболочки.

Таким образом, уменьшение продукции КЦЖК лишает ее источника энергии, что подтверждается развитием «резекционного колита» у пациентов с выключенными из процесса пассажа каловых масс (в результате хирургического лечения) дистальными отделами толстой кишки.

Уменьшение в результате использования антибиотиков количества анаэробов, входящих в состав нормальной микрофлоры толстой кишки, приводит к нарушению процесса 7α -дегидроксилирования желчных кислот (холевая, хенодезоксихолевая), являющихся мощными стимуляторами кишечной секреции. Увеличение их концентрации в толстой кишке также приводит к развитию секреторной диареи. Более того, под их действием споры *C. difficile* прорастают в вегетативные формы.

Факторы патогенности *C. difficile*

Описаны и детально изучены 3 основных фактора патогенности *C. difficile*.

Токсигенные штаммы *C. difficile* продуцируют 2 крупномолекулярных белковых экзотоксина: токсин А (энтеротоксин) и токсин В (цитотоксин). Третим, наименее изученным фактором патогенности, является белок, угнетающий перистальтику кишечника.

Токсины А и В являются одними из самых крупных бактериальных экзотоксинов [84]. Оба токсина имеют на С-конце белковой молекулы сходную по

составу последовательность аминокислот, чем в известной степени объясняется сходство их биологического действия.

И токсин А, и токсин В обладают цитотоксическими свойствами и проявляют цитопатический эффект в культуре более 20 видов клеток и тканей человека. В экспериментах *in vitro* токсин В обладает в 10 раз более высокой (в молярном эквиваленте) цитотоксической активностью в отношении колоноцитов человека, чем токсин А. Оба токсина после проникновения в цитоплазму клеток посредством УДФ-глюкозозависимого моногликозилирования инактивируют ряд сигнальных белков, обеспечивающих трансдукцию внутриклеточных сигналов (Rho, Rac, Cdc42). Это, в свою очередь, нарушает функцию фермента актинполимеразы [85, 86].

Угнетение активности актинполимеразы приводит к дезагрегации актиновых микрофиламентов цитоскелета эпителиоцитов кишечника, их деформации и в конечном итоге к гибели. В экспериментах установлено, что токсин А обладает выраженным повреждающим действием на межклеточные соединения эпителиальных клеток в монослое. При этом проницаемость монослоя энтероцитов для декстрана возрастает при действии токсина А гораздо сильнее, чем при действии токсина В [87].

Вероятный механизм нарушения межклеточных соединений и увеличения проницаемости монослоя эпителия под влиянием токсинов А и В связан с разрушением апикального и основного F-актина эпителиоцитов. Деструкция F-актина сопровождается диссоциацией белков адгезии – окклюдина, ZO-1 и ZO-2, расположенных в области плотных межклеточных контактов на боковой мембране клеток [88].

В эксперименте на культуре клеток оба токсина способствуют адгезии других микроорганизмов (*Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) к монослою энтероцитов. Токсин А в большей степени, чем токсин В, увеличивает проницаемость монослоя энтероцитов для указанных бактерий, что значительно облегчает микробную транслокацию [89].

Описан еще один токсический фактор белковой природы, продуцируемый некоторыми штаммами *C. difficile* и обладающий АДФ-рибозилтрансферазной активностью [90].

Кроме токсинов, *C. difficile* вырабатывает ряд гидролитических ферментов: хондроитин-4-сульфатазу, гиалуронидазу, гепариназу, коллагеназу и протеазы, роль которых в патогенезе *C. difficile*-ассоциированных болезней требует уточнения [91].

Гены *tcdA* и *tcdB*, кодирующие синтез соответственно токсина А и В, продуцируемых *C. difficile*,

расположены в локусе патогенности PaLoc. В указанном локусе имеются еще 3 гена – *tcdD*, *tcdE* и *tcdC*. Экспериментальные исследования подтвердили гипотезу о том, что именно локус патогенности PaLoc определяет способность к токсинообразованию у отдельных штаммов *C. difficile*. Нетоксигенные штаммы возбудителя не имеют такого локуса и, следовательно, не могут вызвать развития манифестных форм болезней у человека и животных [92].

Данные о структуре генома *C. difficile* свидетельствуют о наличии гена *txeR*, который локализуется несколько выше группы генов, кодирующих синтез токсинов. Субстанция TxeR, кодируемая геном *txeR*, необходима для экспрессии *tox*-генов *in vivo* и активации транскрипции *tox*-генов *in vitro*. Субстанция TxeR функционирует как альтернативный *sigma*-фактор для фермента РНК-полимеразы [93].

Под влиянием определенных факторов, действующих на бактериальную клетку извне (например, уменьшение концентрации в окружающей среде питательных субстратов), усиливается синтез субстанции TxeR, которая активирует транскрипцию генов *toxA* и *toxB* за счет активации *tox*-промотора. Синтез даже малого количества субстанции TxeR катализирует ее дальнейшее лавинообразное накопление. Напротив, увеличение содержания в окружающей микроорганизм среде глюкозы или других питательных субстратов вызывает ингибирующий эффект на синтез субстанции TxeR. Вполне вероятно, что и активность *tox*-промоторов находится под непосредственным регулирующим влиянием определенных факторов внешней среды.

Большинство штаммов *C. difficile* вырабатывает оба токсина или ни одного, хотя имеются сообщения о существовании штаммов *C. difficile*, продуцирующих только один токсин (А или В) [85, 94].

Рядом исследователей поддерживается концепция о том, что в процессе развития опосредованного токсинами воспалительного ответа решающую роль играют сложные взаимодействия между нейтроиммунными клетками собственной пластинки слизистой оболочки и клетками кишечного эпителия [95].

Токсин А

Токсин А представляет собой белок с молекулярной массой 308 кД, обладающий в 50–400 раз более выраженным летальным эффектом, чем токсин В. В то же время он имеет в 1000 раз меньшую, чем у токсина В, цитотоксическую активность [96].

В экспериментах на интактных животных моделях токсин А повышает миоэлектрическую активность колоноцитов, повреждает слизистую оболочку кишечника и вызывает развитие в ней

воспалительного процесса, усиливает секрецию жидкости.

Различают прямой и опосредованный повреждающие эффекты токсина А на эпителий кишечника. В экспериментах на лигированной кишечной петле крысы через 1 ч после введения токсина в ее просвете начинает накапливаться жидкость, которая спустя 2 ч становится вязкой, а через 4 ч приобретает геморрагический характер. Максимальный секреторный эффект развивается спустя 6 ч от момента воздействия токсина.

Параллельно с усилением секреции жидкости наблюдаются деэпителизация ворсинок и значительное увеличение проницаемости сосудов, в результате чего возрастает осмотическое давление в просвете кишечника. Повреждение тканей кишечника в лигированной петле быстро прогрессирует и через 6 ч приводит к развитию некроза слизистой оболочки [97]. В результате действия токсина А повреждаются только ворсинки, крипты остаются интактными.

Эпителиальные клетки кишечника опосредованно разрушаются за счет миграции в очаг воспаления большого количества фагоцитов, «привлеченных» гибелью нейтрофилов в результате цитотоксического действия токсинов [98]. Высвобождаемые фагоцитирующими клетками лизосомальные ферменты, как и ферменты, выделяющиеся при разрушении эпителиоцитов, усиливают повреждение клеток.

Как уже указывалось, токсин А усиливает секрецию жидкости в просвет кишечника. По своему характеру она отличается от той, которая секретруется под влиянием энтеротоксинов, продуцируемых другими патогенами, например холерного энтеротоксина. Она имеет большую вязкость и геморрагический характер [84]. Связано это с тем, что жидкость накапливается не за счет нарушения функции ионных насосов, а в связи с разрушением эпителиальных клеток, приводящим к нарушению не только водно-электролитного обмена клеток, но и к проницаемости эпителиального слоя в целом. Поэтому предполагается, что именно токсин А является причиной диареи в начальный период болезни.

Ключевыми медиаторами, опосредующими воспалительный и секреторный эффекты токсина А, являются метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены, фактор активации тромбоцитов) [99], субстанция Р [100], продуцируемые моноцитами *интерлейкины* (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и *фактор некроза опухоли* (ФНО) [101, 102].

Нейтрофилы, обнаруживаемые в большом количестве в псевдомембранах при ПМК и подлежащей слизистой оболочке кишечника, играют централь-

ную роль в патогенезе *C. difficile*-ассоциированных болезней. Посредством протеина G токсин А *in vitro* активизирует гранулоциты человека, что реализуется путем кратковременного увеличения концентрации несвязанного кальция в цитоплазме клеток и приводит к активации их хемотаксиса и хемокинеза. На модели инфекции *C. difficile* у кроликов моноклональные антитела к поверхностным рецепторам CD11b/18 нейтрофилов ингибируют как инфильтрацию ими слизистой оболочки кишечника, так и секреторный эффект токсина А.

На С-конце белковой молекулы токсина А имеется участок, состоящий из повторяющихся аминокислотных последовательностей. Этот участок отвечает за связывание со специфическими гликопептидными рецепторами, содержащими галактозу- β -1,4-N-ацетилглюкозамин. У человека эта структура имеется в составе гликопептидных антигенов I, X и Y (система Льюиса), расположенных на поверхности клеток кишечного эпителия. Это и обеспечивает прикрепление к ним токсина А *C. difficile*.

В большом количестве антиген X также представлен на поверхности нейтрофилов. В связи с этим активация хемотаксиса как результат действия токсина А может быть обусловлена связыванием токсина с гликопептидными антигенами на поверхности лейкоцитов. После прикрепления к клетке токсин проникает в нее посредством эндоцитоза подобно дифтерийному и коклюшному токсинам.

С целью изучения роли отдельных субпопуляций нейронов в развитии повреждения слизистой оболочки кишечника был проведен опыт на денервированной петле подвздошной кишки крысы. Введение токсина А *C. difficile* в денервированную петлю подвздошной кишки сопровождалось снижением секреции на 75% ($p < 0,001$), миелопероксидазной активности нейтрофилов – на 92% ($p < 0,01$) и уменьшением гистологического повреждения – на 96% ($p < 0,001$) по сравнению с таковыми в интактных петлях.

Таким образом, внешняя хирургическая денервация способствует защите подвздошной кишки от действия токсина А, продуцируемого *C. difficile*, и препятствует развитию энтерита. В связи с этим высказано предположение, что в формировании повреждения подвздошной кишки играют роль сенсорные нейроны кишечной стенки [103].

Токсин В

Токсин В является белком с молекулярной массой 269–279 кД, обладающим мощным цитотоксическим действием. В культуре клеток он вызывает в 100–1000 раз больший цитотоксический эффект, чем токсин А [96]. Вероятно, более высокая токсич-

ность токсина В связана в значительной степени с более низкой плотностью рецепторов к токсину А на поверхности клеток, чем с более высокой токсичностью самого токсина В.

Токсин В, введенный в эксперименте в кишку хомяков, в отсутствие токсина А не вызывает никакого эффекта на интактную слизистую оболочку. Напротив, в присутствии субтоксических концентраций токсина А или при повреждениях слизистой оболочки токсин В может привести к гибели животного [104]. Эти данные свидетельствуют о том, что эпителиальные клетки кишечника не содержат специфических рецепторов к токсину В. Он может токсически действовать только в том случае, если токсин А или другие факторы приведут к повреждению эпителия, достаточному для проникновения токсина В в глубину слизистой оболочки. Более того, до настоящего времени не идентифицированы специфические рецепторы к токсину В у человека [59].

Установлено, что эффект токсина В на клетку зависит от его концентрации и определенного значения внеклеточного рН. На фоне низкого рН в эндосомах происходит трансформация токсина В *C. difficile*, которая облегчает встраивание его молекулы в мембрану клетки-мишени и образование в ней ионных каналов [105].

В экспериментах на крысах токсин В подобно токсину А стимулирует хемотаксис и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. Медиаторами, участвующими в реализации этого эффекта, являются продуцируемый макрофагами ФНО- α и метаболиты липооксигеназного пути превращения арахидиновой кислоты.

Супернатант макрофагов, обработанный токсином В, не влияет на транспорт ионов в слизистой оболочке тонкой кишки, что наблюдается, однако, при действии токсина А. Это связано с тем, что в отличие от токсина А токсин В не стимулирует синтез ИЛ-1 β , который в опытах на кроликах активизирует транспорт электролитов в подвздошной кишке [106].

Итак, в целом энтеротоксичность *C. difficile* реализуется двумя путями.

Прямой эффект заключается в непосредственном действии токсинов на энтероциты и нервный аппарат кишечной стенки.

Непрямой эффект обеспечивается за счет активации макрофагов, тучных клеток и других клеток крови и увеличения продукции нейропептидов и провоспалительных цитокинов [107].

Адгезины

Обсуждение факторов патогенности *C. difficile* было бы неполным, если оставить без внимания доказанную способность возбудителя к адгезии.

Исследование факторов адгезии в перспективе позволит ответить на вопрос о механизмах персистенции микроорганизма в кишечнике.

В 1988 г. S.P. Borriello и соавт. высказали предположение о том, что именно адгезия играет основную роль на начальном этапе развития инфекции [108].

С. Hennequin и соавт. в 2001 г. опубликовали результаты экспериментального исследования, свидетельствующего об участии одного из белков теплового шока (GroEL) в адгезии *C. difficile* к клеткам в культуре тканей. Полученная антисыворотка к этому белку блокировала контакт эпителиальных клеток с возбудителем, что подтверждает вероятную роль GroEL в качестве адгезина [109].

Первым идентифицированным адгезином, продуцируемым *C. difficile*, стал поверхностный мембранный белок Cwp66 (66 кД), кодируемый геном *cwp66* [110]. Несколько позже был обнаружен ген *slpA*, кодирующий *S-layer precursor protein* у некоторых вирулентных штаммов *C. difficile* (C253 и 79-685). Этот белок имеет на С-конце молекулы последовательность аминокислот, сходную с таковой у адгезина Cwp66 [111].

В геноме *C. difficile* также имеется ген *fliD*, кодирующий *flagellar cap protein*, который, как предполагается, выполняет специфические функции, обеспечивая прикрепление возбудителя к рецепторам эпителиоцитов слизистой оболочки [112].

Клиника инфекции *C. difficile*

В настоящее время выделяют следующие основные клинические формы инфекции *C. difficile*:

- 1) ААД – от самоограничивающихся легких форм до тяжелой холероподобной диареи;
- 2) ААК различной степени тяжести вплоть до фульминантных, а иногда фатальных форм, в отдельных случаях – с рецидивирующим течением;
- 3) ПМК.

Предполагается также, что *C. difficile* может участвовать в патогенезе так называемых неспецифических воспалительных заболеваний кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит), непроходимости и стеноза толстой кишки, синдрома внезапной смерти у детей [56].

Единого мнения о роли бессимптомного носительства *C. difficile* в развитии патологии человека пока нет. Однако обнаружение бессимптомного носительства у госпитализированного пациента не является клинически значимым и не влияет на лечебную тактику [113].

Наиболее часто *C. difficile* вызывает легкую или средней степени тяжести диарею, проходящую после прекращения действия триггерного фактора (антибиотика). Она начинается остро, как правило,

через 5–10 дней после начала применения антимикробного препарата. Однако диарея может манифестировать как с первых дней назначения антибактериальной терапии, так и спустя 10 нед и более после ее прекращения.

Начальным и самым типичным симптомом болезни является диарея, определяемая как увеличение частоты стула до 3 и более раз в сутки, сопровождающееся изменением консистенции (разжижением) испражнений. Диарея протекает относительно легко, без дегидратации. Все симптомы разрешаются в течение нескольких дней после отмены «причинного» антибиотика. Специфическая терапия в подавляющем большинстве случаев не требуется. Такой вариант течения болезни классифицируют как ААД.

В ряде случаев к диарее присоединяются симптомы общей интоксикации: слабость, вялость, тошнота, снижение аппетита, колит. Наблюдаются такие симптомы, как лихорадка (30–50%), боли в животе или кишечная колика (20–33%) и лейкоцитоз (50–60%). В тех случаях, когда наряду с диареей появляются признаки интоксикации и колита, принято говорить об ААК.

При более тяжелом течении инфекции *C. difficile* могут развиваться симптомы скрытого кишечного кровотечения, дегидратация, электролитные нарушения (гипокалиемия), гипоальбуминемия с развитием отеков вплоть до анасарки. Лихорадка может достигать 40°C, частота стула – до 15–30 раз в сутки (90–95%), лейкоцитоз – до 15×10^9 /л, иногда достигая уровня лейкоцитарной реакции ($\geq 50 \times 10^9$ /л) [6].

Обнаружение при эндоскопическом исследовании толстой кишки (проктосигмоидоскопии) характерных морфологических изменений (псевдомембран) свидетельствует о развитии наиболее тяжелого варианта течения инфекции *C. difficile* – ПМК. Летальность при ПМК может достигать 10–35% [5].

В некоторых случаях *C. difficile*-ассоциированный колит может протекать без диареи в виде синдрома «острого живота», имитируя перитонит, или токсического мегаколона. Токсический мегаколон проявляется остро развивающейся дилатацией толстой кишки (более 6 см в диаметре) на фоне общей интоксикации организма, отсутствия механической обструкции и характеризуется высокой летальностью.

К другим осложнениям *C. difficile*-ассоциированного колита относятся перфорация толстой кишки, инвагинация поперечной ободочной кишки, экссудативная энтеропатия.

При ранней отмене антибактериальной терапии и отсутствии осложнений разрешение симптомов

наблюдается обычно в течение 1 нед. Однако продолжение приема «причинного» антибиотика или развитие колита уже после завершения полного курса антибактериальной терапии может приводить к длительной диарее, сопровождающейся тяжелыми электролитными нарушениями, гипопротеинемией и высокой летальностью.

Внекишечные проявления инфекции встречаются редко и представлены реактивным артритом [114], тендосиновитом и абсцессами различной локализации [115].

Реактивный артрит как осложнение инфекции *C. difficile* связан с наличием HLA B27 антигена, не всегда сопровождается лихорадкой. Приблизительно в 50% случаев в процесс вовлекаются коленные и лучезапястные суставы. Болезнь манифестирует в среднем через 11–12 дней после начала диареи и протекает длительно (до 2 мес).

В 2001 г. T. Sakurai и соавт. описали случай формирования кисты и абсцесса печени, вызванного *C. difficile* [116]. Местные поражения кожи и инфекции костей на фоне *C. difficile*-ассоциированных болезней в большинстве случаев связаны с травмой и попаданием спор возбудителя из окружающей среды или с кожи самого пациента в ткани с последующим развитием манифестной инфекции.

Серьезную проблему представляет рецидивирующее течение инфекции *C. difficile*, регистрируемое у 20% пациентов. Рецидив инфекции протекает, как правило, стереотипно: после завершения курса специфической терапии наступает улучшение или полное исчезновение клинических симптомов диареи или колита, а через 2–28 дней (обычно через 3–7 дней) вновь появляются сходные симптомы болезни.

При лабораторном обследовании этих пациентов после завершения курса специфического лечения первого эпизода диареи, даже при отсутствии клинических проявлений, оказывается положительным тест на наличие в фекалиях токсина *C. difficile*. При культуральном исследовании может быть выделен такой же или другой токсигенный штамм возбудителя [117]. В то же время необходимо помнить, что пациенты с рецидивирующим течением болезни могут повторно инфицироваться тем же или другим штаммом из экзогенного источника.

После перенесенной инфекции *C. difficile* развивается системный иммунный ответ, связанный с выработкой IgG-антител, преимущественно к токсину А [10]. При изучении уровней иммуноглобулинов в сыворотке крови больных с различным течением инфекции выявлены определенные закономерности характера иммунного ответа. У пациентов с единственным эпизодом *C. difficile*-ассоциированной диа-

реи была обнаружена более высокая концентрация IgM ($p=0,004$) и IgG ($p=0,009$) в сыворотке крови, чем у больных с рецидивами болезни [118].

Диагностика инфекции *C. difficile*

Диагностика *C. difficile*-ассоциированных болезней основана на комплексной оценке анамнестических, клинических, лабораторных и эндоскопических данных. Необходимо отметить, что ведущую роль в установлении и подтверждении диагноза инфекции *C. difficile* играют специфические лабораторные методы исследования по обнаружению самого возбудителя и его токсинов. Используемые на практике некоторые общеклинические и инструментальные методы исследования имеют ограниченное значение в диагностике этой инфекции и могут служить лишь в качестве дополнительных ориентировочных методов.

Анамнестически *C. difficile*-ассоциированное заболевание должно быть заподозрено у пациентов с диареей, получавших антибиотики в предшествующие 2 мес, а также у пациентов с диареей, развившейся спустя 72 ч после госпитализации.

Для подтверждения диагноза во многих случаях достаточно однократного исследования кала с определением в нем токсинов *C. difficile* или токсигенных штаммов возбудителя. В то же время в некоторых случаях требуются повторное микробиологическое исследование и/или эндоскопия. Однако трехкратное исследование позволяет повысить чувствительность методов и достоверность результатов менее чем на 10% [119].

Общеклинические методы исследования

Общеклинические методы исследования крови и кала позволяют уточнить степень тяжести болезни и в некоторой степени облегчить установление предварительного диагноза инфекции *C. difficile*. Типичными изменениями в крови является лейкоцитоз, свидетельствующий о бактериальном воспалении. Он появляется уже на ранних стадиях и при *C. difficile*-ассоциированных болезнях имеет достоверно более высокий уровень, чем при других острых инфекционных диареях, составляя в среднем $15,8 \times 10^9$ /л против $7,7 \times 10^9$ /л ($p < 0,01$).

При *C. difficile*-ассоциированных болезнях возможны три варианта увеличения количества лейкоцитов в периферической крови [120]:

- 1) «внезапный» лейкоцитоз, совпадающий с началом заболевания;
- 2) лейкоцитоз, предшествующий появлению клинических симптомов;
- 3) нарастание лейкоцитоза как маркер уже развившейся инфекции.

Для обнаружения лейкоцитов обычно используется окраска образцов испражнений метиленовым синим. В 2001 г. K.J. Savola и соавт. провели сравнительный анализ чувствительности и специфичности этого теста, использовавшегося в стационаре и в амбулаторных условиях. На основании результатов 797 копрологических и 473 культуральных исследований, а также исследования 502 образцов фекалий на наличие одного из токсинов *C. difficile* было установлено, что обнаружение нейтрофилов в кале методом микроскопии может быть рекомендовано для применения только у амбулаторных пациентов [121]. Недостатками этого метода являются необходимость использования свежего клинического материала и наличие опытного специалиста для интерпретации результатов.

Другой простой тест, позволяющий установить воспалительный характер диареи, – обнаружение в кале маркера нейтрофилов – лактоферрина. Согласно данным исследований, чувствительность этого теста составляет 75–90%. В то же время он обладает крайне низкой специфичностью – 46%. Более того, одним из его недостатков является высокая стоимость исследования. По сравнению с методом определения лактоферрина тест на определение лейкоцитов в испражнениях обладает более высокой специфичностью (92%). Однако он менее чувствительный (28–40%).

Рентгенологическая и ультразвуковая диагностика

Рентгенологические признаки, выявляемые при *C. difficile*-ассоциированной диарее и колите, как правило, неспецифичны. На обзорной рентгенограмме органов брюшной полости у некоторых пациентов с колитом может обнаруживаться отечная толстая кишка с участками утолщения кишечной стенки и нарушенной гаустрацией.

При контрастном исследовании (ирригографии) при ПМК могут обнаруживаться округлые «дефекты наполнения», соответствующие расположению псевдомембран. Однако в большинстве случаев диагностически значимых изменений обнаружить не удастся. Это связано с выраженными секреторными изменениями в толстой кишке, плохим распределением контрастного вещества или минимальной активностью воспалительного процесса.

Лучшие результаты дает исследование с двойным контрастированием, однако его проведение сопряжено с высоким риском перфорации толстой кишки. У части пациентов с клинически манифестными формами доказанной инфекции *C. difficile* (30–35%) выявляются рентгенологические призна-

ки тонко- или толстокишечной непроходимости и перитифлита [122].

При компьютерной томографии (КТ) могут быть выявлены характерные изменения, ограничивающиеся локализацией в толстой кишке. К ним относятся утолщение стенки толстой кишки (особенно слизистой оболочки) до 10–15 мм и наличие асцитической жидкости. Изменения могут быть локальными или распространяться на всю толстую кишку (панколит). В то же время, по данным исследований, какие-либо клинически значимые изменения при КТ выявляются всего у 50% пациентов с положительными результатами теста на определение в кале токсина *C. difficile* [123].

КТ органов брюшной полости как метод подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней имеет чувствительность 52%, специфичность – 93% [124].

При ультразвуковом исследовании кишечника при ПМК также могут выявляться утолщение кишечной стенки, асцит и сужение просвета кишки. Процесс может носить тотальный характер, но чаще ограничен левыми отделами толстой кишки.

Как указывалось, инструментальные методы исследования не могут служить основанием для постановки диагноза и требуют проведения специфических лабораторных тестов, а в некоторых случаях – и эндоскопического исследования.

Эндоскопическое исследование

Наиболее доступным и относительно несложным методом диагностики, позволяющим оценить характер и степень выраженности морфологических изменений в кишечнике, является эндоскопическое исследование. В большинстве случаев в патологический процесс вовлекаются дистальные отделы толстой кишки. В связи с этим, как правило, достаточно проведения ректосигмоидоскопии.

Однако приблизительно у 1/3 пациентов процесс распространяется на правые отделы толстой кишки, что требует выполнения колоноскопии. Обнаруживаемые при эндоскопии патоморфологические изменения зависят от степени тяжести и стадии инфекционного процесса и варьируют от умеренной гиперемии и отечности слизистой оболочки до мегаколона с формированием псевдомембран.

Непосредственная визуализация изменений, локализующихся в кишечнике, позволяет подтвердить диагноз ПМК. В типичном случае эндоскопическая картина при ПМК представлена очаговыми изменениями в виде небольших (от 2 до 10 мм в диаметре) бело-желтых возвышающихся бляшек (псевдомембран), располагающихся на нормальной или гиперемированной слизистой оболочке толстой

кишки, имеющих тенденцию к слиянию при прогрессировании процесса.

Псевдомембраны при патогистологическом исследовании состоят из эпителиального детрита, фибрина, слизи и нейтрофильных лейкоцитов.

Специфичность данного метода при ПМК достигает 100%. В случаях, когда *C. difficile*-ассоциированный колит не сопровождается формированием псевдомембран, эндоскопические изменения не являются специфическими. В то же время биопсия слизистой оболочки толстой кишки позволяет выявить морфологические изменения, типичные для ПМК. В этом случае чувствительность эндоскопического метода исследования не превышает 50%, поскольку псевдомембраны обнаруживаются не у каждого больного с *C. difficile*-ассоциированным колитом [125].

Необходимость эндоскопического исследования при инфекции *C. difficile* остается спорным вопросом. Это связано не только с относительно высокой стоимостью самого исследования, плохой переносимостью процедуры пациентами и невысокой чувствительностью, но и возможностью развития опасных осложнений, в первую очередь перфорации кишечника. Так, Американская коллегия по разработке рекомендаций в гастроэнтерологии рекомендует использовать эндоскопическое исследование только в строго определенных ситуациях:

- при необходимости быстрого установления диагноза и невозможности проведения быстрых специфических лабораторных тестов или при использовании тестов, обладающих низкой чувствительностью;
- при непроходимости кишечника и невозможности получения образцов кала для исследования;
- при подозрении на другие заболевания толстой кишки, для диагностики которых требуется эндоскопическое исследование.

Лабораторная диагностика

Существует множество принципиально различных лабораторных методов диагностики инфекции *C. difficile*. Основными из них являются тесты по определению токсинов непосредственно в образцах кала. Только в США рынок коммерческих тест-систем составляет более 10 млн долларов в год.

Сравнительная характеристика различных методов специфической диагностики инфекции *C. difficile* представлена в табл. 2.

Материал для исследования и правила его транспортировки

Материалом для лабораторного исследования с целью установления диагноза инфекции *C. difficile*

являются образцы свежего кала. Минимальное количество материала составляет 5 мл, или 5 г, рекомендуемое – 10–20 мл водянистых испражнений.

Для снижения вероятности получения положительных результатов культурального исследования у госпитализированных пациентов, являющихся бессимптомными носителями, необходимо проводить данное исследование только при диарее. Результаты исследования образцов оформленного кала не могут использоваться для подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней. Исключение составляют лишь эпидемиологические исследования по установлению распространенности носительства *C. difficile* в популяции.

Использование мазков, взятых из кишечника, не является адекватным для исследования в культуре клеток вследствие небольшого количества материала. Данный способ получения материала может быть оправдан только в случаях, когда имеется клиническая картина кишечной непроходимости, а в качестве ее причины предполагается *C. difficile*.

Материалом для исследования может быть содержимое просвета или биоптаты слизистой оболочки толстой кишки, полученные при эндоскопическом исследовании, во время операции или на аутопсии. В то же время разведение материала, взятого из просвета кишки или при обработке биоптатов, может уменьшить количество жизнеспособных микроорганизмов в образцах, что не позволит выделить чистую культуру возбудителя.

Полученные образцы должны транспортироваться в герметичных пластиковых или стеклянных контейнерах. Оптимальным является культуральное исследование в течение 2 ч с момента получения материала. При невозможности его быстрого выполнения образцы могут быть помещены в специальные транспортные среды для анаэробов или в рефрижератор. Однако последнее резко снижает количество жизнеспособных вегетативных форм возбудителя, в то же время споры *C. difficile* могут сохранять жизнеспособность нескольких дней.

Допустимое условие, позволяющее сохранить адекватное количество возбудителя, – хранение образцов кала до 2 сут при температуре 5°C. Образцы, используемые для обнаружения токсина в культуре клеток, могут храниться до 3 сут при температуре 5°C. При более позднем исследовании они должны быть заморожены при температуре минус 70°C. В то же время замораживание уже до минус 20°C значительно снижает цитотоксическую активность [126].

Образцы для проведения реакции латекс-агглютинации замораживаться не должны.

Таблица 2. Сравнительная характеристика различных методов лабораторной диагностики инфекции *C. difficile*

Метод исследования	Цель исследования	Время, необходимое для исследования, ч	Чувствительность, %	Специфичность, %	Комментарии
Исследование на культуре тканей, цитопатогенный тест (ЦПТ)	Токсин В	28–48	67–100	85–100	Высокая чувствительность. Возможно полуколичественное определение путем титрования проб. Хорошая чувствительность. Рекомендуется использовать в сочетании с бактериологическим исследованием [128]
Реакция нейтрализации токсина (на культуре фибробластов)	Токсин В	28–48	–	–	Хорошие чувствительность и специфичность. Используется в сочетании с ЦПТ
Латекс-агглютинация	Глутамат-дегидрогеназа	0,5	58–92	80–96	Невысокие чувствительность и специфичность. Используется только для экспресс-диагностики [113, 128]
Иммуноферментный анализ	Токсин А или токсины А и В одновременно	2–4	63–99	75–100	Хорошие специфичность и чувствительность. Может потребоваться 2–3-кратное повторение исследования [130, 135]
Дот-иммуноблотинг	Токсин А	0,5	–	–	–
Полимеразная цепная реакция	Ген, кодирующий токсин В, ген, кодирующий токсин А, или оба гена	2–4	–	–	Хорошая чувствительность, высокая специфичность [144, 145]
Культуральный метод	Микроорганизм и его токсигенность <i>in vitro</i>	24–72	89–100	84–99	Хорошая чувствительность, низкая специфичность в связи с высокой частотой носительства у госпитализированных пациентов, особенно получающих антибиотики [128, 130, 133]

Исследование в культуре клеток и реакция нейтрализации токсина

Определение цитопатического эффекта в культуре клеток (цитопатогенный тест) исторически было первым методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней. В сущности выявление цитотоксичности фильтрата копрокультуры при ААК и привело к открытию этиологической роли *C. difficile* в их патогенезе.

С учетом того, что заболевание у человека вызывают только токсигенные штаммы возбудителя, определение токсинов, продуцируемых *C. difficile*, непосредственно в образцах кала является наиболее широко используемым методом подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных диареи и колита. Практически все штаммы *C. difficile* продуцируют либо оба токсина (А и В), либо являются нетоксигенными, что позволяет использовать *цитопатогенный* тест в качестве достоверного диагностического

метода вне зависимости от того, какой токсин играет определяющую роль в патогенезе болезни [94, 127].

Одновременно с выявлением цитопатического эффекта в культуре клеток при проведении цитопатогенного теста ставят *реакцию нейтрализации* токсина специфическим антитоксином, что значительно повышает специфичность данного метода исследования.

Для проведения цитопатогенного теста и реакции нейтрализации цитотоксина *C. difficile* широко используются коммерческие тест-системы. В наборы входят микропланшеты с культурой клеток определенной линии (чаще всего фибробласты человека), специфический антитоксин, буфер и другие реактивы, необходимые для реакции нейтрализации.

В классическом варианте цитопатогенный тест и реакция нейтрализации цитотоксина проводятся следующим образом: после получения бесклеточного супернатанта фекалий его смешивают с буфером, добавляют к культуре клеток и инкубируют.

Одновременно инкубируют в культуре клеток с добавлением антитоксина, представляющего специфические токсиннейтрализующие антитела.

Цитотоксический эффект оценивают через 4, 24 и 48 ч. Чаще всего положительный результат наблюдается через 24 ч. Результат исследования считается положительным, если цитопатический эффект, проявляющийся в виде изменения формы клеток, регистрируется в лунках с супернатантом фекалий и отсутствует в лунках, содержащих специфический антитоксин.

При проведении цитопатогенного теста возможно определение количества токсина в пробе методом титрования. Однако не установлено достоверной прямой корреляции между концентрацией токсина в исследуемом клиническом материале и тяжестью течения болезни.

Цитопатогенный тест в сочетании с реакцией нейтрализации токсина в культуре клеток, будучи использован в соответствующей клинической ситуации, обладает очень высокой специфичностью, поскольку специфический антитоксин нейтрализует цитотоксический эффект, опосредованный любым из двух токсинов, продуцируемых *C. difficile*.

Чувствительность данного метода также высокая и составляет, по разным данным, от 67 до 100% [128]. Однако большинство исследователей считает, что по чувствительности он уступает некоторым другим методам диагностики, в частности культуральному исследованию [113]. Так, по данным различных авторов, цитопатогенный тест и реакция нейтрализации токсина в культуре клеток дают отрицательные результаты у 15–38% пациентов с подтвержденными *C. difficile*-ассоциированными диареей и колитом [129]. У некоторых пациентов отмечалось прогрессирование процесса с развитием ПМК и летальным исходом.

Чувствительность данного метода может варьировать в зависимости от способа центрифугирования клинического материала, используемой клеточной линии, субъективности оценки микробиологом цитопатического эффекта, а также из-за возможной инактивации токсина В в процессе хранения и подготовки образцов [37].

К недостаткам метода относятся высокая стоимость, необходимость специального оборудования для поддержания культуры тканей, длительность исследования (до 2 сут) и отсутствие стандартизации.

В связи с указанными недостатками Общество эпидемиологических ассоциаций рекомендует использовать этот метод в сочетании с бактериологическим исследованием [113, 130] в целях достижения оптимальной диагностической чувствительности (за счет культурального метода) и специфич-

ности (за счет цитопатогенного теста и реакции нейтрализации токсина в культуре клеток) [32].

Перед этим исследованием следует тщательно отобрать пациентов, у которых использование метода будет иметь диагностическую ценность. Согласно клиническому прогностическому правилу, проверенному на определенном количестве больных, у госпитализированных пациентов, не получавших antimicrobные препараты в предшествующие 30 дней и не имевших клинически значимой диареи (определение см. выше) или болевого абдоминального синдрома, с высокой степенью вероятности результаты цитопатогенного теста на *C. difficile* будут отрицательными.

О клиническом преимуществе использования этого правила свидетельствует его высокая специфичность: у 94–97% соответствующих ему пациентов в образцах кала не обнаруживается цитотоксин, что позволяет избежать у них исследования цитопатического эффекта в культуре клеток.

Так, D.A. Katz и соавт. установили, что с учетом использования этого правила данный метод исследования у 29–39% пациентов является нецелесообразным и приводит к дополнительным экономическим затратам [131].

Более того, тесты на выявление *C. difficile* и ее токсинов не должны использоваться в следующих ситуациях:

- у пациентов с оформленным калом (исключение составляют случаи кишечной непроходимости, возможно, связанной с *C. difficile*);
- у детей в возрасте до 1 года; высокий процент ложноположительных результатов в данной группе связан с отсутствием корреляции между частотой клинических форм заболеваний (низкая) и частотой обнаружения токсина в кале (высокая);
- для контроля эффективности лечения, так как у определенной части пациентов еще длительное время после полного клинического выздоровления в кале обнаруживается токсин *C. difficile*.

Культуральное исследование

Бактериологический (культуральный) метод исследования остается незаменимым как для клинической диагностики инфекции *C. difficile*, так и для эпидемиологических исследований. Во многих лабораториях он является самым надежным и наиболее широко используемым методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней, обладающим высокой чувствительностью [113, 132].

Как указывалось, для выделения возбудителя используется селективная среда ССФА, содержащая цефокситин, циклосерин и фруктозу. Для культурального исследования образцы кала непо-

средственно инокулируются на среду ССФА. Затем инкубируются в анаэробных условиях при температуре 35–37°C в течение 18–24 ч.

При росте на среде ССФА *C. difficile* образует бело-желтые колонии диаметром 2–4 мм, плоские, округлой или неправильной формы, с неровным или ризоидным краем, матовые, не образующие зоны гемолиза. Рост *C. difficile* сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху *p*-крезола или лошадиного помета.

Использование для выделения возбудителя других питательных сред, например агара с цикloserином и маннитолом, кровяного агара с цикloserином и маннитолом, не имеет существенных преимуществ перед средой ССФА [133].

Предварительная идентификация *C. difficile* может быть сделана на основании характерной морфологии колоний, результатов микроскопии окрашенных по Граму препаратов, в которых обнаруживаются грамположительные палочки, и специфического запаха. Окончательная идентификация возбудителя основана на выявлении методом газожидкостной хроматографии уникальных продуктов метаболизма КЦЖК и определении специфических биохимических свойств, характерных для данного возбудителя.

Однако необходимо отметить, что только выделение и идентификация *C. difficile* (без последующего определения продукции токсинов всеми выделенными штаммами) обладает низкой специфичностью и приводит к гипердиагностике *C. difficile*-ассоциированных болезней, особенно в случаях, когда имеется высокая распространенность бессимптомного носительства нетоксигенных штаммов возбудителя. Объясняется это тем, что нетоксигенные штаммы *C. difficile* не играют роли в патологии человека и крайне редко вызывают развитие клинических форм болезни.

Таким образом, культуральный метод (выделение и идентификация *C. difficile*) без определения токсигенности не может использоваться в качестве самостоятельного метода диагностики болезней, обусловленных этим возбудителем.

В связи с этим все выделенные штаммы *C. difficile* должны дополнительно тестироваться на токсинообразование *in vitro*. Для этого отбирают 4–6 типичных колоний, которые культивируют в сердечном-мозговом бульоне в анаэробных условиях при температуре 35–37°C в течение 24 ч. В последующем фильтраты суточной бульонной культуры тестируют на наличие токсина *C. difficile*, в частности, путем исследования цитотоксического эффекта.

В исследованиях продемонстрировано, что $\frac{2}{3}$ штаммов *C. difficile*, которые в культуре клеток не

проявляли цитопатического эффекта, продуцировали токсин *in vitro*. Титр выделенного токсина оказался несколько ниже, чем у штаммов, обладавших цитопатическим эффектом в культуре клеток. Этим, вероятно, и объясняется несоответствие между клиническими и лабораторными данными. Несмотря на длительность исследования (2–3 сут), культуральный метод с последующим тестированием выделенных штаммов на токсигенность является надежным методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней, обладающим более высокой чувствительностью и равнозначной специфичностью по сравнению с таковыми цитопатогенного теста [129, 132, 134].

В то же время большинство лабораторий, в том числе и в нашей стране, не имеют оборудования для проведения дифференциальной диагностики между токсигенными и нетоксигенными (и соответственно непатогенными) штаммами *C. difficile* или используют алгоритмы диагностики, ориентированные только на выделение и идентификацию культуры возбудителя. Это, в свою очередь, приводит к большому количеству ложноположительных результатов с учетом того, что в некоторых стационарах до 20–25% штаммов *C. difficile* являются нетоксигенными.

Одновременное проведение цитопатогенного теста или использование методов определения продукции токсина *in vitro* позволяет разрешить эту проблему, однако требуют дополнительных экономических затрат.

Латекс-агглютинация

Первым наиболее доступным коммерческим тестом, альтернативным культуральному исследованию, был метод *латекс-агглютинации*. При его создании предполагалось, что он позволит определять токсин А *C. difficile*, присутствующий в кале, за счет связывания со специфическими антителами, фиксированными на частицах латекса. Метод имел низкую стоимость, был прост в использовании, а результаты исследования можно было оценить уже через 30 мин.

Однако через некоторое время после начала широкого применения метода латекс-агглютинации было отмечено, что положительную реакцию дают как токсикогенные, так и нетоксигенные штаммы *C. difficile*. Кроме того, некоторые другие микроорганизмы давали положительную реакцию. Оказалось, что антиген, распознаваемый в этом тесте, является глутаматдегидрогеназой – ферментом, не играющим определенной роли в развитии болезни и продуцируемый некоторыми другими микроорганизмами.

Глутаматдегидрогеназа *C. difficile* – часть белкового комплекса, связанного с токсином А. Несмотря на тщательную очистку токсина А, необходимого для получения антител, используемых в тест-системе, материал содержал небольшое количество глутаматдегидрогеназы, обладающей высокой иммуногенностью. В результате в реакции агглютинации антитела связывались преимущественно с ней. Несмотря на то что глутаматдегидрогеназа входит в состав антигенов многих бактерий, эпитоп, определяемый данным методом, оказался все-таки относительно специфичным для *C. difficile*.

По данным сравнительных исследований, у пациентов с манифестными формами инфекции *C. difficile* чувствительность метода латекс-агглютинации колеблется от 58 до 68%, а специфичность – от 94 до 96% [128].

Преимуществами данного теста являются быстрота получения результатов, низкая стоимость и простота использования. Однако существенные недостатки, такие, как невозможность дифференциации между токсигенными и нетоксигенными штаммами *C. difficile*, позволяют использовать данный метод только в скрининговых исследованиях [135]. Кроме того, существуют более чувствительные и специфичные тесты быстрой диагностики, основанные на определении глутаматдегидрогеназы с помощью антител, например *иммуноферментный анализ* (ИФА).

Иммуноферментный анализ

Определение токсинов *C. difficile* в образцах кала с помощью ИФА получило в последнее время широкое распространение. В сравнительных исследованиях изучены характеристики как минимум 8 коммерческих тест-систем. Все они несколько различаются по чувствительности и специфичности, однако в целом обладают высокой достоверностью результатов [135].

К преимуществам метода ИФА относятся: простота использования, высокая скорость получения результатов (2–3 ч) и специфичность, относительно невысокая стоимость, отсутствие необходимости работы с культурами клеток. По данным сравнительных исследований, у пациентов с клинической картиной *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита, подтвержденных положительными результатами культурального исследования и теста на определение токсина в культуре клеток, чувствительность метода ИФА составляет 63–94%, специфичность – 75–100% [32].

В целом метод, как и отдельные коммерческие тест-системы, обладает более низкой по сравнению с цитотоксическим тестом чувствительностью.

Тем не менее имеющиеся преимущества позволяют рассматривать ИФА как приемлемую альтернативу. В некоторых лабораториях для подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней используют комбинацию этих двух методов. Так, Y.C. Manabe и соавт. установили, что использование цитотоксического теста в качестве дополнения к ИФА повышает чувствительность при исследовании первого образца испражнений с 72 до 81% [136].

Различные модификации данного метода позволяют определить в кале либо токсин А, либо одновременно токсины А и В [137, 138]. Однако предпочтительным является использование тест-систем, позволяющих обнаружить оба токсина *C. difficile*. Связано это с тем, что некоторые штаммы возбудителя (в частности, относящиеся к серогруппе F) продуцируют только токсин В [94, 139].

В настоящее время обнаружены также штаммы *C. difficile*, вызывающие развитие заболевания у человека и продуцирующие токсин А, не обнаруживаемый при иммунологических исследованиях. В экспериментах установлено, что эти штаммы имеют мутацию гена *tcdA* в 139-й позиции [140].

В последнее время в качестве скрининг-метода определения *C. difficile* в испражнениях при *C. difficile*-ассоциированной диарее разработана тест-система на основе ИФА, позволяющая определить глутаматдегидрогеназу. Результаты теста можно оценить уже через 15–20 мин. У пациентов с диагнозом *C. difficile*-ассоциированной диареи, подтвержденным цитопатическим тестом или комбинацией его с ИФА, использующим специфические антитела к токсинам, чувствительность и специфичность этого скрининг-теста составляет 84–92 и 96–100% соответственно [129, 141].

Дот-иммуноблотинг и полимеразная цепная реакция

ПЦР – относительно новый и перспективный метод диагностики болезней, вызванных *C. difficile* [142, 143]. Описано успешное применение ПЦР для выявления токсигенных штаммов *C. difficile* [144, 145, 146]. Для этого используется метод амплификации специфических участков генома возбудителя, кодирующих токсин А и/или В.

N. Kato и соавт. разработали методику, позволяющую амплифицировать специфический для *C. difficile* участок гена, кодирующего токсин А, не дающий перекрестной реакции с участками ДНК токсигенных штаммов *C. sordellii* [144].

S.J. Kuhl и соавт. разработали двухступенчатый протокол ПЦР, в котором используются праймеры к участку 16S рибосомальной РНК *C. difficile*

и участку гена, кодирующего токсин В [147]. Положительный результат ПЦР наблюдался у 4 из 12 пациентов, имевших отрицательные результаты цитотоксического теста.

Диагностическая значимость ПЦР и *dot-иммуноблоттинга* остается неясной. Однако, по-видимому, со временем эти методы широко распространятся в практике клинических диагностических лабораторий. Это станет возможным тогда, когда их стоимость станет сопоставимой со стоимостью цитотоксического теста и ИФА.

Пока ни один из лабораторных тестов не может быть использован в качестве самостоятельного метода диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней. Оптимальным является использование комбинации двух лабораторных тестов, позволяющих достичь максимально высокой чувствительности и специфичности исследования [32, 113, 148].

Для экспресс-диагностики и при скрининговых исследованиях применяют один из тестов на определение токсина в образцах кала (ИФА или латекс-агглютинация).

Во всех случаях результаты лабораторных исследований должны тщательно сопоставляться с анамнезом, клинической картиной болезни и данными дополнительных методов обследования пациента.

Лечение

Общие положения

Пациенты с клиническими формами инфекции *C. difficile* (диареей, колитом, ПМК) подлежат контактной изоляции с проведением текущей и заключительной дезинфекции. Такой подход диктуется возможностью распространения инфекции от человека к человеку и необходимостью предотвращения контаминации возбудителем объектов окружающей среды.

Первичные лечебные мероприятия при *C. difficile*-ассоциированных заболеваниях заключаются в отмене по возможности «причинного» антибиотика и восстановлении водно-электролитного баланса организма путем проведения оральной регидратации.

Следует избегать назначения препаратов, угнетающих перистальтику кишечника, например лоперамида и дифеноксила гидрохлорида. Так, некоторыми авторами продемонстрирована связь между использованием дифеноксилата, лоперамида и других средств, угнетающих моторику кишечника, с развитием токсического мегаколона у пациентов с *C. difficile*-ассоциированным колитом и ПМК.

Эти препараты, способствуя стазу кишечного содержимого, теоретически увеличивают риск прогрессирования повреждения слизистой оболочки кишечника и усиления воспалительного процесса в связи с увеличением времени контакта слизистой оболочки с токсинами возбудителя. Более того, развитие стаза кишечного содержимого может усиливать размножение *C. difficile*.

Этиотропная терапия

Приблизительно у $1/4$ пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями диарея исчезает самостоятельно после отмены антибактериальной терапии. Однако у большинства пациентов требуется назначение специфической антибактериальной терапии [149, 150]. Критериями ее назначения являются динамика клинической симптоматики после отмены «причинного» антибиотика и степень тяжести болезни. Специфическая антибактериальная терапия показана также всем пациентам, у которых не представляется возможным прекратить прием антибиотика или заменить его другим, в меньшей степени способствующим развитию *C. difficile*-ассоциированных болезней.

При выборе антибиотика учитывают два основных фактора: чувствительность возбудителя и возможность достижения максимальной концентрации препарата в кишечнике, в связи с чем предпочтение отдается пероральным лекарственным формам.

Препаратами выбора являются метронидазол или ванкомицин, которые назначают внутрь [4, 37, 149]. Своевременное назначение метронидазола или ванкомицина внутрь при *C. difficile*-ассоциированной диарее обычно позволяет предотвратить развитие ПМК [84].

Ванкомицин

Ванкомицин стал первым препаратом, продемонстрировавшим высокую активность в отношении *C. difficile*. В связи с этим все последующие подходы к терапии этой инфекции сравнивают с ним по эффективности как с «золотым» стандартом [37]. Многочисленные рандомизированные сравнительные клинические исследования, проведенные в последние 20 лет, подтверждают высокую клиническую эффективность ванкомицина при лечении *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита.

Большинство штаммов *C. difficile* имеет *минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) ванкомицина, равную 1 мг/л. Фактически все штаммы подавляются при концентрации 16 мг/л, что на несколько порядков ниже концентраций, достигае-

мых в просвете кишечника при приеме ванкомицина внутрь (2000–5000 мг/л) [151, 152, 153]. Такие высокие концентрации в просвете кишечника объясняются крайне низкой всасываемостью препарата в желудочно-кишечном тракте. Более того, в отличие от метронидазола высокий уровень ванкомицина в кишечнике поддерживается на протяжении всего курса терапии.

Для лечения пациентов с клинически манифестными формами инфекции *C. difficile* ванкомицин традиционно назначают внутрь в дозе 500 мг 4 раза в сутки в течение 10 дней. Однако в недавно проведенных исследованиях была продемонстрирована сходная клиническая эффективность традиционного режима терапии ванкомицином и альтернативной схемы лечения: внутрь в дозе 125 мг 4 раза в сутки в течение 7 дней [37]. Однако эффективность последнего режима требует проведения большего количества клинических исследований.

Клиническая эффективность различных режимов терапии ванкомицином, по данным сравнительных исследований, колеблется от 86 до 100%, частота рецидивов после курса лечения – от 15 до 33% [154]. Согласно результатам ретроспективного анализа исходов болезни у пациентов, получавших ванкомицин внутрь (в дозе от 0,5 до 2,0 г/сут в течение 10–14 дней), неудовлетворительные результаты лечения наблюдались всего в 3% случаев [155].

В целом клиническая эффективность (оценивалась как быстрое улучшение состояния и исчезновение симптомов без изменения режима терапии) составила 87%, а частота рецидивов после курса лечения – 24% [155].

Эффект при назначении ванкомицина обычно отмечается уже на 1–2-е сутки и проявляется уменьшением лихорадки, частоты дефекаций (до 4–5 раз в сутки), улучшением общего самочувствия [37, 149]. Диарея разрешается обычно в течение 2–4 сут, хотя у некоторых пациентов наблюдается более медленный ответ на терапию. Эффективность лечения ванкомицином можно оценивать не ранее чем с 7-х суток лечения [150, 153].

Эффективность ванкомицина в дозе 125 мг 4 раза в сутки существенно возрастает при увеличении продолжительности терапии до 10 дней по сравнению с таковой при 5- и 7-дневных курсах лечения [153].

Показаниями к применению ванкомицина являются: случаи *C. difficile*-ассоциированной диареи, резистентные к терапии адекватными дозами метронидазола, тяжелое течение болезни, в том числе ПМК, рецидивы инфекции [156]. Строгие ограничения для использования ванкомицина связаны с потенциально высоким риском селекции резистентности к нему у энтерококков [4, 37, 150].

По данным Д.М. Насек и соавт., частота обнаружения ванкомицинорезистентных энтерококков в испражнениях пациентов, обследованных на наличие *C. difficile*, составляет 14%, в то время как в общей популяции их распространенность составляет 11% [157]. В то же время, несмотря на высокий риск селекции ванкомицинорезистентных энтерококков, ванкомицин остается препаратом для лечения тяжелых и угрожающих жизни форм *C. difficile*-ассоциированных болезней.

До последнего времени высокая стоимость ванкомицина являлась фактором, ограничивающим его широкое применение. На отечественном фармацевтическом рынке уже появились более дешевые генерики.

Метронидазол

Несмотря на то что метронидазол и ванкомицин обладают одинаковой клинической эффективностью при лечении *C. difficile*-ассоциированных болезней, в большинстве случаев метронидазол является препаратом выбора. Это связано с более низкой его стоимостью [117] и отсутствием риска формирования резистентности к ванкомицину у энтерококков.

Подавляющее большинство штаммов *C. difficile* высокочувствительно к метронидазолу и имеет МПК₉₀ метронидазола в пределах от 0,25 до 1,0 мг/л в зависимости от региона [158, 159].

Основная цель терапии – создание максимальной концентрации антибиотика в просвете кишечника. Именно с этим связаны теоретические возражения против применения метронидазола, так как препарат почти полностью всасывается в тонкой кишке. В результате у здоровых лиц, а также у бессимптомных носителей *C. difficile* в просвете толстой кишки метронидазол обнаруживается в минимальных концентрациях [160–163]. В то же время оказалось, что у пациентов с *C. difficile*-ассоциированной диареей бактерицидные концентрации в кишечнике легко достигаются при приеме препарата внутрь.

Так, в одном исследовании 9 пациентов с диареей, вызванной *C. difficile*, имели бактерицидные концентрации метронидазола (в среднем $9,3 \pm 7,5$ мг/л водянистых испражнений) и его метаболита (гидроксиметронидазола) в кишечнике, сохранявшиеся на протяжении всего курса терапии [164]. Концентрация метронидазола и гидроксиметронидазола снижалась по мере разрешения диареи и становилась неопределяемой после клинического выздоровления. Это, возможно, связано с тем, что в острый период инфекции препарат интенсивно секретируется через воспаленную стенку кишки

и по мере стихания воспалительного процесса закономерно снижается его выделение в кишечник.

Вероятно также, что сокращение времени пассажа препарата через кишечник в результате повышенной перистальтической активности снижает его абсорбцию и соответственно повышает уровень в кишечном содержимом [165]. Этот феномен рассматривается в качестве объяснения развития рецидивов, наблюдаемых при лечении метронидазолом.

Имеются сообщения о том, что препарат может достигать бактерицидных концентраций в просвете кишечника и при внутривенном введении [164, 166], однако этиотропная терапия в большинстве случаев должна проводиться пероральными его формами.

Метронидазол для лечения клинически манифестных форм инфекции *C. difficile* применяется внутрь в дозе 250 мг 4 раза в сутки или 500 мг 3 раза в сутки в течение 7 дней.

Клиническая эффективность метронидазола при лечении диарей, вызванных *C. difficile*, составляет 94–95%, частота рецидивов колеблется от 5 до 16% [150, 167]. В самом крупном исследовании, в которое были включены 632 пациента с *C. difficile*-ассоциированной диареей, метронидазол продемонстрировал высокую эффективность при пероральном применении. Частота нежелательных лекарственных реакций, неудовлетворительных исходов лечения и рецидивов составила 1, 2 и 7% соответственно [117].

Другие антимикробные препараты

В последние годы широко изучалась эффективность различных антимикробных агентов и других препаратов, связывающих токсин, при лечении первого эпизода *C. difficile*-ассоциированного заболевания.

Бацитрацин в связи с относительно низкой эффективностью по сравнению с таковой пероральных форм *ванкомицина* и *метронидазола*, высокой стоимостью и низкими вкусовыми качествами используется для лечения *C. difficile*-ассоциированных диарей и колита в очень редких случаях, когда не могут быть использованы метронидазол и ванкомицин.

Бацитрацин, как и ванкомицин, плохо абсорбируется в кишечнике при приеме внутрь и достигает высокой концентрации в просвете толстой кишки. Однако его клиническая эффективность переменна и зависит от действия большого количества факторов. Препарат применяется внутрь в дозе 20 000–25 000 МЕ 4 раза в сутки в течение 7–10 дней.

Эффективность *тейкопланина* и *фузидиевой кислоты* сравнима с таковой у ванкомицина и ме-

тронидазола [104, 168–171], однако опыт использования этих антибиотиков крайне ограничен.

Поиск новых эффективных антибактериальных препаратов ведется постоянно. М.Н. Wilcox и соавт. установили, что среди фторхинолонов наибольшей активностью в отношении *C. difficile* обладает *моксифлоксацин*. Однако на основании изучения штаммов, выделенных в Великобритании, они пришли к выводу о нецелесообразности использования этих препаратов в связи с быстрым формированием резистентности возбудителя к фторхинолонам [172].

Определенные надежды возлагались на новые препараты из группы макролидов, в частности на *телитромицин*. Однако оказалось, что он подавляет рост только 46–56% штаммов *C. difficile* [173].

Другие препараты

Наряду с поиском новых антибиотиков, обладающих активностью в отношении *C. difficile*, изучаются препараты, которые могли бы использоваться в качестве дополнительной терапии болезней, вызванных данным возбудителем.

Анионообменные смолы, такие, как *холестир-амин* и *колестипол*, используемые для лечения гиперхолестеринемии, обладают способностью связывать токсин В, продуцируемый *C. difficile*. Ряд авторов предлагает применять их для лечения легких форм болезни или для закрепления эффекта антимикробной терапии в качестве препаратов второго ряда, а также в комплексном лечении рецидивов инфекции *C. difficile*.

Однако данные об эффективности этих препаратов весьма противоречивы. Так, в одном проспективном исследовании клинический эффект терапии колестиполом отмечался только у 5 из 14 пациентов с микробиологически подтвержденной инфекцией *C. difficile*. В другом ретроспективном исследовании из 19 пациентов, получавших холестирамин, у 37% был зарегистрирован неудовлетворительный ответ на терапию. Более того, имеются сообщения о возможности абсорбции холестирамина в желудочно-кишечном тракте и поступлении его в системный кровоток.

Установлено, что причинами вариабельной эффективности холестирамина являются изменение рН кишечника и конкурентные взаимодействия с некоторыми компонентами кишечного содержимого [174]. В связи с этим он не рекомендуется для рутинного использования при *C. difficile*-ассоциированных болезнях.

В результате изучения 14 препаратов, содержащих *соли висмута*, установлено, что наибольшей активностью *in vitro* обладают синтетические пре-

параты висмута, МПК которых для данного возбудителя составляет <1 мг/л [175]. Механизм антимикробной активности этих препаратов в отношении *C. difficile* пока не изучен.

Широко обсуждается целесообразность использования *гормональных препаратов* при лечении *C. difficile*-ассоциированной диареи. Это связано с обнаружением определенной взаимосвязи между уровнем глюкокортикоидов в крови и степенью выраженности секреторного эффекта, развивающегося в результате действия токсина А, продуцируемого *C. difficile*.

В экспериментах установлено, что введение *дексаметазона* лабораторным крысам приводит к ингибированию индуцированной токсином А секреции в тонкой кишке, снижению активности воспалительной реакции и уменьшению продукции макрофагального воспалительного белка 2 [176]. И наоборот, применение антагонистов глюкокортикоидных рецепторов RU-486 способствует увеличению степени выраженности воспалительного процесса и усилению секреции в тонкой кишке [176].

Экспериментальные исследования, проведенные в последнее десятилетие прошлого века, подтверждают ведущую роль в патогенезе диареи нейрогуморальных механизмов, реализующихся при участии таких веществ, как *5-гидрокситриптамин*, *субстанция Р*, *вазоактивный интестинальный полипептид*. Установлено, что токсин, продуцируемый *V. cholerae*, энтеротоксины *E. coli* и токсин А *C. difficile* запускают эти механизмы при развитии диареи.

Эти знания открывают новое направление в создании антисекреторных средств – изучение возможностей использования с этой целью антагонистов 5-НТ-рецепторов, антагонистов субстанции Р, ингибиторов фермента энкефалиназы, содержащейся в нервной ткани [156].

Тактика антибактериальной терапии

Первый эпизод

Этиотропная терапия первичного эпизода *C. difficile*-ассоциированной диареи или колита (в том числе ПМК) проводится *метронидазолом* или *ванкомицином*. Во всех возможных случаях используются пероральные формы препаратов. По описанным причинам предпочтительным является метронидазол.

Показаниями к назначению ванкомицина остаются только случаи *C. difficile*-ассоциированной диареи при отсутствии эффекта от адекватных доз метронидазола и, возможно, лечение тяжелых форм болезни, в том числе и ПМК [177].

Стандартная схема применения метронидазола предусматривает назначение по 500 мг 4 раза в сутки перорально. Курс лечения – 10 – 14 дней.

Ванкомицин применяют внутрь в дозе 125 мг 4 раза в сутки в течение 7–14 дней.

Если состояние больного не улучшается в течение нескольких суток, то необходимо исключить кишечную непроходимость и другие синдромо-подобные болезни.

В некоторых случаях пациенты не могут принимать препараты внутрь в связи с развитием паралитической кишечной непроходимости, обструкцией кишечника, оперативным вмешательством или санацией желудочно-кишечного тракта через постоянный назогастральный зонд. Однако пока нет убедительных данных об эффективности парентеральной антибиотикотерапии *C. difficile*-ассоциированных инфекций. Одним из вариантов лечения в таких условиях является внутривенное введение метронидазола. Однако данные об эффективности такого подхода противоречивы.

В одном клиническом исследовании внутривенное применение метронидазола продемонстрировало высокую эффективность у 6 пациентов с синдромом острого живота, ААК (ПМК в 5 случаях) и положительными результатами реакции латекс-агглютинации на *C. difficile*. Параллельно 3 пациентам вводился ванкомицин через назогастральный зонд.

В то же время в других исследованиях продемонстрирована низкая эффективность терапии парентеральными формами этого препарата [178]. В отношении использования парентеральных форм ванкомицина также имеются неоднозначные данные как подтверждающие эффективность данного режима, так и опровергающие ее [178]. Так, например, в одном исследовании при лечении пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями уровень ванкомицина не определялся в кале даже после 5 сут использования его парентеральной формы [179].

Встречаются описания исследований различных режимов терапии, включавших сочетание нескольких способов введения одного или нескольких препаратов. Некоторые авторы предлагают ректальное введение ванкомицина в сочетании с введением ванкомицина или метронидазола внутривенно или через назогастральный зонд [180, 181].

Ванкомицин может вводиться как в виде лекарственных микроклизм, так и через постоянный катетер, установленный при колоноскопии. Тем не менее безопасность и эффективность такого метода остаются не изученными. Более того, имеются сообщения о возможности поступления препарата в системный кровоток при длительной инстилляции в кишечник.

Отсутствие проспективных контролируемых клинических исследований эффективности различных схем терапии при невозможности приема препарата внутрь не позволяет дать четкие рекомендации. Тем не менее предлагаются следующие режимы лечения:

- внутривенно метронидазол 500 мг каждые 6–8 ч;
- ванкомицин через назогастральный зонд в дозе 500 мг каждые 6 ч;
- ванкомицин в виде лекарственных микроклизм в дозе 500 мг каждые 4–8 ч;
- вливание ванкомицина через катетер, введенный в толстую кишку [153, 182].

В редких случаях у пациентов с тяжелым течением патологии кишечника выраженным преимуществом обладают хирургическая декомпрессия кишечника и непосредственное введение ванкомицина или метронидазола через колостому [153].

У отдельных пациентов, особенно при развитии таких осложнений, как токсический мегаколон или перфорация кишечника, спасительной процедурой является хирургическое вмешательство. По данным разных авторов, частота необходимых хирургических вмешательств у пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями составляет 0,39–3,6%. Показаниями к операции являются: сохранение или прогрессирование симптомов интоксикации, непрерывная диарея, симптомы перитонита или перфорации кишки, усиление изменений в толстой кишке, подтвержденное при повторном томографическом исследовании. В этих случаях проводятся илеостомия, цекостомия или декомпрессивная колостомия.

Операцией выбора у пациентов с фульминантным токсическим мегаколоном, связанным с ПМК, является субтотальная или тотальная колэктомия [183].

Летальность при *C. difficile*-ассоциированном колите, требующем хирургического лечения, колеблется от 30 до 50%.

Рецидив инфекции

Одна из нерешенных проблем *C. difficile*-ассоциированных болезней – рецидивирование инфекции. Частота рецидивов колеблется от 5 до 53%. У 2–8% пациентов, получавших специфическую терапию, отмечаются множественные рецидивы – 5 и более [10, 117, 149, 150, 168]. По данным M.J. Zimmerman и соавт., рецидивы развивались у 5–16% пациентов, получавших метронидазол, у 16–33% – лечившихся ванкомицином и у 42% – после полного курса терапии бацитрацином [171].

Наиболее рациональное объяснение рецидивирования инфекции *C. difficile* – персистирование спор возбудителя, которые могут выживать даже

при высоких концентрациях ванкомицина в просвете кишечника и сохранять жизнеспособность как во время терапии, так и после ее завершения. Механизм развития рецидива *C. difficile*-ассоциированной диареи или колита у пациентов, получавших метронидазол и ванкомицин, различен.

Так, концентрация метронидазола в кале по мере исчезновения диареи резко снижается, что может стать причиной сохранения жизнеспособных спор возбудителя. В то же время даже высокие концентрации ванкомицина обладают в отношении *C. difficile* бактериостатическим действием, что позволяет микроорганизму выжить в условиях действия антибиотика [164]. В результате исследований установлено, что, несмотря на концентрацию ванкомицина в просвете толстой кишки, в несколько сотен раз превышавшей его МПК для *C. difficile*, добиться полной эрадикации возбудителя практически не удалось. Объяснить этот факт можно, вероятно, персистированием спор возбудителя и прорастанием их в вегетативные формы после прекращения приема ванкомицина или метронидазола. Размножающиеся бактерии сохраняют способность к токсинообразованию, что и обуславливает развитие рецидивов болезни.

Тактика лечения при возникновении рецидивов основана на тех же принципах, что и при лечении первого эпизода. Как правило, пациенты с повторным эпизодом *C. difficile*-ассоциированного заболевания хорошо отвечают на повторный курс ванкомицина или метронидазола: у 92% пациентов в последующем не возникает рецидивов диареи [117].

Принципиальное значение при повторных курсах антибактериальной терапии имеет назначение более длительного лечения, использование комбинации антибиотиков, интенсивное применение дополнительных неспецифических методов терапии и восстановление нарушенной микроэкологии кишечника. К числу предлагаемых вариантов терапии рецидивов инфекции *C. difficile* относятся:

- комбинированное применение ванкомицина и рифампицина [184];
- пульс-терапия ванкомицином с последующим его приемом в снижающейся суточной дозе [185];
- использование традиционных схем лечения (ванкомицин или метронидазол внутрь) в сочетании с длительным курсом холестирамина [186];
- курсы ванкомицина с последующим применением *Saccharomyces boulardii* [187];
- использование метронидазола или бацитрацина с последующим пероральным приемом культуры *Lactobacillus GG* [188].

Некоторые авторы рассматривают такие методы лечения, как пероральное применение культуры нетоксигенных штаммов *C. difficile* [189], прием IgA внутрь [190], ирригация кишечника раствором полиэтиленгликоля [191], введение в микроклизмах взвеси различных факультативных аэробов и анаэробов [192].

В одном мультицентровом плацебоконтролируемом сравнительном клиническом исследовании было продемонстрировано, что при пероральном применении *Saccharomyces boulardii* (курс – 4 нед) в сочетании с традиционной антимикробной терапией рецидивирующих *C. difficile*-ассоциированных болезней достоверно снижалось число неудовлетворительных результатов [193]. В то же время подобного эффекта не отмечалось при лечении первого эпизода диареи и колита.

При тяжелых рецидивирующих формах колита, вызванного *C. difficile*, особенно у лиц с подтвержденным низким титром специфических IgG к токсину А, эффективно внутривенное введение гамма-глобулина [194, 195].

Перечисленные методы использовались только при отсутствии эффекта от повторных курсов специфической антимикробной терапии или в качестве дополнительных средств лечения.

S.L. Gorbach и соавт. рекомендуют лечить рецидивы инфекции *C. difficile* в 2 этапа.

На первом этапе – 10–14-дневный курс терапии ванкомицином или метронидазолом.

На втором этапе – пульс-терапия ванкомицином по схеме: внутрь в дозе 125 мг через сутки в течение 4 нед [149]. На этом этапе вместо антибактериальной терапии можно использовать холестирамин внутрь по 4 г 3 раза в день в сочетании с биопрепаратами, содержащими лактобактерии (например, *Lactinex*) по 1 г 4 раза в день.

Длительность курса – 4 нед.

Целью данной схемы лечения является остановка размножения *C. difficile* на первом этапе терапии и окончательное ингибирование размножения и токсинообразования на втором этапе, в течение которого обязательно проведение мероприятий по восстановлению микроэкосистемы желудочно-кишечного тракта, прежде всего толстой кишки. Вместе с тем эффективность данной схемы, как и других терапевтических подходов, требует проведения большего числа клинических исследований.

Восстановление биоценоза кишечника

В отличие от антибиотиков биопрепараты, содержащие культуры бактерий (пробиотики), могут использоваться скорее не как средство лечения, а

как препараты для профилактики *C. difficile*-ассоциированных болезней [196, 197].

Для лечения и профилактики *C. difficile*-ассоциированных болезней используют *B. longum*, *Lactobacillus* GG или *Saccharomyces boulardii*, комбинированные препараты на основе *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*, йогурты на основе *L. casei* GG, ферментированного молока [198, 199, 200].

Существенное снижение частоты рецидивов *C. difficile*-ассоциированных болезней отметили С.М. Surawicz и соавт. при применении двухэтапной терапии. Согласно их схеме на первом этапе назначаются высокие дозы ванкомицина (до 2 г/сут) в течение 10 дней, на втором – препараты, содержащие *S. boulardii* (1 г/сут) в течение 28 дней.

При сравнительном анализе у пациентов, получавших монотерапию ванкомицином, частота рецидивов составила 50%, в то время как у пациентов, получавших двухэтапную терапию, – только 16,7% [187].

Об эффективности профилактического применения пробиотиков свидетельствуют результаты использования биологически активного комплекса, содержащего *Bifidobacterium longum* 536, *Lactobacillus acidophilus* NCFB 1748 и неусваиваемый олигосахарид олигофруктозу. Ежедневный прием этого комплекса в сочетании с обычным питанием позволяет предупредить колонизацию кишечника *C. difficile* у пациентов, получающих пероральные формы антибиотиков [201].

Заключение

Необходимо еще раз отметить, что *C. difficile*-ассоциированные болезни, занимая одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и летальности среди инфекционных диарей, представляют серьезную проблему антимикробной терапии в условиях стационара. В то же время в нашей стране этому вопросу не уделяется должного внимания. В большинстве стационаров не проводятся диагностика и регистрация случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи. Связано это как с недостаточным представлением практическими врачами вопросов, касающихся инфекции *C. difficile*, так и с отсутствием соответствующей лабораторной базы, не позволяющем проводить микробиологическую диагностику болезней, вызванных этим возбудителем.

В связи с этим существует необходимость в расширении знаний вопросов, связанных с инфекцией *C. difficile*, проведения дополнительных клинических и эпидемиологических исследований, разработки отечественных питательных сред и

диагностических тест-систем, расширения рынка антимикробных препаратов, используемых для лечения *C. difficile*-ассоциированных болезней, а также создания единых, основанных на доказа-

тельных данных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике этой инфекции с учетом региональных и локальных особенностей.

Литература

- Garthright W.E., Archer D.I., Kvenberg J.E. Estimates of incidence and cost of intestinal infectious diseases in the United States. Public Health Rep 1988; 103:107-15.
- Тайц Б.М., Зуева Л.П. Инфекционный контроль в лечебно-профилактических учреждениях. СПб: СПбГМА им. И.И. Мечникова; 1998. с. 295.
- Frost F., Craun G.F., Calderon R.L. Increasing Hospitalization and Death Possibly Due to *Clostridium difficile* Diarrheal Disease. Emerg Infect Dis 1998; 4:619-25.
- Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1992; 15:573-81.
- McFarland L.V. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. Diagn Dis 1998; 16:292-307.
- McFarland L.V., Surawicz C.M., Rubin M., Fekety R., Elmer G.W., Greenberg R.N. Recurrent *Clostridium difficile* disease: epidemiology and clinical characteristics. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20:43-50.
- Bartlett J.G. Antibiotic-associated colitis. Dis Mon 1984; 30:1-55.
- Малов В.А., Бондаренко В.М., Пак С.Г. Роль *Clostridium difficile* в патологии человека. Журнал микробиол 1996; 1:91-6.
- Ерюхин И.А., Шляпников С.А., Лебедев В.Ф., Иванов Г.А. Псевдомембранозный колит и «кишечный сепсис» – следствие дисбактериоза, вызванного антибиотиками. Вестн хир 156 (2):108-11.
- Mylonakis E., Ryan E.T., Calderwood S.B. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: A review. Arch Intern Med 2001; 161:525-33.
- Clostridium difficile* in England and Wales – weeks 1-26/99. Commun Dis Rep CDR Wkly 1999; 9:366.
- Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B., Eriksson S., Granstrom G., Lagergren L., Englund G., Nord C.E., Svenungsson B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients; a prospective study. J Antimicrob Chemother 2001; 47:43-50.
- Mayfield J.L., Leet T., Miller J., Mundy L.M. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis 2000;31:995-1000.
- Finney J.M. Gastroenterostomy for cicatrizing ulcer of the pylorus. Johns Hopkins Hosp Bull 1893; 11:53-5.
- Bennet I.L., Wood J.S., Yardley H.H. Staphylococcal pseudomembranous enterocolitis in chinchillas: A clinico-pathologic study. Trans Assoc Am Physician 1956; 69:116.
- Dearing W.H., Baggenstoss A.H., Weed L.A. Studies on the relationship of *Staphylococcus aureus* to pseudomembranous enteritis and to postantibiotic enteritis. Gastroenterology 1960; 38:441-51.
- Altemeier W.A., Hummel R.P., Hill E.O. Staphylococcal enterocolitis following antibiotic therapy. Ann Surg 1963;157:847-58.
- Fekety R. Staphylococcal diarrhea and enterocolitis. In: Crossley K.B., Archer G.L., eds. The Staphylococci in Human Disease. New York: Churchill Livingstone; 1997. p. 545-63.
- Lusk R.H., Fekety F.R. Jr., Silva J. Jr., et al. Gastrointestinal side effects of clindamycin and ampicillin therapy. J Infect Dis 1977; 135(Suppl 1):S111-9.
- Gurwith M.J., Rabin H.R., Love K. Diarrhea associated with clindamycin and ampicillin therapy: Preliminary results of a cooperative study. J Infect Dis 1977; 135(Suppl 1):S104-10.
- Robertson M.B., Breen K.J., Desmond P.V., et al. Incidence of antibiotic-related diarrhoea and pseudomembranous colitis: A prospective study of linkomycin, clindamycin and ampicillin. Med J Aust 1977; 1:243-6.
- Tedesco F.J., Barton R.W., Alpers D.H. Clindamycin-associated colitis. Ann Intern Med 1974; 81:429-33.
- Hafiz S. *Clostridium difficile* and Its Toxins [dissertation]. Leeds, England, Univ. Leeds; 1974. PhD.
- Bartlett J.G., Onderdonk A.B., Cisneros R.L., Kasper D.L. Clindamycin-associated colitis due to toxin-producing species of *Clostridium difficile* in hamsters. J Infect Dis 1977; 136:701-5.
- Bartlett J.G., Chang T.W., Gurwith M., Gorbach S.L., Onderdonk A.B. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. N Engl J Med 1978; 298:531-43.
- Rifkin G.D., Fekety F.R., Silva J. Jr. Antibiotic-induced colitis: Implication of a toxin neutralised by *Clostridium sordellii* antitoxin. Lancet 1977; 2:1103-6.
- Larson H.E., Price A.B. Pseudomembranous colitis: Presence of clostridial toxin. Lancet 1977; 2:1312-4.
- George W.L., Sutter V.L., Citron D. et al. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 1979; 9:214-9.
- Lyerly D.M., Allen S.D. The clostridia. In: Emmerson A.M., Hawkey P.M., Gillespie S.H., eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Chichester: John Wiley & Sons; 1997. p. 599-623.
- Lai K.K., Melvin Z.S., Menard M.J. et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: Epidemiology, risk factors, and infection control. Infect Control Hosp Epidemiol 1997; 18:628-32.
- Ho M., Yang D., Wyle F.A., Mulligan M.E. Increased incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea following decreased restriction of antibiotic use. Clin Infect Dis 1996; 23(Suppl 1):S102-6.

32. Gerding D.N., Johnson S., Peterson L.R., Mulligan M.E., Silva J.Jr. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16:459-77.
33. Foulke G.E., Silva J.Jr. *Clostridium difficile* in the intensive care unit; management problems and prevention issues. *Crit Care Med* 1989;17:822-6.
34. Kent K.C., Rubin M.S., Wroblewski L., Hanff P.A., Silen W. The impact of *Clostridium difficile* on a surgical service: a prospective study of 374 patients. *Ann Surg* 1998; 227:296-301
35. Delmee M., Vandercam B., Avesani V., Michaux J.L. Epidemiology and prevention of *Clostridium difficile* infections in a leukemia unit. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:623-7.
36. Bender B.S., Bennett R., Laughon B.E., Greenough W.B. 3rd, Gaydos C., Sears S.D., Forman M.S., Bartlett J.G. Is *Clostridium difficile* endemic in chronic care facilities? *Lancet* 1986; 2:11-3.
37. Fekety R., Shah A.B. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis. *JAMA* 1993; 209:71-5.
38. Samore M.H., DeGirolami P.C., Tlucko A., Lichtenberg D.A., Melvin Z.A., Karchmer A.W. *Clostridium difficile* colonization and diarrhea at a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis* 1994; 18:181-7.
39. Stubbs S.L., Brazier J.S., O'Neill G.L., Duerden B.I. PCR targeted to the 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region of *Clostridium difficile* and construction of a library consisting of 116 different PCR ribotypes. *J Clin Microbiol* 1999; 37:461-3.
40. Kato H., Kato N., Watanabe K., Yamamoto T., Suzuki K., Ishigo S., Kunihiro S., Nakamura I., Killgore G.E., Nakamura S. Analysis of *Clostridium difficile* Isolates from Nosocomial Outbreaks at Three Hospitals in Diverse Areas of Japan. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1391-5.
41. Van Dijk P., Avesani V., Delmee M. Genotyping of outbreak-related and sporadic isolates of *Clostridium difficile* belonging to serogroup C. *J Clin Microbiol* 1996; 34:3049-55.
42. Samore M.H., Bettin K.M., DeGirolamini P.C. et al. Wide diversity of *Clostridium difficile* types at a tertiary referral hospital. *J Infect Dis* 1994; 170:615-21.
43. O'Neil G.L., Beaman M.H., Riley T.V. Relapse vs reinfection with *Clostridium difficile*. *Epidemiol Infect* 1991; 107:627-35.
44. Wilcox M.H., Fawley W.N. Hospital disinfectants and spore formation by *Clostridium difficile*. *Lancet* 2001; 356:1324.
45. Nath S.K., Thornley J.H., Kelly M., Kucera B., On S.L., Holmes B., Costas M. A sustained outbreak of *Clostridium difficile* in a general hospital: persistence of a toxigenic clone in four units. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15:382-9.
46. Testore G.P., Pantosti A., Cerquetti M., et al. Evidence for cross-infection in an outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in surgical unit. *J Med Microbiol* 1988; 26:125-8.
47. Clabots C.R., Peterson L.R., Gerding D.N. Characterization of a nosocomial *Clostridium difficile* outbreak by using plasmid profile typing and clindamycin susceptibility testing. *J Infect Dis* 1988; 158:731-6.
48. Johnson S., Gerding D.N. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1027-36.
49. Nolan N.P., Kelly C.P., Humphreys J.F. et al. An epidemic of pseudomembranous colitis: importance of person to person spread. *Gut* 1987; 28:1467-73.
50. Clabots C.R., Johnson S., Olson M.M., Peterson L.R., Gerding D.N. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection. *J Infect Dis* 1992; 166:561-7.
51. Hall I.C., O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants. *Am J Dis Child* 1935; 49:390-402.
52. Viscidi R., Wiley S., Bartlett J.G. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations. *Gastroenterology* 1981; 81:5-9.
53. Eglow R., Pothoulakis C., Itzkowitz S., et al. Diminished *Clostridium difficile* toxin A sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor. *J Clin Invest* 1992; 90:822-9.
54. Rolfe R.D., Song W. Immunoglobulin and non-immunoglobulin components of human milk inhibit *Clostridium difficile* toxin A-receptor binding. *J Med Microbiol* 1995; 42:10-9.
55. Dallas S.D., Rolfe R.D. Binding of *Clostridium difficile* toxin A to human milk secretory component. *J Med Microbiol* 1998; 47:879-88.
56. Kamaras J., Murrell W.G. Intestinal epithelial damage in sids babies and its similarity to that caused by bacterial toxins in the rabbit. *Pathology* 2001; 33:197-203.
57. Aronsson B., Mollby, Nord C.E. Antimicrobial agents and *Clostridium difficile* in acute enteric disease: epidemiologic data from Sweden 1981-1982. *J Infect Dis* 1985; 151:476-81.
58. Nakamura S., Mikawa M., Takabatake M., et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the feces and antibody in sera of young and elderly adults. *Microbiol Immunol* 1981; 25:345-51.
59. Thielman N.M. Antibiotic-associated colitis. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 1111-26.
60. Shim J.K., Johnson S., Samore M.H., Bliss D.Z., Gerding D.N. Primary symptomless colonisation by *Clostridium difficile* and decreased risk of subsequent diarrhea. *Lancet* 1998; 351:633-6.
61. McFarland L.V., Mulligan M., Kwok R.Y.Y., Stamm W.E. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320:204-10.
62. Johnson S., Gerding D.N., Olson M.M., Weiler M.D., Hughes R.A., Clabots C.R., Peterson L.R. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. *Am J Med* 1990; 88:137-40.
63. Fekety R., Kim K.H., Brown D., et al. Epidemiology of antibiotic associated colitis: isolation of *Clostridium difficile* from the hospital environment. *Am J Med* 1981; 70:906-8.
64. Malamou-Ladas H., O'Farrell S., Nash J.Q., Tabaqchali S. Isolation of *Clostridium difficile* from patients and the environment of hospital wards. *J Clin Pathol* 1983; 36:88-92.

65. Kim K.H., Fekety R., Batts D.H., et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the environment and contacts of patients with antibiotic-associated colitis. *J Infect Dis* 1981;143:42-50.
66. Simor A.E., Yake S.L., Tsimidis K: Infection due to *Clostridium difficile* among elderly residents of a long-term care facility. *Clin Infect Dis* 1993; 17:672-8.
67. Riley T.V., Adams J.E., O'Neil G.L., Bowman R.A. Gastrointestinal carriage of *Clostridium difficile* in cats and dogs attending veterinary clinics. *Epidemiol Infect* 1991; 107:659-65.
68. Greenfield C., Aguilar Ramirez J.R., Pounder R.E., et al. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Gut* 1983;24:713-7.
69. Hirschhorn L.R., Tinka Y., Onderdonk A., Lee M-L.T., Platt R. Epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* associated diarrhea. *J Infect Dis* 1994; 169:127-33.
70. Pear S., Williamson T., Bettin K., Gerding D.N., Galgiani J.N. Decrease in nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea by restricting clindamycin use. *Ann Intern Med* 1994; 120:272-7.
71. Anand A., Bashey B., Mir T., Glatt A.E. Epidemiology, clinical manifestations, and outcome of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:519-23.
72. Anand A., Glatt A.E. *Clostridium difficile* infection associated with antineoplastic chemotherapy: a review. *Clin Infect Dis* 1993; 17:109-13.
73. Emoto M., Kawarabayashi T., Hachisuga M.D., et al. *Clostridium difficile* colitis associated with cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol* 1996; 61:369-72.
74. Grube B.J., Heimbach D.M., Marvin J.A. *Clostridium difficile* diarrhea in critically ill burned patients. *Arch Surg* 1987; 122:655-61.
75. Aronsson B., Barany P., Nord C.E., et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in uremic patients. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:352-6.
76. Heard S.R., Wren B., Barnett M.J., et al. *Clostridium difficile* infection in patients with haematological malignant disease. Risk factors, faecal toxins and pathogenic strains. *Epidemiol Infect* 1988; 100:63-72.
77. Pierce P.F. Jr., Wilson R., Silva J.Jr., et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis: an epidemiologic investigation of a cluster of cases. *J Infect Dis* 1982; 45:269-74.
78. Buchner A.M., Sonnenberg A. Medical diagnoses and procedures associated with *Clostridium difficile* colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:766-72.
79. Cheng S.H., Lu J.J., Young T.G., Perng C.L., Chi W.M. *Clostridium difficile*-associated diseases: comparison of symptomatic infection versus carriage on the basis of risk factors, toxin production, and genotyping results. *Clin Infect Dis* 1997; 25:157-8.
80. Mody L.R., Smith S.M., Dever L.L. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a VA medical center: clustering of cases, association with antibiotic usage, and impact on HIV-infected patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:42-5.
81. Selva O'Callaghan A., Yuste M., Armadansa L., Almirante Gragerab B., San Jose Laporte A., Vilardell Tarres M. Factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhea in elderly patients. A case-control study. *Med Clin (Barc)* 2000; 115:499-500.
82. McFarland L.V., Surawicz C.M., Stamm W.E. Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *J Infect Dis* 1990; 62:678-84.
83. Goldhill J.M., Rose K., Percy W.H. Effect of antibiotics on epithelial ion transport in the rabbit distal colon in vitro. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48:651-6.
84. Salyers, Abigail A. Pseudomembranous Colitis: A Disease Caused by Antibiotics. In: Salyers, Abigail A. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. Washington: American Society for Microbiology; 1994. p. 282-9.
85. Allen S.D., Emery C.L., Siders J.A. *Clostridium*. In: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H., editors. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 1999. p. 654-72.
86. Just I., Selzer J., Wilm M., von Eichel-Streiber C., Mann M., Aktories K. Glycosylation of Rho proteins by *Clostridium difficile* toxin B. *Nature* 1995; 375: 500-3.
87. Hecht G., Pothoulakis C., LaMont J.T., Madara J.L. *Clostridium difficile* toxin A perturbs cytoskeletal structure and tight junction permeability of cultured human intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1988; 82:1516-24.
88. Nusrat A., von Eichel-Streiber C., Turner J.R., Verkade P., Madara J.L., Parkos C.A. *Clostridium difficile* toxins disrupt epithelial barrier function by altering membrane microdomain localization of tight junction proteins. *Infect Immun* 2001; 69:1329-36.
89. Feltis B.A., Wiesner S.M., Kim A.S., Erlandsen S.L., Lyerly D.L., Wilkins T.D., Wells C.L. *Clostridium difficile* toxins A and B can alter epithelial permeability and promote bacterial paracellular migration through HT-29 enterocytes. *Shock* 2000; 14:629-34.
90. Hatheway C.L. Toxigenic clostridia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3:66-98.
91. Seddon S.V., Hemingway I., Borriello S.P. Hydrolytic enzyme production by *Clostridium difficile* and its relationship to toxin production and virulence in the hamster model. *J Med Microbiol* 1990; 31:169-74.
92. Cohen S.H., Tang Y.J., Silva J. Jr. Analysis of the Pathogenicity Locus in *Clostridium difficile* Strains. *J Infect Dis* 2000; 181:659-63.
93. Mani N., Dupuy B. Regulation of toxin synthesis in *Clostridium difficile* by an alternative RNA polymerase sigma factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:5844-9.
94. Borriello S.P., Wren B.W., Hyde S., et al. Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1992; 60:4192-9.
95. Guerrant R.L., Lima A.A.M., Thielman N.M., et al. Diarrhea, demography and cell signaling: Lessons from microbial toxins. *Am Clin Climat Assn* 1997; 108:149-64.

96. Bartlett J.D. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. In: Gorbach S.L., Bartlett J.G., Blacklow N.R. Infectious diseases. 2nd edition. Washington D.C.: W.B. Saunders Company; 1998. p. 748-56.
97. Torres J., Jennische E., Lange S., Lonnroth I. Enterotoxins from *Clostridium difficile*; diarrhoeogenic potency and morphological effects in the rat intestine. Gut 1990; 31:781-5.
98. Pothoulakis C., Sullivan R., Melnick D.A., Triadafilopoulos G., Gadenne A.S., Meshulam T., LaMont J.T. *Clostridium difficile* toxin A stimulates intracellular calcium release and chemotactic response in human granulocytes. J Clin Invest 1988; 81:1741-5.
99. Fonteles M., Fang G., Thielman N.M., et al. Role of platelet activating factor in the inflammatory and secretory effects of *Clostridium difficile* toxin A. J Lipid Mediat Cell Signal 1995; 11:133-43.
100. Castagliuolo I., Keates A.C., Qui B., et al. Increased substance P responses in dorsal root ganglia and intestinal macrophages during *Clostridium difficile* toxin A enteritis in rats. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:4788-93.
101. Steiner T.S., Flores C.A., Pizarro T.T., Guerrant R.L. Fecal lactoferrin, interleukin-1beta, and interleukin-8 are elevated in patients with severe *Clostridium difficile* colitis. Clin Diagn Lab Immunol 1997; 4:719-22.
102. Rocha M.F., Maia M.E., Bezerra L.R., et al. *Clostridium difficile* toxin A induces the release of neutrophil chemotactic factors from rat peritoneal macrophages: Role of interleukin-1beta, tumor necrosis factor alpha, and leukotrienes. Infect Immunol 1997; 65:2740-6.
103. Mantyh C.R., McVey D.C., Vigna S.R. Extrinsic surgical denervation inhibits *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in rats. Neurosci Lett 2000; 292:95-8.
104. Hagenauer C., Hammer H.F., Krejs G.J., Reisinger E.C. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1998; 27:702-70.
105. Barth H., Pfeifer G., Hofmann F., Maier E., Benz R., Aktories K. Low pH-induced formation of ion channels by *Clostridium difficile* toxin B in target cells. J Biol Chem 2001; 276:10670-6.
106. Rocha M.F., Soares A.M., Ribeiro R.A., Lima A.A. Absence of intestinal secretion on supernatants from macrophages stimulated with *Clostridium difficile* toxin B on rabbit ileum. Toxicon 2001; 39:335-40.
107. Pothoulakis C., Lamont J.T. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions II. The integrated response of the intestine to *Clostridium difficile* toxins. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001; 280:G178-83.
108. Borriello S.P., Davies H.A., Barclay F.E. Detection of fimbriae amongst strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 1988; 49:65-7.
109. Hennequin C., Porcheray F., Waligora-Dupriet A.J., Collignon A., Barc M.C., Bourlioux P., Karjalainen T. GroEL (Hsp60) of *Clostridium difficile* is involved in cell adherence. Microbiology 2001; 147(Pt 1):87-96.
110. Waligora A.J., Hennequin C., Mullany P., Bourlioux P., Collignon A., Karjalainen T. Characterization of a cell surface protein of *Clostridium difficile* with adhesive properties. Infect Immun 2001; 69:2144-53.
111. Karjalainen T., Waligora-Dupriet A.J., Cerquetti M., Spigaglia P., Maggioni A., Mauri P., Mastrantonio P. Molecular and genomic analysis of genes encoding surface-anchored proteins from *Clostridium difficile*. Infect Immun 2001; 69:3442-6.
112. Tasteyre A., Karjalainen T., Avesani V., Delmee M., Collignon A., Bourlioux P., Barc M.C. Molecular characterization of *fliD* gene encoding flagellar cap and its expression among *Clostridium difficile* isolates from different serogroups. J Clin Microbiol 2001; 39:1178-83.
113. Kelly P.J., Peterson L.R. The role of clinical microbiology laboratory in the management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Infect Dis Clin North Am 1993; 7:277-93.
114. Putterman C., Rubinow A. Reactive arthritis associated with *Clostridium difficile* pseudomembranous colitis. Semin Arthritis Rheum 1993; 22:420-6.
115. Jacobs A., Barnard K., Fishel R., Gradon J.D. Extracolonic manifestations of *Clostridium difficile* infections. Presentation of 2 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore) 2001; 80:88-101.
116. Sakurai T., Hajiro K., Takakuwa H., Nishi A., Aihara M., Chiba T. Liver abscess caused by *Clostridium difficile*. Scand J Infect Dis 2001; 33:69-70.
117. Olson M.M., Shanholtzer C.J., Lee J.T. Jr., Gerding D.N. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982-1991. Infect Control Hosp Epidemiol 1994; 15:371-81.
118. Kyne L., Warny M., Qamar A., Kelly C.P. Association Between Antibody Response to Toxin A and Protection Against Recurrent *Clostridium difficile* Diarrhea. Lancet 2001; 357:189-93.
119. Aronsson B., Mollby R., Nord C.E. Diagnosis and epidemiology of *Clostridium difficile* enterocolitis in Sweden. J Antimicrob Chemother 1984; 14:85-95.
120. Bulusu M., Narayan S., Shetler K., Triadafilopoulos G. Leukocytosis as a harbinger and surrogate marker of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea. Am J Gastroenterol 2000; 95:3137-41.
121. Savola K.L., Baron E.J., Tompkins L.S., Passaro D.J. Fecal leukocyte stain has diagnostic value for outpatients but not inpatients. J Clin Microbiol 2001; 39:266-9.
122. Boland G.W., Lee M.J., Cats A., Mueller P.R. Pseudomembranous colitis: diagnostic sensitivity of the abdominal plain radiograph. Clin Radiol 1994; 49:473-5.
123. Blickman J.G., Boland G.W., Cleveland R.H., Bramson R.T., Lee M.J. Pseudomembranous colitis: CT findings in children. Pediatr Radiol 1995; 25:S157-9.
124. Kirkpatrick I.D., Greenberg H.M. Evaluating the CT diagnosis of *Clostridium difficile* colitis: should CT guide therapy? AJR Am J Roentgenol 2001; 176:635-963.
125. Bergstain J.M., Kramer A., Wittman D.H., Aprahamian C., Quebbeman E.J. Pseudomembranous colitis: how useful is endoscopy? Surg Endosc 1990; 4:217-9.
126. Peterson L.R., Holter J.J., Shanholtzer C.J., Garrett C.R., Gerding D.N. Detection of *Clostridium diffi-*

- cile toxins A (enterotoxin) and B (cytotoxin) in clinical specimens. Evaluation of a latex agglutination test. *Am J Clin Pathol* 1986; 86:208-11.
127. Lysterly D.M., Barroso L.A., Wilkins T.D., et al. Characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1992; 60:4633-9.
 128. Peterson L.R., Olson M.M., Shanholtzer C.J., et al. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, Cytotoxin testing and culturette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1988; 10: 85-91.
 129. Staneck J.L., Weckbach L.S., Allen S.D., Siders J.A., Gilligan P.H., et al. Multicenter evaluation of four methods for *Clostridium difficile* detection: ImmunoCard C. difficile, cytotoxin assay, culture, and latex agglutination. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2718-21.
 130. Barbut F., Kajzer C., Planas N., et al. Comparison of three enzyme immunoassays, a cytotoxicity assay and toxigenic culture for the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 1993; 31:963-7.
 131. Katz D.A., Bates D.W., Rittenberg E., et al. Predicting *Clostridium difficile* stool cytotoxin results in hospitalized patients with diarrhea. *J Gen Intern Med* 1997; 12:57-62.
 132. Peterson L.R., Kelly J.P., Nordbrock H.A. Role of culture and toxin detection in laboratory testing for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:330-6.
 133. Mundy L.S., Shanholtzer C.J., Willard K.E., Gerding D.N., Peterson L.R. Laboratory detection of *Clostridium difficile*: a comparison of media and incubation conditions. *Am J Clin Pathol* 1994; 103:52-6.
 134. Shanholtzer C.J., Willard K.E., Holter J.J., Olson M.M., Gerding D.N., Peterson L.R. Comparison of the VIDAS *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with *C. difficile* culture and cytotoxin and latex tests. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1837-40.
 135. Vanpoucke H., De Baere T., Claeys G., Vanechoutte M., Verschraegen G. Evaluation of six commercial assays for the rapid detection of *Clostridium difficile* toxin and/or antigen in stool specimens. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7:55-64.
 136. Manabe Y.C., Vinetz J.M., Moore R.D., et al. *Clostridium difficile* colitis: An efficient clinical approach to diagnosis. *Ann Intern Med* 1995; 123:835-40.
 137. Lozniewski A., Rabaud C., Dotto E., Weber M., Mory F. Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile*-associated Diarrhea and Colitis: Usefulness of Premier Cytoclon A+B Enzyme Immunoassay for Combined Detection of Stool Toxins and Toxigenic *C. difficile* Strains. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1996-2008.
 138. Sultana Q., Chaudhry N.A., Munir M., Anwar M.S., Tayyab M. Diagnosis of *Clostridium difficile* antibiotic associated diarrhea culture versus toxin assay. *J Pak Med Assoc* 2000; 50:246-9.
 139. Depitre C., Delmee M., Avesani V., et al. Serogroup F strains of *Clostridium difficile* produce toxin B but not toxin A. *J Med Microbiol* 1993; 3:434-41.
 140. Sambol S.P., Merrigan M.M., Lysterly D., Gerding D.N., Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect Immun* 2000; 68:5480-7.
 141. Ridell S., Gilligan P., McMilon L. Evaluation of the ImmunoCard Toxin A membrane EIA for *Clostridium difficile* toxin A. Proceedings of the 97th General Meeting of the American Society for Microbiology; 1997; Washington, DC: American Society for Microbiology; 1997. p.165.
 142. Wren B.W., Clayton C.L., Casstledine N.B., et al. Identification of toxigenic *Clostridium difficile* strains by using a toxin A gene-specific probe. *J Clin Microbiol* 1990; 28:1808-12.
 143. Phelps C.J., Lysterly D.L., Johnson J.L., et al. Construction and expression of the complete *Clostridium difficile* toxin A gene in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1991; 59:150-3.
 144. Kato N., Ou C-Y., Kato H., et al. Identification of toxigenic *Clostridium difficile* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29:33-7.
 145. Gummerlock P.H., Tang Y.J., Weiss J.B., Silva J. Jr. Specific detection of toxigenic strains of *Clostridium difficile* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31:507-11.
 146. Kato N., Ou C-Y., Kato H., et al. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* in stool specimens by the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1993; 167:455.
 147. Kuhl S.J., Tang Y.J., Navarro L., Gummerlock P.H., Silva J. Jr. Diagnosis and monitoring of *Clostridium difficile* infections with the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (Suppl 4):S234-8.
 148. Fang F.C., Gerding D.N., Peterson L.R. Diagnosis of *Clostridium difficile* colitis. *Ann Intern Med* 1996; 125:515; discussion 516.
 149. Bartlett J.G. Treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Gastroenterology* 1985; 89:1192-5.
 150. Teasley D.G., Gerding D.N., Olson M.M., Peterson L.R., Gebhard R.L., Schwartz M.J., Lee J.T. Jr. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Lancet* 1983; 2:1043-6.
 151. Silva J. Jr, Batts D.H., Fekety R., Plouffe J.F., Rifkin G.D., Baird I. Treatment of *Clostridium difficile* colitis and diarrhea with vancomycin. *Am J Med* 1981; 71:815-22.
 152. Антибактериальная терапия: Практическое руководство. Л.С. Страчунский, Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н., ред. М; 2000.
 153. Peterson L.R., Gerding D.N. Antimicrobial agents in *Clostridium difficile*-associated intestinal disease. In: Raubaud J.-C., Ducluzeau R., editors. *Clostridium difficile*-associated Intestinal Diseases. Paris: Springer Verlag; 1990. p. 115-27.
 154. Fekety R., Silva J., Kauffman C., Buggy B., Deery H.G. Treatment of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis with oral vancomycin: comparison of two dosage regimens. *Am J Med* 1989; 86:15-9.
 155. Bartlett J.G. Treatment of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Rev Infect Dis* 1984; 6 (Suppl 1):S235-41.

156. Farthing M.J. Novel targets for the pharmacotherapy of diarrhea: a view for the millennium. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:G38-45.
157. Hacek D.M., Bednarz P., Noskin G.A., Zembower T., Peterson L.R. Yield of Vancomycin-Resistant Enterococci and Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae from Stools Submitted for *Clostridium difficile* Testing Compared to Results from a Focused Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1152-4.
158. Chow A.W., Cheng N., Bartlett K.H. *In vitro* susceptibility of *Clostridium difficile* to new beta-lactam and quinolone antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28:842-4.
159. Levett P.N. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* determined by disc diffusion and breakpoint methods. *J Antimicrob Chemother* 1988; 22:167-73.
160. Лекарственные средства: Пособие по фармакотерапии для врачей. В 2 ч. Ч. 2. Минск; 1987. с. 527.
161. Hoverstad T., Carlstedt-Duke B., Lingaas E., Midtvedt T., Norin K.E., Saxerholt H., Steinbakk M. Influence of ampicillin, clindamycin, and metronidazole on faecal excretion of short-chain fatty acids in healthy subjects. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21:621-6.
162. Arabi Y., Dimock F., Burdon D.W., Alexander-Williams J., Keighley M.R. Influence of neomycin and metronidazole on colonic microflora of volunteers. *J Antimicrob Chemother* 1979; 5:531-7.
163. Johnson S., Homann S.R., Bettin K.M., Quick J.N., Clabots C.R., Peterson L.R., Gerding D.N. Treatment of asymptomatic *Clostridium difficile* carriers (fecal excretors) with vancomycin or metronidazole. A randomized, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1992; 117:297-302.
164. Bolton R.P., Culshaw M.A. Faecal metronidazole concentrations during oral and intravenous therapy for antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*. *Gut* 1986; 27:1169-72.
165. Ings R.M., McFadzean J.A., Ormerod W.E. The fate of metronidazole and its implications in chemotherapy. *Xenobiotica* 1975; 5:223-5.
166. Kleinfeld D.I., Sharpe R.J., Donta S.T. Parenteral therapy for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *J Infect Dis* 1988; 157(2):389.
167. Wenisch C., Parschlk B., Hasenhundl M., et al. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 813-8.
168. Young G.P., Ward P.B., Bayley N., Gordon D., Higgins G., Trapani J.A., McDonald M.I., Labrooy J., Hecker R. Antibiotic-associated colitis due to *Clostridium difficile*: double-blind comparison of vancomycin with bacitracin. *Gastroenterology* 1985; 89:1038-45.
169. De Lalla F., Nicolini R., Rinaldi E., Scarpellini P., Rigoli R., Manfrin V., Tamarin A. Prospective study of oral teicoplanin versus oral vancomycin for therapy of pseudomembranous colitis and *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:2192-6.
170. Dudley M.N., McLaughlin J.C., Carrington G., Frick J., Nightingale C.H., Quintiliani R. Oral bacitracin vs vancomycin therapy for *Clostridium difficile*-induced diarrhea. A randomized double-blind trial. *Arch Intern Med* 1986; 146:1101-4.
171. Zimmerman M.J., Bak A., Sutherland L.R. Treatment of *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:1003-12.
172. Wilcox M.H., Fawley W., Freeman J., Brayson J. *In vitro* activity of new generation fluoroquinolones against genotypically distinct and indistinguishable *Clostridium difficile* isolates. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 551-6.
173. Wexler H.M., Molitoris E., Molitoris D., Finegold S.M. *In vitro* activity of telithromycin (HMR 3647) against 502 strains of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:467-9.
174. Palace G.P., Lazari P., Norton K. Analysis of the physicochemical interactions between *Clostridium difficile* toxins and cholestyramine using liquid chromatography with post-column derivatization. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1546:171-84.
175. Mahony D.E., Lim-Morrison S., Bryden L., Faulkner G., Hoffman P.S., Agocs L., Briand G.G., Burford N., Maguire H. Antimicrobial Activities of Synthetic Bismuth Compounds against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:582-8.
176. Castagliuolo I., Karalis K., Valenick L., Pasha A., Nikulasson S., Wlk M., Pothoulakis C. Endogenous corticosteroids modulate *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280:G539-45.
177. Hasan M.S., Smith J.W. Bacterial Infections of the Colon. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2000; 3:249-63.
178. Oliva S.L., Guglielmo B.J., Jacobs R., Polis V.G. Failure of intravenous vancomycin and intravenous metronidazole to prevent or treat antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *J Infect Dis* 1989; 159:1154-5.
179. Tedesco F., Markham R., Gurwith M., et al. Oral vancomycin for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978; 2:226-8.
180. Pasic M., Jost R., Carrel T., et al. Intracolonic vancomycin for pseudomembranous colitis. *N Engl J Med* 1993; 329:583.
181. Bublin J.G., Barton T.L. Rectal use of vancomycin. *Ann Pharmacother* 1994; 28:1357-8.
182. Cohen H., Brocavich J.M. Managing *Clostridium difficile* colitis in patients who lack oral access. *Infect Med* 1996; 13:101-9.
183. Lipsett P.A., Samantaray U.K., Tam M.L., et al. Pseudomembranous colitis: A surgical disease? *Surgery* 1994; 116:491-6.
184. Buggy B.P., Fekety R., Silva J. Jr Therapy of relapsing *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis with the combination of vancomycin and rifampin. *J Clin Gastroenterol* 1987; 9:155-9.
185. Tedesco F.J., Gordon D., Fortson W.C. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated

- pseudomembranous colitis. *Am J Gastroenterol* 1985; 80:867-8.
186. Moncino M.D., Falletta J.M. Multiple relapses of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a cancer patient. Successful control with long-term cholestyramine therapy. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992; 14:361-4.
187. Surawicz C.M., McFarland L.V., Greenberg R.N., Rubin M., Fekety R., Mulligan M.E., Garcia R.J., Brandmarker S., Bowen K., Borjal D., Elmer G.W. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1012-7.
188. Biller J.A., Katz A.J., Flores A.F., et al. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus* GG. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21:224-6.
189. Seal D., Borriello S.P., Barclay F., et al. Treatment of relapsing diarrhoeae by administration of a nontoxigenic strain. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:51-3.
190. Tjellstrom B., Stenhammar L., Eriksson S., Magnusson K.E. Oral immunoglobulin A supplement in treatment of *Clostridium difficile* enteritis. *Lancet* 1993; 341:701-2.
191. Liacouras C.A., Piccoli D.A. Whole-bowel irrigation as an adjunct to the treatment of chronic, relapsing *Clostridium difficile* colitis. *J Clin Gastroenterol* 1996; 22:186-9.
192. Tvede M., Rask-Madsen J. Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhea in six patients. *Lancet* 1989; 1:1156-60.
193. McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., Fekety R., Elmer G.W., et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271:1913-8.
194. Leung D.Y., Kelly C.P., Boguniewicz M., Pothoulakis C., LaMont J.T., Flores A. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118:633-7.
195. Salcedo J., Keates S., Pothoulakis C., et al. Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut* 1997; 41:366-70.
196. Marteau P.R., Vrese M., Cellier C.J., Schrezenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:430S-6S.
197. Alvarez-Olmos M.I., Oberhelman R.A. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1567-76.
198. Forestier C., De Champs C., Vatoux C., Joly B. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res Microbiol* 2001; 152:167-73.
199. Castagliuolo I., Riegler M.F., Valenick L., LaMont J.T., Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67:302-7.
200. Hamilton-Miller J.M.T. Living in the «post-antibiotic era»: could the use of probiotics be an effective strategy? *Clin Microbiol Inf* 1997; 3:2-4.
201. Orrhage K., Sjostedt S., Nord C.E. Effect of supplements with lactic acid bacteria and oligofructose on the intestinal microflora during administration of cefpodoxime proxetil. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46:603-12.

УДК 616.24-002-085.2

Роль неантибактериальных лекарственных средств в лечении пневмонии

И.В. Смоленов, Я.Г. Алексеева, Н.А. Смирнов

Волгоградская государственная медицинская академия, Волгоград, Россия

В обзоре представлен анализ эффективности и целесообразности применения неантибактериальных средств в лечении внебольничных пневмоний. Показано, что в настоящее время отсутствуют убедительные данные, обосновывающие целесообразность назначения иммуномодуляторов, биогенных стимуляторов, витаминов, антигистаминных препаратов, а также длительного применения нестероидных противовоспалительных средств при лечении пневмоний. Эффективность и безопасность большинства из них не подтверждены резуль-

татами рандомизированных контролируемых многоцентровых исследований и требуют дальнейшего изучения. Вместе с тем добавление этих препаратов к адекватной антибиотикотерапии существенно увеличивает стоимость лечения, повышает риск развития нежелательных лекарственных явлений и снижает комплаентность.

Ключевые слова: пневмония, иммуномодуляторы, биогенные стимуляторы, витамины, антигистаминные препараты, нестероидные противовоспалительные средства.

The Role of Non-Antimicrobial Drugs in the Treatment of Pneumonia

I.V. Smolenov, Ya.G. Alekseeva, N.A. Smirnov

Volgograd State Medical Academy, Volgograd, Russia

In the present review the analysis of the efficacy and appropriateness of the use of non-antimicrobial medications in the treatment of community-acquired pneumonia is presented. It is shown, that at the present time there is no convincing data that can prove the expediency of use of immunomodulators, biogenic stimulators, vitamins, antihistamine and non-steroid anti-inflammatory drugs in the treatment of pneumonia. The efficacy and safety of the vast majority of above drug are

not confirmed by the well designed randomized multicenter studies and require further investigation. At the same time the addition of non-antimicrobials to the adequate antimicrobial therapy leads to significant increase of the cost of therapy, enhance risk of adverse reactions and decrease of compliance.

Key words: pneumonia, immunomodulators, biogenic stimulators, vitamins, antihistamines, non-steroid anti-inflammatory drugs.

Пневмония является одной из наиболее частых инфекционных болезней, занимающей 4-е место в структуре причин смертности. Летальность при

данной патологии составляет около 1% у амбулаторных пациентов, достигая 20–30% в отделениях интенсивной терапии [1, 2]. Несмотря на наличие в арсенале врача большого количества современных высокоэффективных антибактериальных средств, пока нет единого мнения относительно тактики лечения пациентов с пневмонией [3–6].

В последние годы большое внимание уделялось разработке современных стандартов лечения пневмонии [7–12]. Однако в различных национальных

Контактный адрес:

И.В. Смоленов

400066, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

Волгоградская государственная медицинская академия

Тел.: (8442) 43-61-72, 43-30-60

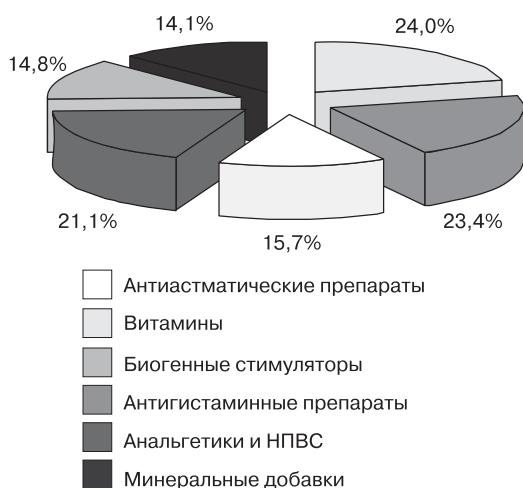
Эл. почта: siv@avtlg.ru

рекомендациях [9–12] подробно освещены лишь принципы антибактериальной терапии пневмонии. При этом антибиотикотерапия, являясь этиотропной, направлена исключительно на эрадикацию возбудителя, но не способна быстро и полностью устранить клинические проявления болезни, такие, как легочные симптомы и интоксикационный синдром.

Поэтому, несмотря на отсутствие единого мнения относительно целесообразности применения средств с другими (неантимикробными) механизмами действия, большинство врачей при лечении пневмонии продолжает использовать разнообразные *неантибактериальные препараты* (см. рисунок), такие, как витамины (24%), антигистаминные (23,4%) и антиастматические средства (15,7%), анальгетики и *нестероидные противовоспалительные средства* – НПВС (14,9 и 6,2% соответственно), биогенные стимуляторы (14,8%) и минеральные добавки (14,1%) [13].

Предполагается, что неантибактериальные препараты, не воздействуя на инфекционный процесс, уменьшают воспалительные изменения, улучшают перфузию легких, микроциркуляцию и лимфоотток, функцию механизмов местной бронхопульмональной защиты, способствуют восстановлению дренажной функции бронхов, нормализации тонуса бронхиальной мускулатуры, а также оказывают дезинтоксикационное, иммуномодулирующее и антиоксидантное действие [2, 14].

С этой точки зрения включение этих препаратов в схемы лечения больных с внебольничной пневмонией часто считается патогенетически обоснованным [1].



Структура применения неантибактериальных препаратов при пневмонии [13]

Целью данной статьи является анализ эффективности и обоснование целесообразности применения неантибактериальных средств в лечении внебольничной пневмонии с позиций *доказательной медицины*.

Для реализации поставленной цели были проанализированы результаты сравнительных клинических исследований, посвященных роли неантибактериальных средств в лечении пневмонии и отвечающих методологическим требованиям, предъявляемым к доказательным исследованиям в медицине (рандомизированные двойные слепые контролируемые многоцентровые исследования с адекватной статистической обработкой полученных данных). Изучались результаты метаанализов, обзоры и статьи, представленные в медицинских базах данных PubMed, Cochrane Library, UpToDate.

При изучении эффективности неантибактериальной терапии оценивали, насколько добавление того или иного препарата с неантибактериальной активностью к адекватной антибактериальной терапии способно изменить течение пневмонии. Оценивалось влияние терапии на такие показатели, как длительность сохранения симптомов болезни, продолжительность пребывания в стационаре, сроки рентгенологического разрешения, частота развития осложнений, летальность.

Иммуномодуляторы и биогенные стимуляторы

Эффективность иммунного ответа при пневмонии зависит от активации и привлечения в очаг воспаления лейкоцитов, прежде всего мононуклеарных фагоцитов. Легочные макрофаги активно фагоцитируют чужеродный материал, вырабатывают хемокины для иммунокомпетентных клеток, участвуют в гуморальном и клеточном иммунитете, регуляции функции лимфоцитов и других клеток [15, 16].

В развитии и разрешении воспалительного процесса в легких участвуют различные цитокины: *гранулоцитарный колониестимулирующий фактор* (Г-КСФ), *макрофагальный колониестимулирующий фактор*, *фактор некроза опухолей α* (ФНО- α), *интерлейкины* (ИЛ-3, ИЛ-10, ИЛ-12), хемокины, *интерферон γ* (ИНФ- γ), влияющие на функциональную активность лейкоцитов (регуляция хемотаксиса, фагоцитоза и бактерицидной активности) [16, 17, 18].

Нарушения иммунологической реактивности являются важнейшим звеном патогенеза пневмонии и одной из ведущих причин затяжного течения болезни [18]. Как правило, пневмония протекает на фоне снижения активности НК-клеток, Т-супрессоров, Т-хелперов и фагоцитарной функции нейтрофилов [16].

Расстройства иммунитета, свойственные пациентам с тяжелым течением пневмонии, побуждают исследователей к поиску иммунологических подходов к ее терапии.

Однако среди всех иммуномодулирующих препаратов только для Г-КСФ доказана клиническая эффективность в лечении пневмонии [19, 20]. Применение Г-КСФ (*filgrastim*) стимулирует продукцию и функциональную активность нейтрофилов у госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией, в том числе не имеющих нейтропении [20].

Установлено, что назначение филграстима в дозе 300 мкг/сут (10 дней) приводит к 3-кратному возрастанию уровня лейкоцитов в периферической крови, ускорению рентгенологического разрешения пневмонии, уменьшению частоты осложнений (развития эмпиемы плевры, респираторного дистресс-синдрома, ДВС-синдрома) [20]. При этом достоверного влияния на время разрешения болезни, длительность стационарного лечения и летальность не выявлено.

Проходят клинические испытания ФНО- α , ИЛ-3, ИЛ-10, ИЛ-12, хемокины, ИНФ- γ , антиполисахаридные антитела и антитела к цитокинам [16]. При изучении на лабораторных животных многие цитокины продемонстрировали способность увеличивать хемотаксис лейкоцитов и альвеолярных макрофагов к очагу воспаления легочной ткани и стимулировать пролиферацию эпителиальных клеток и фибробластов [16].

Есть мнение, что применение синтетических цитокинов у пациентов с бактериальной пневмонией позволит улучшить ее течение и снизить летальность [16]. Однако данные рандомизированных исследований эффективности подобных препаратов у пациентов с пневмонией отсутствуют.

В определенных случаях у пациентов с септическими состояниями эффективным оказывается внутривенное введение препаратов иммуноглобулинов А, М и G. Так, внутривенное назначение препаратов IgG и IgM (*pentaglobin*) при тяжелом течении бактериальных инфекций позволяет улучшить результаты лечения и повысить выживаемость больных [21]. Однако большинство исследователей не рассматривает пневмонию в качестве показания для внутривенного применения иммуноглобулинов.

В некоторых отечественных руководствах [2, 14] с целью иммунокоррекции при пневмонии рекомендуется включать в лечение различные иммуномодуляторы, в том числе *левамизол*, *продигиозан*, *сальмосан*, *тимические пептиды* (Т-активин, тималин, тимоптин), *пентоксил*, *анабол*, *нуклеинат натрия*, *зиксорин*, *диуцифон*, *адаптогены* (элеутерококк, женьшень, лимонник китайский, сапарал),

иммуноглобулин для внутримышечного применения, *интерфероны*, *лизоцим* и т. д.

Однако подавляющее большинство этих препаратов не прошло адекватных клинических исследований. Эффективность препаратов оценивалась главным образом по изменению показателей иммунологического статуса. При этом влияние терапии этими препаратами на другие показатели эффективности (длительность сохранения симптомов, рентгенологическую динамику и др.) не изучалось.

Некоторые считают, что применение средств «малой биологической стимуляции» (*экстракт алоэ*, *ФиБС* и др.) способствует повышению неспецифической резистентности организма и сокращению сроков рентгенологического разрешения пневмонии [2]. Применение экстракта алоэ у мышей с пневмонией, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, значительно повышает устойчивость к инфекции, что позволяет повысить противoinфекционную активность терапии. [22]. Однако в изучаемых базах данных сообщения о клинической эффективности биогенных стимуляторов у пациентов с пневмонией, подтвержденные результатами рандомизированных контролируемых исследований, отсутствуют.

Таким образом, возможно, что включение в комплексную терапию пневмонии иммуномодуляторов с доказанной клинической эффективностью позволит ограничить воспалительные повреждения легких, возникающие под воздействием патогенной микрофлоры, и улучшить результаты лечения пневмонии [16]. Но в то же время применение иммуномодуляторов с недоказанной клинической эффективностью может принести не только пользу, но и нанести существенный вред здоровью, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований для определения места препаратов этого класса в лечении больных пневмонией [23].

Витамины

Витамины и поливитаминные комплексы являются одной из часто назначаемых групп лекарственных препаратов при лечении инфекций дыхательных путей. Предполагается, что назначение высоких доз витаминов, в частности *витамина С*, позволяет уменьшить степень активации процессов перекисного окисления липидов, образования свободных радикалов, приводящих к повреждению мембран бронхопульмональной системы [14, 24]. Имеются предположения о способности витамина С снижать длительность инфекций дыхательных путей [25].

В то же время доказана лишь способность высоких доз аскорбиновой кислоты, принимаемой при первых симптомах *острой респираторной*

вирусной инфекции (ОРВИ), сокращать длительность болезни [25].

Установлено, что длительное назначение высоких доз витамина С в качестве добавок к пище не предотвращает развитие ОРВИ [25]. Также отсутствуют доказательные данные, свидетельствующие о влиянии витамина С на риск возникновения и тяжесть течения бактериальных инфекций, в частности пневмонии.

Другое обсуждаемое направление терапии острых инфекций нижних дыхательных путей – коррекция дефицита витаминов [26–29]. Результаты нескольких исследований, проведенных главным образом в развивающихся странах, продемонстрировали, что у детей с острой пневмонией снижается уровень циркулирующего в крови *витамина А*. Однако корреляции между исходной тяжестью течения болезни и степенью дефицита витамина А не выявлено [26]. Высказано предположение, что применение высоких доз витамина А может ускорить выздоровление детей с внебольничной пневмонией и сократить сроки их госпитального лечения [26–27].

Клинические исследования свидетельствуют о том, что дополнительное назначение высоких доз витамина А детям с внебольничной пневмонией достоверно не влияет на длительность болезни [27] и продолжительность госпитального лечения [26, 28, 29].

Однако анализ результатов исследований выявил и некоторые противоречия. Так, в одних исследованиях продемонстрировано, что применение витамина А усугубляет признаки дыхательной недостаточности (дополнительное снижение напряжения кислорода в артериальной крови), способствует более выраженному участию дыхательной мускулатуры в акте дыхания, увеличению потребности в дополнительной респираторной терапии [26].

В одной из работ показано уменьшение частоты лихорадки начиная с 3-х суток лечения у детей, получавших высокие дозы витамина А, после госпитализации [27]. Другие авторы указывают на отсутствие влияния приема витамина А на выраженность респираторных симптомов [29], частоту дыхания [28], средние сроки нормализации температуры тела [28, 29], динамику рентгенологических изменений [26], летальность и частоту развития нежелательных лекарственных явлений [26, 27]. Некоторые исследователи отмечают, что назначение высоких доз витамина А детям с пневмонией снижает риск неэффективности эмпирической антибактериальной терапии [27].

Таким образом, в настоящее время нет убедительных данных, свидетельствующих о том, что применение витамина А при лечении инфекций

нижних дыхательных путей приводит к изменению течения пневмонии [26–30].

Антигистаминные препараты

Роль и место *антигистаминных препаратов* в фармакотерапии инфекционных болезней дыхательных путей требуют уточнения.

Обладая антихолинергическим действием, антигистаминные препараты первого поколения (*дифенгидрамин, клемастин, хлоропирамин, ципрогептадин, прометазин* и др.) уменьшают продукцию слизи [31], что позволяет предположить их эффективность при ринорее, обусловленной аллергическим или инфекционным ринитом.

Кроме того, применение препаратов этой группы способствует подавлению кашля, что наиболее характерно для дифенгидрамина [31]. Это свойство антагонистов H_1 -рецепторов первого поколения реализуется за счет непосредственного действия на кашлевой центр [31].

Имеются сообщения, что добавление антигистаминных препаратов первого поколения (*оксатомид*) к противокашлевому средству (*декстрометорфану*) способствует уменьшению выраженности персистирующего кашля после перенесенных инфекций верхних дыхательных путей [32]. Однако данные, подтверждающие способность этих препаратов влиять на выраженность симптомов, в том числе на интенсивность кашля, у пациентов с пневмонией в анализируемых литературных источниках отсутствуют.

Установлено, что антигистаминные препараты первого поколения могут усилить бронхиальную обструкцию из-за увеличения вязкости мокроты [31]. Кроме того, частота и выраженность нежелательных лекарственных реакций (седативный эффект, ухудшение когнитивных функций и психомоторное возбуждение) не позволяют рассматривать антагонисты H_1 -рецепторов первого поколения как препараты выбора при лечении респираторных инфекций, в том числе пневмонии.

Убедительно доказана неспособность препаратов данной группы предотвращать развитие аллергических реакций при использовании других лекарственных средств, в частности *антибиотиков* [33].

Анальгетики и нестероидные противовоспалительные средства

Острая пневмония характеризуется формированием воспалительного инфильтрата, нарушением микроциркуляции в легочной ткани, которое продолжается даже после эрадикации возбудителя на фоне адекватной антибиотикотерапии. Ряд исследований подтверждает участие продуктов метабо-

лизма арахидоновой кислоты, в том числе простагландинов, в развитии нарушений микроциркуляции в легких и гипоксии при тяжелом течении бактериальной пневмонии [34].

Все сказанное расценивается как основание для проведения при пневмонии активной противовоспалительной терапии *нестероидными*, а в ряде случаев и *стероидными противовоспалительными средствами* [2, 14, 35]. Противовоспалительное действие НПВС обусловлено подавлением синтеза простагландинов, с которыми связано развитие основных клинических признаков воспаления – боли, отека, повышения температуры.

Кроме того, клинические эффекты НПВС могут быть обусловлены торможением перекисного окисления липидов, стабилизацией мембран лизосом, торможением агрегации нейтрофилов и нарушением высвобождения из них медиаторов воспаления, а также уменьшением образования АТФ, что приводит к снижению энергообеспечения воспалительной реакции [36, 37]. В связи с этим НПВС способствуют уменьшению воспалительного отека, улучшению микроциркуляции и более быстрому разрешению воспаления, а также оказывают жаропонижающее и анальгетическое действия.

Применение *индометацина* (1 мг/кг) на фоне тяжелой гипоксии при бактериальной пневмонии улучшает газовый состав крови (увеличение PaO_2 , респираторного индекса PaO_2/FiO_2) у половины исследуемых пациентов. Однако данные изменения статистически недостоверны и переменны [32]. Изменения других гемодинамических параметров на фоне приема НПВС не отмечалось.

Применение других НПВС, например *аспирина*, при пневмонии не приводило к значимому улучшению оксигенации крови в легких [32]. Кроме того, необходимо учитывать, что большинство НПВС при длительном применении оказывают умеренное иммуносупрессивное действие и способны подавлять фагоцитоз [36, 37].

Кроме того, НПВС, в том числе *парацетамол*, являются небезопасными препаратами. В последние годы появились данные о гепатотоксическом

действии парацетамола не только при его передозировании, но и при назначении в высоких терапевтических дозах или одновременном применении индукторов микросомальных ферментов печени (*глюкокортикоидов, фенобарбитала* и др.), а также у лиц, систематически употребляющих алкоголь [38]. При длительном приеме парацетамола (>500 мг/сут) вдвое увеличивается риск развития анальгетической нефропатии [39].

Таким образом, применение НПВС при пневмонии не должно быть длительным и оправданно лишь для достижения жаропонижающего и анальгетического эффектов.

Выводы

В настоящее время отсутствуют убедительные данные, обосновывающие целесообразность назначения иммуномодуляторов (за исключением Г-КСФ, препаратов IgG для внутривенного применения), биогенных стимуляторов, витаминов, антигистаминных препаратов, а также длительного применения НПВС и ненаркотических анальгетиков при лечении больных пневмонией. Эффективность и безопасность большинства из них не подтверждены результатами рандомизированных контролируемых многоцентровых исследований и требуют дальнейшего изучения, что не дает оснований рекомендовать их для лечения данной патологии.

Вместе с тем добавление этих препаратов к адекватной антибиотикотерапии существенно увеличивает стоимость терапии, повышает риск развития нежелательных лекарственных явлений и снижает приверженность больных к лечению.

Итак, антибиотикотерапия остается единственным научно обоснованным принципом лечения пневмонии. Дополнительное назначение лекарственных средств с неантибактериальным механизмом действия может быть оправданным лишь в ситуациях, при которых эффективность этих препаратов доказана (подтвержденные иммунные нарушения, выраженная лихорадка, наличие болевого синдрома и т. д.).

Литература

1. Стандарты (протоколы) диагностики и лечения больных с неспецифическими заболеваниями легких (взрослое население). Под ред. А.Г. Чучалина. М; 1999.
2. Болезни органов дыхания: Руководство для врачей. Под ред. Н.Р. Палеева. Т. 2. Частная пульмонология. М: Медицина; 1989. с. 70-102.
3. Яковлев С.В. Антибактериальная терапия пневмоний. Пульмонология 1997 (Приложение). с. 49-57.
4. Яковлев С. В. Антибактериальная терапия осложненной пневмонии. Consilium medicum 2001; 3(3):142-8.
5. Neu N.C., Sabath L.D. Criteria for selecting oral antibiotic for community-acquired pneumonia. Infect Med 1993; 10 (Suppl D):33-40.
6. Niederman M.S. An approach to empiric therapy of nosocomial pneumonia. Med Clin North Am 1994; 78(5):1123-41.
7. Синопальников А.И., Страчунский Л.С. Новые реко-

- мендации по ведению взрослых пациентов с внебольничной пневмонией. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2001; 3(1):54-69.
8. Таточенко В.К., Середа Е.В., Федоров А.М. и др. Антибактериальная терапия пневмонии у детей. Пособие для врачей. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2000; 2(1):577-87.
 9. Bernstein J.M. Treatment of community-acquired pneumonia – IDSA guidelines. *Infect Dis Soc Am Chest* 1999; 115 (Suppl 3):9S-13S.
 10. British Thoracic Society, London: Guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults admitted to hospital. *Br J Hosp Med* 1993; 49:346.
 11. Neiderman M.S., Bass J.B., Campbell C.D., et al. Guidelines for the initial management of community-acquired pneumonia, diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1418.
 12. Bartlett J.G., Dowell S.F., Mandell L.A., et al. Practice Guidelines for the management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Clin Infect Dis* 2000; 31:347-82.
 13. Козлов С.Н., Рачина С.А., Домникова Н.П. и др. Фармакоэпидемиологический анализ лечения внебольничной пневмонии в амбулаторных условиях. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2000; 2(3):74-81.
 14. Огороков А.Н. Лечение болезней внутренних органов. *Практ. руководство. 2-е изд.* Витебск: Белмедкнига; 1997. Т. 1. с. 1-65.
 15. Fels A.O., Cohn Z.A. The alveolar macrophage [abstract]. *J Appl Physiol* 1986; 60:353-69.
 16. Nelson S. Novel nonantibiotic therapies for pneumonia: cytokines and host defense. *Chest* 2001; 119 (Suppl 2):419S-25S.
 17. Standiford T.J., Kunkel J., Greenberger M.J., et al. Expression and regulation of chemokines in bacterial pneumonia [abstract]. *J Leukoc Biol* 1996; 59:24-8.
 18. Nelson S., Mason C.M., Kolls J., et al. Pathophysiology of pneumonia. *Clin Chest Med* 1995; 16:1-12.
 19. Smith W.S., Sumnicht G.E., Sharpe R.W., et al. Granulocyte colony-stimulating factor versus placebo in addition to Penicillin G in a randomized blinded study of Gram-negative pneumonia sepsis: analysis of survival and multisystem organ failure [abstract]. *Blood* 1995; 86:1301-9.
 20. Nelson S., Farkas S., Fotheringham N., et al. Filgrastim in the treatment of hospitalized patients with community-acquired pneumonia (CAP) [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153S:A535.
 21. Lissner R., Struff W.G., Autenrieth I.B., et al. Efficacy and potential clinical applications of Pentaglobin, and IgM-enriched immunoglobulin concentrate suitable for intravenous infusion. *Eur J Surg* 1999; 584 (Suppl):17-25.
 22. Solar S., Zeller H., Rasolofonirina N., et al. Immunostimulant properties of an extract isolated and partially from Aloe vahombe. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 1980; 47(1):9-39.
 23. Практическая пульмонология детского возраста (справочник). Под ред. В.К.Таточенко. М; 2000.
 24. Puthpongsiriporn U., Scheideler S.E., Sell J.L., et al. Effects of vitamin E and C supplementation on performance, *in vitro* lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poult Sci* 2001; 80 (8):1190-200.
 25. Gorton H.C., Jarvis K. The effectiveness of vitamin C in preventing and relieving the symptoms of virus-induced respiratory infections. *J Manipulative Physiol Ther* 1999; 22(8):530-3.
 26. Stephensen C.B., Franchi L.M., Hernandez H., et al. Adverse effects of high-dose vitamin A supplements in children hospitalized with pneumonia. *Pediatrics* 1998; 101(5):E3.
 27. Nacul L.C., Kirkwood B.R., Arthur P., et al. Randomised, double blind, placebo controlled clinical trial of efficacy of vitamin A treatment in non-measles childhood pneumonia. *Br Med J* 1997; 315: 505-10.
 28. Si N.V., Gritter C., Vy N.N., Hue N.B., Pedersen F.K. High dose vitamin A supplementation in the course of pneumonia in Vietnamese children. *Acta Pediatr* 1997; 86 (10):1052-5.
 29. Fawzi W.W., Mbise R.L., Fataki M.R., et al. Vitamin A supplementation and severity of pneumonia in children admitted to the hospital in Dar es Salaam, Tanzania. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(1):187-92.
 30. D'Souza R.M., D'Souza R., Fawzi W. Vitamin A for treating measles in children (Protocol for a Cochrane Review). In: *The Cochrane Library, Issue 1, 2001.* Oxford: Update Software.
 31. Полосьянц О.Б., Силина Е.Г., Намазова Л.С. Антигистаминные препараты: от димедрола к телфасту. *Леч врач* 2001; 3:32-7.
 32. Fujimori K., Shimatsu Y., Suzuki E., et al. A pilot phase II study of combination therapy with oxatomide, an antihistamine, plus dextromethorphan and bacumondo-to, an herbal drug, in patients with postinfectious persistent cough. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 1998; 36 (4):338-42.
 33. Paterson R., Elgrammer L.K., Grinberger P.A. Аллергические болезни: диагностика и лечение. М: ГЭОТАР Медицина; 2000.
 34. Hanly P.J., Roberts D., Dobson K., et al. Effect of indomethacin on arterial oxygenation on critically ill patients with severe bacterial pneumonia. *Lancet* 1987; 1:351.
 35. Клячкин Л.М. Принципы реабилитации больных пневмонией. *Пульмонология* 1997; (Прил):58-64.
 36. DuBois R., Abramson S., Crofford L., et al. Cyclooxygenase in biology and medicine. *FASEB J* 1998; 12:1063-73.
 37. Насонов Е.Л. Нестероидные противовоспалительные препараты. Перспективы применения в медицине. М; 2000.
 38. *Medical Letter* 1996; 38:55.
 39. Perneger T.V., Whelton P.K., Klag M.J. Risk of kidney failure associated with the use of acetaminophen, aspirin, and nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med* 1994; 331:1675-712.

УДК [616.5-018.25-06:616.42]-02

Этиология болезни Kawasaki

Л.В. Брегель¹, В.М. Субботин², Ю.М. Белозеров³

¹ Государственный институт усовершенствования врачей, Иркутск, Россия

² Областная клиническая больница, Иркутск, Россия

³ Московский НИИ педиатрии и детской хирургии, Москва, Россия

Болезнь Kawasaki – гипериммунный васкулит, предположительно инфекционного происхождения. Предрасполагающими факторами скорее всего являются генетическая предрасположенность и атопии. Хотя этиология болезни Kawasaki неизвестна, существует много свидетельств, что именно инфекция может быть триггером этого системного заболевания. В качестве причины болезни Kawasaki рассматриваются инфекционные антигены: суперантигены некоторых бактерий и обычные антигены вирусов и/или бактерий. Не исключено, что один или бо-

лее неизвестных пока микроорганизмов могут воздействовать на характер иммунного ответа с развитием клинических симптомов этой болезни. Однако в целом результаты исследований пока однозначно не подтверждают ни одну из предложенных теорий, в связи с чем очевидна необходимость продолжения исследований в этом направлении.

Ключевые слова: болезнь Kawasaki, системный васкулит Kawasaki, синдром Kawasaki, слизисто-кожно-лимфоузловый синдром, этиология.

Aetiology of Kawasaki Disease

L.V. Bregel¹, V.M. Subbotin², Yu.M. Belozеров³

¹ State Institute for Postgraduate Medical Education, Irkutsk, Russia

² Regional Hospital, Irkutsk, Russia

³ Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery, Moscow, Russia

Kawasaki disease is hyperimmune vasculitis with presumably infectious origin. Predisposing factors are probably heredity and atopy. Although etiology of Kawasaki disease is still unknown, there are a lot of facts, arguing for the trigger role of infection in pathogenesis of this systemic disease. The different infectious agents, both superantigens of certain bacteria and conventional viral and/or microbial antigens are considered as a cause of Kawasaki disease. Moreover, one or

more microorganisms, which are probably still unknown, may afflict host immunocompetence and develop clinical symptoms. However, in general, investigations were able not to prove or disprove any single theory. Therefore, there is an obvious need for further studies in this field of infectious diseases.

Key words: Kawasaki disease, Kawasaki systemic vasculitis, Kawasaki syndrome, mucocutaneous lymph node syndrome, etiology.

Контактный адрес:

Людмила Владимировна Брегель

664007, г. Иркутск, ул. Декабрьских событий, 107 а, кв. 36

Эл. почта: bregel@mais.baikal.ru

Болезнь Kawasaki (БК) – системный васкулит неизвестной этиологии, остро начинающийся в грудном или раннем детском возрасте, с преимущественным поражением коронарных артерий.

Болезнь впервые описана в Японии педиатром Т. Kawasaki, который в январе 1961 г. наблюдал 4-летнего мальчика с длительной лихорадкой неизвестной этиологии. У пациента были увеличены шейные лимфатические узлы, имелись трещины губ с небольшой кровоточивостью, инъекция конъюнктив, экзантема, гиперемия и отек ладоней и подошв. Позже произошло шелушение кожи конечностей. Ребенок был пролечен пенициллином и глюкокортикоидами. Температура снизилась через 2 нед, затем постепенно исчезли остальные симптомы.

В 1962 г. Т. Kawasaki наблюдал 6 пациентов с подобной клинической картиной. В качестве предварительного диагноза выступали многоформная эксудативная эритема, синдром Стивенса–Джонсона или ювенильный ревматоидный артрит.

До 1967 г. Т. Kawasaki описал 50 случаев этого необычного заболевания, назвав его «фебрильным окуло-оркутанеоакродесквмативным синдромом с негнойным шейным лимфаденитом или без него» [1].

Семью годами позже это сообщение о болезни Kawasaki впервые появилось на английском языке. В нем указывалось, что 1–2% пациентов умирают от приобретенного порока сердца. Кроме длительной лихорадки и экзантемы, болезнь характеризуется риском внезапной смерти вследствие коронарита, сопровождающегося аневризмами и тромбоэмболическим синдромом [2].

С 1974 г., после первой англоязычной публикации, болезнь с лавинообразно нарастающей частотой стала регистрироваться во всех странах мира. В нашей стране первое комплексное исследование клинических особенностей болезни Kawasaki проводится с 90-х годов [3, 4, 5].

Синонимами названия болезни Kawasaki являются «системный васкулит Kawasaki», «синдром Kawasaki» и «слизисто-кожно-лимфожелезистый синдром» (*mucocutaneous lymph node syndrome* – MCLNS). В МКБ-10 болезнь Kawasaki вошла под номером (кодом) M 30.3.

В Европе, Северной Америке и Японии болезнь Kawasaki считается ведущей причиной приобретенных сердечно-сосудистых заболеваний у детей [6]. Доказано, что коронарит вследствие болезни Kawasaki является основой формирования вторичной ишемической болезни сердца в детском и молодом возрасте.

Эпидемиология

Из всех стран мира болезнь Kawasaki наиболее распространена в Японии. Ежегодно заболевают 90–100 из 100 тыс. детей в возрасте до 5 лет, что в 10 раз выше, чем в странах Запада [7]. Помимо эндемичных случаев в Японии наблюдались вспышки болезни в среднем каждые 3 года. Зарегистрировано 3 эпидемии: в 1979 г. – 6967 заболевших, в 1982 г. – 15 519 и в 1986 г. – 12 847 [8].

Общенациональные эпидемиологические исследования проводились в Японии 14 раз с 1970 г. [8, 9]. Их результаты позволяют предполагать, что болезнь Kawasaki может быть вызвана неизвестным возбудителем, который распространен в популяции и воздействует преимущественно на детей раннего возраста. Начиная с 1986 г. эпидемических вспышек не наблюдалось. Заболеваемость выше у мальчиков и у детей в возрасте 1 года и старше.

После Японии второе место по распространенности болезни Kawasaki принадлежит США. Первая вспышка в этой стране возникла на Гавайях в 1978 г. Пациенты чаще имели японское происхождение, высокий социально-экономический статус и симптомы предшествующей респираторной инфекции [10]. Отмечена значительно более высокая заболеваемость детей монголоидной и негроидной рас [11].

В Финляндии ежегодный уровень заболеваемости колеблется от 3,1 до 7,2 на 100 тыс. детей в возрасте до 5 лет. В 1981–1982 гг. наблюдалась одна эпидемическая вспышка, продолжавшаяся 10 мес, с уровнем заболеваемости 31 на 100 тыс. детей в возрасте до 5 лет. Вспышка характеризовалась отчетливой географической очаговостью и была первой зарегистрированной эпидемией слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома вне Японии, Кореи и США [12].

В Швеции уровень заболеваемости составляет 2,9 на 100 тыс. детей в возрасте до 16 лет и 6,2 на 100 тыс. – в возрасте до 5 лет. Средний возраст вновь заболевших – 2,2 года, соотношение числа мальчиков и девочек – 2,3 [13].

Р. Carman и соавт. описали эпидемию болезни Kawasaki зимой 1981 г. в Мельбурне [14]. В Южной Австралии средний возраст заболевших составил 3,2 года, соотношение числа мальчиков и девочек – 1,5, ежегодная частота новых случаев заболевания – 3,9 на 100 тыс. детей в возрасте до 5 лет [15].

В Италии заболеваемость составляет 14,7 на 100 тыс. детей в возрасте до 5 лет. В то же время некоторые авторы считают, что в мире существует ситуация гиподиагностики болезни Kawasaki. Реальная ее частота пока недооценивается [16].

Практически во всех публикациях указывается, что средний возраст заболевших – менее 5 лет. Низкая заболеваемость в первые 3 мес жизни не противоречит теоретическому предположению об инфекционной природе болезни Kawasaki, так как может быть объяснена защитным влиянием пассивного иммунитета, переданного от матери [17]. Хотя системный васкулит Kawasaki в основном начинается в раннем детском возрасте, описаны случаи заболеваний у подростков и взрослых [18].

Этиология

Этиология и патогенез болезни Kawasaki остаются неясными, но предполагается существование неидентифицированного микроорганизма как триггера, провоцирующего развитие иммунного васкулита с особой тропностью к коронарным артериям [6, 19]. Однако конкретный этиологический агент пока не найден. Поэтому специфических диагностических тестов нет, и диагноз ставится методом исключения известных инфекций и на основании результатов клинического исследования.

Из возможных возбудителей болезни Kawasaki подозреваются широкий спектр микроорганизмов, включающий бактерии, грибы, риккетсии и вирусы.

Инфекционный генез болезни не позволяет отвергнуть в первую очередь эпидемии в Японии, США и ряде других стран [6]. В то же время исследование эпидемических вспышек болезни Kawasaki в США не доказало ее контагиозности для окружающих.

При болезни Kawasaki отмечена высокая частота продромальных явлений, прежде всего нарушение функции системы органов дыхания (в 83% случаев). Однако при лабораторном исследовании не идентифицирован этиологический агент ни самой болезни Kawasaki, ни какой-либо инфекционной причины симптомов продромального периода [20].

В США, по данным 4 эпидемических вспышек (средняя продолжительность – 3,8 мес), никаких свидетельств передачи болезни от человека к человеку или выделения инфекционного возбудителя не найдено. В то же время эти же данные позволяют предположить, что случаи заболевания могли быть вызваны экзогенным агентом или токсином, наиболее распространенным в весенний период [6, 11].

Возникновение эпидемий и схожесть симптомов острой стадии болезни Kawasaki и инфекционно-токсического шока подтверждают вероятность ее инфекционной этиологии [21].

Бактерии

При попытке выделить возбудителя из носоглотки у пациентов с болезнью Kawasaki и их род-

ственников не удалось обнаружить патогенных или условно-патогенных бактерий.

Поскольку не удается определить конкретный бактериальный возбудитель системного васкулита Kawasaki, продолжается изучение роли суперантигенов известных бактерий и бактериальных токсинов [22]. В пользу этого может свидетельствовать обнаружение у пациентов с болезнью Kawasaki антител против β -гемолитического стрептококка [23], а по другим данным, – носительства токсинпродуцирующего *Staphylococcus aureus* [24]. Клинические и иммунологические особенности болезни Kawasaki и синдрома стафило- и стрептококкового токсического шока позволяют заподозрить возможную роль указанных микроорганизмов [25].

Прямая взаимосвязь слизисто-кожно-лимфоузельного синдрома и стрептококковой инфекции не доказана [26]. Однако из-за ряда сходных клинических симптомов болезни Kawasaki и скарлатины обращено особое внимание на возможную роль стрептококка как этиологического агента этой болезни, хотя до сих пор β -гемолитический стрептококк у большинства пациентов не выделен. Титр антистрептолизина О чаще не увеличен, а лечение антибиотиками явно не купирует симптомов системного васкулита Kawasaki.

Т. Akiyama и К. Yashiro попытались выяснить вероятную роль *Streptococcus pyogenes* в патогенезе болезни Kawasaki. У пациентов после острой лихорадочной стадии болезни была отмечена гиперреактивность клеточного иммунитета в отношении данного микроорганизма, его пирогенного экзотоксина и стрептолизина О. В лейкоцитах периферической крови пациентов с болезнью Kawasaki обнаружены «сферические тельца» диаметром 0,5–1,5 мкм, лишенные клеточной стенки и напоминающие структуру протопластов.

Новорожденные мыши, инфицированные *S. pyogenes*, не способны к иммунному ответу клеточного типа. При повторном инфицировании через 4–6 нед тем же штаммом в титре, достаточном для индукции клеточного иммунного ответа, был снижен гуморальный иммунный ответ к *S. pyogenes* при нормальных показателях клеточного иммунитета. Такое нарушение иммунологической реактивности является точной копией иммунных нарушений у пациентов с болезнью Kawasaki [27].

Итак, исследователи сделали вывод, что, возможно, в ряде случаев слизисто-кожно-лимфоузельный синдром может быть спровоцирован стрептококковой инфекцией [28, 29].

Т. Tzuzumizu и соавт. выделили у пациента с болезнью Kawasaki из крови, взятой в острой стадии (3, 5-й и 7-й дни), штаммы *Streptococcus sanguis* и

S. pyogenes, что позволяет предполагать возможность индукции болезни Kawasaki этим возбудителем [30]. Однако предположение о стрептококковой ее этиологии не поддерживается большинством исследователей [31].

В то же время, по мнению M. Terai и соавт., и токсины *Staphylococcus aureus* не играют патогенетической роли в запуске иммунного васкулита при болезни Kawasaki [32]. Не обнаружено значимых различий между штаммами *S. aureus*, выделенными от пациентов со слизисто-кожно-лимфоузловым синдромом и от детей группы контроля, по секретируемым экзотоксинам А–Е, коагулазам, гемолизинам и другим факторам агрессии [33].

Предполагается патологический механизм иммунной активации при системном васкулите Kawasaki. Стафилококковый энтеротоксин и стрептококковые протеолитические экзотоксины являются суперантигенами, которые стимулируют субпопуляции Т-клеток [34].

D. Leung и соавт. считают, что токсины *S. aureus* и стрептококковые пирогенные токсины стимулируют (V-beta2⁺)Т-клетки. Эти наблюдения поддерживают гипотезу о том, что активация V-beta2⁺Т-клеток в течение острой стадии болезни Kawasaki, возможно, вызвана бактериальными суперантигенами [35, 36].

В отдельных публикациях указывается на обнаружение *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с болезнью Kawasaki [37] либо риккетсиоподобных телец в биоптатах кожи и лимфоузлов [38]. Однако, по данным A. Shishido, не удалось подтвердить риккетсиозную этиологию слизисто-кожно-лимфоузлового синдрома [39].

В 1979 г. опубликовано сообщение о 19-месячном ребенке с лихорадкой, экзантемой, болезненной припухлостью суставов, лимфаденопатией и гепатоспленомегалией [40]. При жизни ребенка из крови и впоследствии при аутопсии была выделена *P. aeruginosa*. На аутопсии обнаружен мультифазный панартериит с вовлечением коронарных, забрюшинных и легочных артерий, утолщением стенок артерий и сужением их просвета. Тромбы и очаги некроза и инфарктов были найдены во многих органах. Бактерии присутствовали в свежих повреждениях, но не были обнаружены на более поздних стадиях. На основании данного клинического случая G. Keren и соавт. предположили возможную этиологическую роль *P. aeruginosa* при слизисто-кожно-лимфоузловом синдроме [41]. Однако впоследствии достоверных данных в пользу этой гипотезы опубликовано не было.

S. Tomita и соавт. [42] предполагают, что *Propionibacterium acnes* может играть роль в генезе

болезни Kawasaki. Фильтраты из культур пропионибактерий, выделенных из биоптатов шейных лимфатических узлов и крови у пациентов с болезнью Kawasaki, были исследованы в сравнении с контролем. Отмечены цитопатогенный эффект и вакуолизация эмбриональных тканей печени при действии фильтратов пропионибактерий, полученных от пациентов со слизисто-кожно-лимфоузловым синдромом. Специфическая цитопатогенная субстанция была найдена только в фильтратах культур *P. acnes*, выделенных у пациентов с системным васкулитом Kawasaki. Она представляет собой протеин с изоэлектрической точкой 7,0 и молекулярной массой около 100 тыс.

Методом иммуносорбентного анализа определялись IgG-антитела к этому цитопатогенному белку у 108 пациентов с болезнью Kawasaki и 102 детей группы контроля. Титры IgG-антител были достоверно выше у пациентов с болезнью Kawasaki, особенно в острой и подострой стадиях. Очень низкий титр IgG-антител к цитопатогенному белку обнаружен у здоровых детей младше 4 лет, но он увеличивается с возрастом.

G. Sireci и соавт. отмечают, что повреждение эпителиальных клеток при болезни Kawasaki в основном обусловлено активацией Т-лимфоцитов. Наиболее вероятной причиной активации Т-лимфоцитов они считают антигены микобактерий, поскольку у обследованных ими пациентов с болезнью Kawasaki была выявлена гиперчувствительность к БЦЖ и очищенным белковым компонентам микобактерий, что, в свою очередь, объясняется перекрестной реактивностью между белком теплового шока микобактерий и HSP63 гомологом у человека [43].

Некоторые авторы сообщают об ассоциации случаев системного васкулита Kawasaki с инфицированием *Klebsiella pneumoniae* [44] и *Chlamydia* spp. [45].

На возможную роль грамотрицательных бактерий в этиологии болезни Kawasaki указывает последнее исследование, проведенное в Японии. S. Takeshita и соавт. Изучая уровни различных классов антител к липиду А (токсический компонент липополисахарида клеточной стенки грамотрицательных бактерий) у пациентов с болезнью Kawasaki и пациентов с инфекцией, вызванной грамотрицательными микроорганизмами, они обнаружили их значительное повышение [46].

Иммунофлюоресцентные исследования M. Rathore и соавт. на присутствие антител к *Ehrlichia chaffeensis*, *Rochalimaea henselae* и *Rochalimaea quintana* при болезни Kawasaki дали положительные результаты только в 2,5–5% случаев, что позволяет также отвергнуть этиологическую роль этих возбудителей [47].

Один из возможных факторов, вызывающих сердечно-сосудистые повреждения при болезни Кавасаки, – это активированные некоторыми микробными агентами или их токсинами фагоциты (нейтрофилы и моноциты), хотя реальный механизм активации неизвестен [48].

Следует признать, что данные многочисленных исследований не позволяют ни подтвердить, ни отвергнуть гипотезу о том, что бактериальные суперантигены могут играть роль триггеров в развитии системного васкулита Кавасаки.

Вирусы

Наличие неидентифицированного до сих пор лимфотропного вируса, имеющего сродство также к эндотелиальным клеткам, могло бы объяснить сосудистые повреждения и иммунологические расстройства при системном васкулите Кавасаки. При изучении культуры мононуклеарных клеток периферической крови больных обнаружено повышение активности фермента *ретровирусассоциированной* обратной транскриптазы в отличие от такового в контрольной группе. Установлена тропность этого фермента к Т-лимфоцитам, что может объяснить механизм воздействия экзогенного агента, инфицирующего лимфоциты при слизисто-кожно-лимфожелезистом синдроме [49].

Однако детальные исследования культур мононуклеаров периферической крови пациентов не подтвердили возможность ретровирусной этиологии заболевания [50]. Ретровирусная транскриптаза была обнаружена в периферических лимфоцитах только в 14 (6,2%) из 226 образцов, взятых у пациентов, и в 1 (0,6%) из 167 в группе контроля. Такие результаты свидетельствуют скорее о случайной связи между ретровирусами и возникновением слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома.

Сообщалось о том, что парвовирус В19 может играть патогенную роль в развитии слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома [51, 52]. Описана также рецидивирующая форма болезни Кавасаки, ассоциированная с инфицированием парвовирусом В19 и ВИЧ [53].

Проведено много исследований относительно потенциальной роли *вируса Эпштейна–Барра* (EBV) в этиологии болезни Кавасаки и развитии коронарных повреждений [54]. Этот вирус широко распространен в человеческой популяции. Он относится к семейству герпесвирусов, вызывает инфекционный мононуклеоз и имеет уникальную тропизм к В-лимфоцитам. Описан случай хронической активной EBV-инфекции, сопровождавшейся дилатацией коронарных артерий [55].

Прижизненное исследование титров EBV в

крови у некоторых пациентов с болезнью Кавасаки показало, что у них протекает сопутствующая необычная первичная EBV-инфекция [56]. При использовании чувствительного метода обнаружения антител к вирусному капсидному антигену такие антитела к первичной EBV-инфекции обнаружены у 86% из 57 пациентов с болезнью Кавасаки в первый месяц от начала болезни.

Кроме того, ДНК EBV была идентифицирована непосредственно в мононуклеарах периферической крови у 56% пациентов с болезнью Кавасаки в пределах 2 нед методом полимеразной цепной реакции и у 83% пациентов – в пределах 3 мес от начала болезни. Только 18% положительных ДНК-образцов вируса были обнаружены в группе контроля.

Эти вирусологические исследования указывают на возможность необычного взаимодействия возбудителя болезни Кавасаки с вирусом EBV. Предполагается, что болезнь Кавасаки может протекать параллельно с первичной EBV-инфекцией из-за одновременного присутствия этиологического агента, связанного с болезнью Кавасаки [57]. Однако, хотя EBV был идентифицирован некоторыми патологами в миокарде и стенках коронарных артерий у пациентов, погибших от системного васкулита Кавасаки, эти находки непостоянны и роль данного вируса в патогенезе окончательно не подтверждена [58].

Исследуется также потенциальная этиологическая роль других герпесвирусов в генезе слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома. Так, М. Okano и соавт. у 81,8% пациентов с системным васкулитом Кавасаки обнаружили IgG- или IgM-антитела к вирусу HHV6, а в группе контроля – у 62,5%. Эти результаты свидетельствуют скорее об иммунологических изменениях, сопутствующих болезни Кавасаки, чем о прямой роли герпесвирусов в этиологии болезни [59].

Считается, что ни один из герпесвирусов (EBV, CMV, HHV6, VZV, HSV) не играет уникальной или доминирующей роли в этиологии или патогенезе слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома [60]. К. Umehara и соавт. не смогли при самом тщательном исследовании выделить каких-либо патогенных вирусов и цитопатогенных субстанций из всех видов биологических жидкостей у пациентов с болезнью Кавасаки. С помощью иммунофлюоресцентных методов не удалось также определить присутствие вирусных антигенов в клетках биоптатов тканей этих пациентов [61].

Аллергические механизмы

Из факторов окружающей среды и домашней обстановки, влияние которых может оказать провоцирующую роль в возникновении болезни, есть

указания на контакт пациентов за 15–30 дней от начала заболевания с шампунем для домашней обработки ковров [62].

В период вспышки болезни Kawasaki в штате Колорадо (США) в 1982 г. [63] в 48% случаев был отмечен контакт с шампунем для ковров в течение 30 дней до начала болезни по сравнению с 10% из группы контроля ($p < 0,01$). Интервал времени от контакта до начала болезни варьировал в пределах 16–25 дней. Почти все дети, кроме одного, ходили или ползали по обработанному шампунем коврику не менее 2 ч. По мнению P. Patriarca и соавт., эти результаты позволяют считать контакт с шампунем для обработки ковров фактором риска, но механизм воздействия этого агента конкретно не определен.

Эпидемиологическое исследование во время вспышки в Денвере (США, 1984–1985 гг.) показало, что 62% пациентов с болезнью Kawasaki по сравнению с 20% из группы контроля имели контакт с шампунем для обработки ковров в пределах 30 дней до начала болезни ($p < 0,01$) [64].

N. Fatica и соавт. на основании персональных интервью с семьями детей с болезнью Kawasaki и группой контроля не обнаружили никаких эпидемиологических различий, кроме использования шампуня для чистки ковров в пределах 30 дней до начала болезни в 22% семей у пациентов с болезнью Kawasaki, по сравнению с 3% семей в группе контроля ($p < 0,05$). Объяснение этой выраженной ассоциации недавнего контакта с шампунем для обработки ковров и заболеванием может быть связано с иммунологическими аномалиями [65]. Однако эта взаимосвязь отмечается не всеми исследователями, и B.S. Klein и соавт. указывают на то, что данная связь недостоверна [66].

В США при анализе эпидемиологических особенностей системного васкулита Kawasaki в штате Техас установлено, что заболевшие дети проживали достоверно ближе к заболоченным водным источникам, чем дети контрольной группы. Подобная ассоциация с проживанием заболевших вблизи от таких водных источников наблюдалась и в 13 случаях заболевания в Северной Каролине [67].

В штате Вашингтон проведены длительные исследования взаимосвязи болезни Kawasaki с близостью жилья к водным источникам. Однако достоверной связи выявить не удалось [68].

Изучалась также возможная роль клещей домашней пыли (*Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*) в этиологии болезни Kawasaki, но при определении уровней иммуноглобулинов к клещевым антигенам у пациентов со слизисто-кожно-лимфожелезистым синдромом в отличие от больных с бронхиальной астмой убедитель-

ных данных в пользу этого предположения не получено [69].

Есть единичные указания на прием лекарственных препаратов, которые предположительно спровоцировали начало слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома – гризеофульвина [27] и карбамазепина [70].

Предполагается, что генетическое предрасположение к атопии может сопутствовать восприимчивости пациентов к системному васкулиту Kawasaki, так как уровень IgE у них повышен. Пациенты со слизисто-кожно-лимфожелезистым синдромом имеют склонность к развитию аллергического дерматита и аллергического ринита [71].

Наследственные механизмы

С 90-х годов прошлого столетия опубликован ряд наблюдений семейных случаев слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома.

S. Bharati и соавт. при аутопсии 4-летнего мальчика с болезнью Kawasaki, умершего внезапно на ранней стадии болезни, обнаружили периваскулит коронарных артерий, неврит, панкардит с вовлечением всех участков проводящей системы сердца. У брата мальчика, родившегося годом позже, в возрасте 12 мес диагностирована рецидивирующая форма болезни Kawasaki [72].

F. Iwata и соавт. наблюдали ребенка со слизисто-кожно-лимфожелезистым синдромом, у которого отец перенес это же заболевание 21 год назад [73].

Описан системный васкулит Kawasaki у 4 человек в одной семье [28].

На наследственную предрасположенность к развитию болезни указывает повышенный уровень заболеваемости у сиблингов (2,1%) по сравнению с детьми в возрасте от 0 до 4 лет во время эпидемии в Японии в 1982 г. Для сиблингов в возрасте до 1 года этот уровень был 8,4%, а для детей от 1 до 2 лет – 9,3%. Более половины (54,1%) последующих случаев развивались через 10 дней или меньше после первого случая [74]. Описаны случаи слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома у dizygотных близнецов [75].

T. Matsubara и соавт. наблюдали пять эпизодов заболевания в течение 6 лет у 3 сиблингов. Два из них перенесли многократные эпизоды болезни Kawasaki с коронарными повреждениями, включая гигантские аневризмы коронарных артерий у самого младшего ребенка. Последовательное возникновение заболевания у этих детей подчеркивает роль генетической предрасположенности и/или относящихся к окружающей среде факторов развития слизисто-кожно-лимфожелезистого синдрома [76].

Хотя этиология системного васкулита Kawasaki остается далекой до окончательного выяснения,

ряд исследований свидетельствует о наследственно обусловленном дефекте в иммунной регуляции деятельности Т-лимфоцитов у таких пациентов [77].

Результаты молекулярно-генетического типирования позволяют уточнить генотипические особенности класса II главного комплекса антигенов тканевой совместимости [78]. Среди подтипов HLA-BW22 антигена болезни Kawasaki сопутствует HLA-BW22J2, который был идентифицирован у лиц японского происхождения. Предполагается существование гена, контролирующего восприимчивость к слизисто-кожно-лимфоузловому синдрому, и связанного с определенным HLA-набором антигенов монголоидной расы [79].

HLA-антигены были определены А. Krensky и соавт. у 27 пациентов со слизисто-кожно-лимфоузловым синдромом в Бостоне (США). В отличие

от японских исследователей при болезни Kawasaki не повышена частота находок HLA-BW22, но достоверно чаще, чем в контрольной группе, встречается антиген HLA-BW51 ($p < 0,002$).

Кроме того, у 80% пациентов с болезнью Kawasaki был идентифицирован HLA-B5 (у 70% HLA-BW51) в эндемичный период, а во время эпидемии у пациентов со слизисто-кожно-лимфоузловым синдромом с повышенной частотой выявлялся маркер HLA-BW44. Различия в характеристиках HLA-системы между эндемичным и эпидемическим периодами остаются неясными. Наблюдения свидетельствуют также об отсутствии признаков общей генетической предрасположенности к болезни Kawasaki в двух этнических группах – белых американцев и лиц японской национальности [80, 81].

Литература

1. Kawasaki T. Acute febrile MCLNS: Clinical observations of 50 cases. *Jpn J Allergol* 1967; 16:178-222.
2. Kawasaki T., Kosaki F., Okawa S., et al. A new infantile acute febrile mucocutaneous lymph node syndrome (MCLNS) prevailing in Japan. *Pediatrics* 1974; 54:271-6.
3. Брегель Л.В., Белозеров Ю.М., Субботин В.М. Болезнь Kawasaki у детей – первые клинические наблюдения в России. *Рос вестн перинатол педиатр* 1998; 43:25-30.
4. Брегель Л.В. Коронариты (болезнь Kawasaki и недифференцированные формы) как основа раннего формирования ишемической болезни сердца в детском и молодом возрасте [диссертация]. М; 1998.
5. Субботин В.М. Клинические проявления коронарита при болезни Kawasaki у детей в зависимости от локализации и характера коронарного поражения [диссертация]. М; 2001.
6. Bronstein D.E., Dille A.N., Austin J.R., et al. Relationship of climate ethnicity and socioeconomic status of Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19 (11):1087-91.
7. Yanagawa H., Yashiro M., Nakamura Y., Kawasaki T., Kato H. Epidemiologic pictures of Kawasaki disease in Japan: from the nationwide incidence survey in 1991 and 1992. *Pediatrics* 1995; 95 (4):475-9.
8. Hirata S., Nakamura Y., Yanagawa H. Incidence rate of recurrent Kawasaki disease and related risk factors: from the results of nationwide surveys of Kawasaki disease in Japan. *Acta Paediatr* 2001; 90:40-4.
9. Yanagawa H., Yashiro M., Nakamura Y., Kawasaki T., Kato H. Results of 12 nationwide epidemiological incidence surveys of Kawasaki disease in Japan. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149 (7):779-83.
10. Dean A.G., Melish M.E., Hicks R., Palumbo N.E. An epidemic of Kawasaki syndrome in Hawaii. *J Pediatr* 1982; 100 (4):552-7.
11. Bell D.M., Morens D.M., Holman R.C., Hurwitz E.S., Hunter M.K. Kawasaki syndrome in the United States 1976 to 1980. *Am J Dis Child* 1983; 137 (3):211-4.
12. Salo E., Pelkonen P., Pettay O. Outbreak of Kawasaki syndrome in Finland. *Acta Paediatr Scand* 1986; 75 (1):75-80.
13. Schiller B., Fasth A., Bjorkhem G., Elinder G. Kawasaki disease in Sweden: incidence and clinical features. *Acta Paediatr* 1995; 84 (7):769-74.
14. Carman P.G., Menahem S. Possible «outbreak» of Kawasaki disease in Victoria. *Med J Aust* 1983; 2 (4):183-5.
15. Smith P.K., Goldwater P.N. Kawasaki disease in Adelaide: a review. *J Paediatr Child Health* 1993; 29 (2):126-31.
16. Tamburlini G., Strinati R., Cadorini S., et al. A two-year survey of mucocutaneous lymph node syndrome in northeastern Italy. Epidemiological and clinical findings. *Helv Paediatr Acta* 1984; 39 (4):319-29.
17. Tsuchida S., Yamanaka T., Tsuchida R., et al. Epidemiology of infant Kawasaki disease with a report of the youngest neonatal case ever reported in Japan. *Acta Paediatr* 1996; 85 (8):995-7.
18. Horstmann E., Daweke H. Mucocutaneous lymph node syndrome (Kawasaki disease) in adults. *MMW M nch Med Wochenschr* 1982; 124:909-10.
19. Wortmann D.W. Kawasaki syndrome. *Semin Dermatol* 1992; 11 (1):37-47.
20. Bell D.M., Brink E.W., Nitzkin J.L., et al. Kawasaki syndrome: description of two outbreaks in the United States. *N Engl J Med* 1981; 304:1568-75.
21. Jacobs J.C. Kawasaki disease. *Curr Opin Rheumatol* 1996; 8 (1):41-3.
22. Leung D.Y., Meissner C., Fulton D., Schlievert P.M. The potential role of bacterial superantigens in the pathogenesis of Kawasaki syndrome. *J Clin Immunol* 1995; 15(6 Suppl):11S-7S.

23. Abe Y., Nakano S., Nakahara T., et al. Detection of serum antibody by the antimitogen assay against streptococcal erythrogenic toxins. Age distribution in children and the relation to Kawasaki disease. *Pediatr Res* 1990; 27 (1):11-15.
24. Abinun M., Cant A.J. Toxic shock syndrome toxin-secreting *Staphylococcus aureus* in Kawasaki syndrome [letter]. *Lancet* 1994; 343:300.
25. Curtis N., Zheng R., Lamb J.R., Levin M. Evidence for a superantigen mediated process in Kawasaki disease. *Arch Dis Child* 1995; 72(4):308-11.
26. Shen C.T., Wu H.Y., Wang N.K., Huang C.S. Reevaluation of streptococcal infection in the pathogenesis of Kawasaki disease. *Acta Paediatr Sin* 1990; 31(3):144-50.
27. Akiyama T., Yashiro K. Probable role of *Streptococcus pyogenes* in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 1993; 152(2):82-92.
28. Anderson D.G., Warner G., Barlow E. Kawasaki disease associated with streptococcal infection within a family. *J Paediatr Child Health* 1995; 31(4):55-7.
29. Burnell R.H. Kawasaki disease with streptococcal infection [letter] *J Paediatr Child Health* 1996; 32 (3):270.
30. Tsurumizu T., Okonogi H., Shibusawa T., et al. A case of Kawasaki disease combined with septicemia-isolation of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus pyogenes* from blood at the acute stage. *Kansenshogaku Zasshi* 1991; 65 (1): 124-8.
31. Yanase Y. Critique on the streptococcal infection theory for the cause of Kawasaki disease. *Nippon Rinsho* 1983; 41(9):2057-62.
32. Terai M., Miwa K., Williams T., Kabat W., et al. The absence of evidence of staphylococcal toxin involvement in the pathogenesis of Kawasaki disease. *J Infect Dis* 1995; 172 (2):558-61.
33. Todome Y., Ohkuni H., Mizuse M., et al. Superantigenic exotoxin production by isolates of *Staphylococcus aureus* from the Kawasaki syndrome patients and age-matched control children. *J Med Microbiol* 1995; 42(2):91-5.
34. Pietra B.A., De Inocencio J., Giannini E.H., Hirsch R. TCR V beta family repertoire and T cell activation markers in Kawasaki disease. *J Immunol* 1994; 153:1881-8.
35. Leung D.Y. Superantigens related to Kawasaki syndrome. *Springer Semin Immunopathol* 1996; 17 (4):385-96.
36. Leung D.Y. Immunologic abnormalities in Kawasaki syndrome. *Prog Clin Biol Res* 1987; 250:159-65.
37. Keren G., Barzilay Z., Alpert G., Spierer Z., Danon Y. Mucocutaneous lymph node syndrome (Kawasaki disease) in Israel. A review of 13 cases: is pseudomonas infection responsible? *Acta Paediatr Scand* 1983; 72 (3):455-8.
38. Tasaka K., Hamashima Y. Studies on rickettsia-like body in Kawasaki disease. Attempts of the isolation and characterization. *Acta Pathol Jpn* 1978; 28 (2):235-45.
39. Shishido A. Failure to confirm the rickettsial etiology of MCLS (Kawasaki disease). *Jpn J Med Sci Biol* 1979; 32 (4):250-1.
40. Keren G., Cohen B.E., Barzilay Z., Hiss J., Wolman M. Kawasaki disease and infantile polyarteritis nodosa: is Pseudomonas infection responsible? Report of a case. *Isr J Med Sci* 1979; 15 (7):592-600.
41. Keren G., Wolman M. Can pseudomonas infection in experimental animals mimic Kawasaki disease? *J Infect* 1984; 9 (1):22-9.
42. Tomita S., Kato H., Fujimoto T., Inoue O., Koga Y., Kuriya N. Cytopathogenic protein in filtrates from cultures of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with Kawasaki disease. *Br Med J* 1987; 295:1229-32.
43. Sireci G., Dieli F., Salerno A. T cells recognize an immunodominant epitope of heat shock protein 65 in Kawasaki disease. *Mol Med* 2000; 6 (7):581-90.
44. Johnson D., Azimi P. Kawasaki disease associated with *Klebsiella pneumoniae* bacteremia and parainfluenza type 3 virus infection. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4 (1):100.
45. Khono T., Takase Y., Niki H. Chlamydia infections in Kawasaki disease. *Acta Paediatr Jpn* 1991; 33(3):408-10.
46. Takeshita S., Kawase H., Shimizu T., Yoshida M., Sekine I. Increased production of serum IgA-class antibody to lipid A in Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2002;44:5-11.
47. Rathore M.H., Barton L.L., Dawson J.E., Regnery R.L., Ayoub E.M. *Ehrlichia chaffeensis* and *Rochalimaea* antibodies in Kawasaki disease. *J Clin Microbiol* 1993; 31(11):3058-9.
48. Kuratsuji T., Takagi K., Tsunawaki S. Etiological role of phagocytes in Kawasaki disease. *Acta Paediatr Jpn* 1991; 33 (6):778-84.
49. Nigro G., Midulla M. Retrovirus and Kawasaki disease [letter]. *Lancet* 1986; 8514:1045.
50. Rowley A., Castro B., Levy J., et al. Failure to confirm the presence of a retrovirus in cultured lymphocytes from patients with Kawasaki syndrome. *Pediatr Res* 1991; 29 (5):417-9.
51. Holm J.M., Hansen L.K., Oxhj H. Kawasaki disease associated with parvovirus B19 infection. *Eur J Pediatr* 1995; 154 (8):633-4.
52. Nigro G., Zerbini M., Krzysztofiak A., et al. Active or recent parvovirus B19 infection in children with Kawasaki disease. *Lancet*, 1994; 8908:1260-1.
53. Nigro G., Pisano P., Krzysztofiak A. Recurrent Kawasaki disease associated with co-infection with parvovirus B19 and HIV-1 [letter]. *AIDS*, 1993; 7 (2):288-90.
54. Kikuta H., Matsumoto S., Yanase Y., Kawasaki T., Mizuno F., Osato T. Recurrence of Kawasaki disease and Epstein-Barr virus infection [letter]. *J Infect Dis* 1990; 162 (5):1215.
55. Kikuta H., Taguchi Y., Tomizawa K., et al. Epstein-Barr virus genome-positive T lymphocytes in a boy with chronic active EBV infection associated with Kawasaki-like disease. *Nature* 1988; 333:455-7.
56. Kikuta H., Matsumoto S., Osato T. Kawasaki disease and Epstein - Barr virus. *Acta Paediatr Jpn* 1991; 33(6): 765-70.
57. Kanegane H., Tsuji T., Seki, et al. Kawasaki disease with a concomitant primary Epstein-Barr virus infection. *Acta Paediatr Jpn* 1994; 36 (6):713-6.
58. Culora G.A., Moore I.E. Kawasaki disease, Epstein-Barr virus and coronary artery aneurysms. *J Clin Pathol* 1997; 50 (2):161-3.

59. Okano M., Luka J., Thiele G.M., et al. Human herpesvirus 6 infection and Kawasaki disease. *J Clin Microbiol* 1989; 27 (10):2379-80.
60. Marchette N.J., Melish M.E., Hicks R., Kihara S., Sam E., Ching D. Epstein-Barr virus and other herpesvirus infections in Kawasaki syndrome. *J Infect Dis* 1990; 162 (2):573.
61. Umehara K., Kuno-Sakai H., Iwasaki H., et al. Trial of isolation of a virus from sera of patients with Kawasaki disease. *Tokai J Exp Clin Med* 1986; 11 (1):19-21.
62. Blum-Hoffmann E., Hoffmann G.F., Wessel A., Gahr M. Kawasaki syndrome. Association with exposure to carpet shampoo and successful therapy with immunoglobulins in the second week of the illness. *Monatsschr Kinderheilkd* 1992; 140 (5):273-6.
63. Patriarca P.A., Rogers M.F., Morens D.M., et al. Kawasaki syndrome: association with the application of rug shampoo. *Lancet* 1982; 8298:578-80.
64. Rauch A.M., Glode M.P., Wiggins J.W. Jr., et al. Outbreak of Kawasaki syndrome in Denver, Colorado: association with rug and carpet cleaning. *Pediatrics* 1991; 87 (5):663-9.
65. Fatica N.S., Ichida F., Engle M.A., Lesser M.L. Rug shampoo and Kawasaki disease. *Pediatrics* 1989; 84 (2):231-4.
66. Klein B.S., Rogers M.F., Patrican L.A., et al. Kawasaki syndrome: a controlled study of an outbreak in Wisconsin. *Am J Epidemiol* 1986; 124 (2):306-16.
67. Rauch A.M., Kaplan S.L., Nihill M.R., et al. Kawasaki syndrome clusters in Harris County, Texas, and eastern North Carolina. A high endemic rate and a new environmental risk factor. *Am J Dis Child* 1988 142 (4):441-4.
68. Davis R.L., Waller P.L., Mueller B.A., Dykewicz C.A., Schonberger L.B. Kawasaki syndrome in Washington State. Race-specific incidence rates and residential proximity to water. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149 (1):66-9.
69. Tang R.B., Hwang B.T., Tsai L.C., Lin F.M., Chang H.N. The significance of mite antigens in Kawasaki disease. *Chung Hua Min Kuo Wei Sheng Wu Chi Mien I Hsueh Tsa Chih* 1987; 20 (1):29-36.
70. Hicks R.A., Murphy J.V., Jackson M.A. Kawasaki-like syndrome caused by carbamazepine. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7 (7):525-6.
71. Matsuoka S., Tatara K., Nakagawa R., Mori K., Kuroda Y. Tendency toward atopy in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 1997; 156 (1):30-2.
72. Bharati S., Engle M.A., Fatica N.S., et al. The heart and conduction system in acute Kawasaki disease: report of fraternal cases – one lethal, one relapsing. *Am Heart J* 1990; 120 (2):359-65.
73. Iwata F., Hanawa Y., Takashima H., Shimoura K., Nishibayashi Y. Kawasaki disease in a father and son. *Acta Paediatr Jpn* 1992; 34 (1):84-6.
74. Fujita Y., Nakamura Y., Sakata K., Hara N., Kobayashi M., Nagai M., Yanagawa H., Kawasaki T. Kawasaki disease in families. *Pediatrics* 1989; 84 (4):666-9.
75. Kaneko K., Unno A., Takagi M., Maruyama T., Obinata K. Kawasaki disease in dizygotic twins [letter]. *Eur J Pediatr* 1995; 154 (10):868.
76. Matsubara T., Furukawa S., Ino T., Tsuji A., Park I., Yabuta K. A sibship with recurrent Kawasaki disease and coronary artery lesion. *Acta Paediatr* 1994; 83 (9):1002-4.
77. Barron K.S., Murphy D.J. Jr Kawasaki syndrome: still a fascinating enigma. *Hosp Pract (Off Ed)* 1989; 24:51-60.
78. Barron K.S., Silverman E.D., Gonzales J.C., et al. Major histocompatibility complex class II alleles in Kawasaki syndrome-lack of consistent correlation with disease or cardiac involvement. *J Rheumatol* 1992; 19 (11):1790-3.
79. Kato S., Kimura M., Tsuji K., Kusakawa S., Asai T., Juji T., et al. HLA antigens in Kawasaki disease. *Pediatrics* 1978; 61 (2):252-5.
80. Krensky A.M., Berenberg W., Shanley K., Yunis E.J. HLA antigens in mucocutaneous lymph node syndrome in New England. *Pediatrics* 1981; 7 (5):741-3.
81. Krensky A.M., Grady S., Shanley K.M., Berenberg W., Yunis E.J. Epidemic and endemic HLA-B and DR associations in mucocutaneous lymph node syndrome. *Hum Immunol* 1983; 6 (2):75-7.

УДК 579.842.23.022

Молекулярные аспекты вирулентности иерсиний

Г.Я. Ценева, Н.Ю. Солодовникова, Е.А. Воскресенская

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Л. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Проанализирована и обобщена информация отечественных и зарубежных исследователей о патогенных свойствах иерсиний, особенностях молекулярно-генетических механизмов, регулирующих экспрессию факторов патогенности. Представлены данные о роли различных внешних факторов в регуляции генов вирулентности.

Определены дальнейшие перспективы изучения механизмов взаимодействия иерсиний в системе «паразит – хозяин» и генетического контроля их патогенности.

Ключевые слова: иерсинии, патогенность, биологические функции, генетический контроль.

Molecular Aspects of Yersinia Virulence

G.Ya. Tseneva, N.Yu. Solodovnikova, E.A. Voskresenskaya

Research Institute for Epidemiology and Microbiology named under L. Paster, Saint-Petersburg, Russia

The available in the literature information on the pathogenic patterns of yersiniae, peculiar properties of the molecular and genetic mechanisms that regulate the expression of the factors of the pathogenesis are analysed and summarized. Data on the role of different environmental factors for the regu-

lation of the genes of virulence are presented. The further perspectives for the study of genetic control of pathogenesis and mechanisms of interaction of yersiniae with the host are highlighted.

Key words: yersinia, pathogenesis, biological functions, genetic control.

Введение

Род *Yersinia* включает 11 видов бактерий [1]. Из них 3 вида – *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* – являются хорошо документированными возбудителями инфекционных болезней человека. Накоплена значительная информация об эпидемиологических, микробиологических, биохимических, молекулярно-генетических основах жизнедея-

тельности этих бактерий, а также о клинических аспектах вызываемых ими болезней.

В данном обзоре обобщены молекулярные и генетические данные о патогенных свойствах *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* и о «вкладе» отдельных детерминант в развитие инфекционного процесса. По ряду аспектов проводится сравнение свойств этих бактерий со свойствами *Y. pestis*. По последним данным, эволюционным предшественником *Y. pestis* является *Y. pseudotuberculosis* серотипа O:1b [2]. Соответственно у этих видов наблюдается большая степень родства между отдельными детерминантами патогенности.

Контактный адрес:
Галина Яковлевна Ценева
Тел.: (812) 233-48-11
Эл почта: tseneva@PC7367.spb.edu

Y. pseudotuberculosis и *Y. enterocolitica* широко распространены в природе. Они выделяются из овощей, фруктов, мяса, молочных продуктов, воды, почвы, у некоторых видов животных, птиц и человека. Это факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки [1], жизненные циклы которых зависят от условий окружающей среды.

Бактерии метаболически более активны при температуре 30°C [1, 3]. В этих условиях они обладают подвижностью. Повышение температуры окружающей среды от 30 до 37°C, происходящее, например, при попадании бактерий в организм млекопитающего, приводит к утрате перитрихий [1, 3, 4]. *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в отличие от *Y. pestis* являются психрофильными бактериями, способными к росту и размножению при более низкой температуре.

Патогенность иерсиний зависит от наличия плазмид [5]. Известно, что *Y. pseudotuberculosis* включает только патогенные штаммы. Известно 6 серотипов *Y. pseudotuberculosis*. Выделяют как патогенные, так и непатогенные штаммы *Y. enterocolitica*. Помимо деления на серогруппы по липополисахаридному комплексу *Y. enterocolitica* подразделяется на 6 биогрупп по биохимическим признакам [6]. Отличительной особенностью авирулентных изолятов от остальных состоит в их способности утилизировать салицин, эскулин и продуцировать пиразинамидазу [6]. Остальные биогруппы (1b, 2, 3, 4, 5, 6) наиболее близки патогенному фенотипу. У *Y. enterocolitica* известно примерно 60 серогрупп, из которых лишь 11 вызывают заболевания людей [6].

Наиболее распространенный способ инфицирования людей и животных – попадание иерсиний в желудочно-кишечный тракт с пищей. Следует заметить, что заражение может происходить через продукты, хранящиеся в холодильнике.

Таким образом, входными воротами иерсиний является, как правило, *желудочно-кишечный тракт* (ЖКТ) хозяина.

В генезе болезней, вызываемых иерсиниями, как и другими патогенными микробами, первостепенную роль играют адгезия бактерий к слизистой оболочке кишечника, ее колонизация и последующая инвазия. При этом микроб должен пройти адаптацию к температуре тела хозяина [6], так как температура среды его обитания, как правило, ниже таковой.

Считают, что развитие инфекционного процесса, связанное с активным размножением иерсиний внутри тканей, возможно только при наличии у них плазмиды pYV (*plasmid for Yersinia virulence*) размером 70–75 тыс. пар оснований [7, 8]. Эта плазида придает содержащим ее штаммам устойчивость к действию иммунной системы человека или живот-

ных [9, 10]. В литературе, однако, встречаются сведения об обнаружении у пациентов с различными нарушениями функции ЖКТ так называемых непатогенных серобактериотипов *Y. enterocolitica*.

Инфекции, вызываемые *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, характеризуются как инвазивные системные болезни. Клинические проявления включают энтериты, энтероколиты, острый аппендицит, терминальный илеит, мезентериальный аденит, фокальные абсцессы, пневмонии, менингиты, эндокардиты, фарингиты. *Y. enterocolitica* могут вызывать бактериемию с последующей септициемией. Наиболее часто за энтеритами следуют иммунопатологические постинфекционные синдромы, такие, как артриты и узловатая эритема.

Итак, патогенные свойства иерсиний, полностью проявляющиеся лишь в условиях роста при температуре 37 °C, определяются набором генов, многие из которых являются, по-видимому, терморегулируемыми и расположены не только на плазмиде pYV, но и в хромосомных локусах.

Факторы адгезии, колонизации и инвазии у иерсиний

Накопленные данные позволяют сделать вывод о существенных отличиях между *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* по способности к инвазии эукариотических клеток [11]. Принято считать, что *Y. pseudotuberculosis* является высокоинвазивным микробом. *Y. enterocolitica* представляет собой гетерогенную группу, но в целом этот микроб менее инвазивен. Для него более характерны адгезия к эукариотическим клеткам и первоначальная колонизация интестинального слоя. Оба вида проявляют одинаковую способность к адгезии эукариотических клеток [11].

У иерсиний известно несколько белков, опосредующих прикрепление патогена к поверхности эукариотических клеток: адгезин (YadA), инвазин, белок Ail и адгезин, родственный антигену рН6.

YadA кодируется плазмидой [12] и обнаруживается только у *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Более подробно он будет описан в разделе, посвященном плазмиде pYV.

Инвазин обеспечивает не только прикрепление к поверхности, но и проникновение внутрь клеток хозяина. Его кодирует хромосомный ген *inv*, который присутствует у всех трех видов рассматриваемых иерсиний [8, 13]. У *Y. pestis* этот ген неактивен из-за мутации в области рамки считывания [14].

Белок Ail кодируется хромосомой и также опосредует адгезию и инвазию. Однако его активность более специфична по сравнению с инвазином.

Антиген рН6 обнаруживается только у *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*. Он является хромосомным продуктом (его структурные и регуляторные единицы кодируются опероном *psaEFABC*) и экспрессируется максимально при температуре 37°C и низком значении рН.

Этот белок имеет существенное значение для вирулентности *Y. pestis*. У *Y. pseudotuberculosis* он опосредует гемагглютинацию и адгезию к культивируемым клеткам млекопитающих [15].

Инвазин

Первоначально инвазин был обнаружен и охарактеризован у *Y. pseudotuberculosis* [16]. Это белок с молекулярной массой 103 кДа, локализованный в наружной мембране и состоящий из 987 остатков аминокислот. Он непосредственно участвует в прикреплении к клеткам млекопитающих, связываясь с β_1 -интегринами – рецепторами межклеточного взаимодействия и передачи сигналов у эукариот [17].

Мутантные штаммы *Y. pseudotuberculosis*, дефектные по инвазину, не могут проникать из кишечника в пейеровы бляшки (*noduli lymphatici aggregati*) и лишь колонизируют кишечный эпителий. Интересно, что белок *Y. pseudotuberculosis* индуцирует образование псевдоподий, хемотаксическую и гаптотаксическую миграции человеческих Т-лимфоцитов [18]. Аттрактивное свойство инвазина опосредуется через β_1 -интегрины лимфоидных клеток. Эта способность, возможно, играет определенную роль в патогенезе инфекций, обусловленных иерсиниями, так как вызывает миграцию лимфоцитов в экстраинтестинальное пространство.

Продукт гена *inv* у *Y. enterocolitica* также охарактеризован [19]. Он состоит из 835 аминокислот, имеет массу 100 кДа, локализован в наружной мембране и также способствует прикреплению к клеткам хозяина и инвазии.

Ген *inv* *Y. enterocolitica* схож с *inv*-геном из *Y. pseudotuberculosis* (гомология составляет 73%) [16, 20]. Инвазины обоих видов имеют очень сходные аминокислотные последовательности на С-терминальном участке (общая гомологичность составляет 77%) [16, 19]. У инвазина из *Y. pseudotuberculosis* два небольших участка на N-конце и последовательность в середине белка из 99 аминокислот, не гомологичны инвазину *Y. enterocolitica* [19].

При исследовании инвазина из *Y. enterocolitica* было обнаружено, что он имеет единственный участок в середине белковой молекулы, который располагается на поверхности внешней мембраны [19], тогда как С-терминальная часть находится либо внутри молекулы, либо в периплазме. При поиске в

генетической базе данных не выявлено значительной гомологии инвазинов из этих видов бактерий с другими известными последовательностями [19].

Количество инвазина у *Y. enterocolitica*, как и у *Y. pseudotuberculosis*, зависит от окружающей температуры. Оно максимально при температуре 28–30°C, но не при 37°C. Это согласуется с тем, что штаммы *Y. enterocolitica*, растущие при температуре 30°C, инвазивнее штаммов, выросших при более высокой температуре. Снижение температуры положительно влияет и на количество *inv*-специфического посредника у *Y. enterocolitica*.

Ген инвазина обнаруживается как у патогенных, так и у непатогенных штаммов иерсиний. В связи с этим обстоятельством роль инвазина в патогенезе менее определенная. Считается, что непатогенные штаммы иерсиний содержат функционально неактивный ген инвазина, поскольку они не способны проникать внутрь HEp-2 клеток, а при введении в эти штаммы интактного *inv*-гена их способность к адгезии и инвазии восстанавливается.

Французские исследователи выразили сомнения относительно участия инвазина в инфекционном процессе у людей, инфицированных *Y. pseudotuberculosis* [21], так как при их обследовании не было обнаружено антител к инвазину. Не обнаруживались они и у мышей, перорально зараженных вирулентными штаммами. Авторы полагают, что поскольку инвазин *in vitro* экспрессируется максимально при температуре 30°C, а не при 37°C, то в кишечнике этот антиген не представлен иммунной системе для выработки антител. То есть, по-видимому, он не участвует в процессе инвазии *in vivo*.

Однако существует и другое мнение о роли инвазина в инфекционном процессе, особенно на ранних стадиях [4]. При попадании иерсиний внутрь организма микробные клетки имеют на своей поверхности белки, экспрессирующиеся при низкой температуре окружающей среды. Одной из таких структур и является инвазин, максимальное количество которого, как указано выше, синтезируется при температуре 28–30°C.

Таким образом, инвазин может участвовать в проникновении патогена внутрь эпителия кишечника уже на самых ранних стадиях инфекции. Эти данные согласуются с результатами опытов на культуре клеток и на животных [22], в которых было показано, что успешная инвазия иерсиний зависит от температуры предварительного культивирования микроба.

Итак, с понижением температуры роста и появлением у бактерий подвижности и адгезивных свойств эта способность усиливается, а при повышении температуры, вызывающей утрату подвиж-

ности и адгезивности, ослабляется. Кроме того, было показано, что летальный исход у мышей, зараженных перорально *Y. pseudotuberculosis*, наблюдался чаще, если возбудитель выращивался при температуре 6–8°C, чем при заражении возбудителем, выращенным при температуре 36–37°C.

Белок Ail

Помимо *inv*-гена у патогенных штаммов *Y. enterocolitica* инвазивность опосредуется еще одним хромосомным геном – *ail* (*attachment invasion locus*) [20]. Ген *ail* кодирует белок с молекулярной массой 17 кДа [23], который локализуется на поверхности клетки.

Аналогично *inv*-гену экспрессия *ail*-гена зависит от температуры. Одни авторы говорят о влиянии на эту зависимость фазы роста бактерий, в логарифмической фазе белка образуется больше при температуре 30°C, а в стационарной – при 37°C [24]. Другие отмечают, что в стационарной фазе роста значительные количества белка Ail обнаруживаются только при 37°C, а не при более низких температурах [25]. Интересно, что мутанты по инвазину *Y. enterocolitica* в условиях роста при температуре 30°C не могут проникать внутрь клеток млекопитающих из-за отсутствия у них продуктов генов *ail* и *inv* [25].

Помимо участия в адгезии/инвазии белок Ail патогенных *Y. enterocolitica* придает им устойчивость к воздействию человеческой сыворотки [24]. Ген *ail* имеет гомологию с некоторыми другими генами, кодирующими белки бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, которые придают клеткам устойчивость к воздействию человеческой сыворотки, но не имеют принципиального значения для адгезии/инвазии.

Считается, что ген *ail* присутствует только у патогенных видов и штаммов рода *Yersinia* [24]. Согласно другим сообщениям, ген *ail* характерен только для вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* [4, 26]. Тем не менее при исследовании мутантного по гену *inv* штамма *Y. pseudotuberculosis* была обнаружена его термоиндуцируемая адгезия к культивируемым клеткам млекопитающих, которая, как оказалось, опосредуется последовательностями, гомологичными локусам генов *ail* *Y. enterocolitica* и *psa* *Y. pestis* [27].

Исследование роли гена *ail*, как и гена *inv*, проводилось главным образом на линиях культивируемых клеток. Продукты генов *ail* и *inv* у *Y. enterocolitica* способны независимо вызывать адгезию и инвазию культуры эпителиальных клеток, что было установлено в экспериментах с использованием неинвазивной *E. coli* K-12.

В клетки *E. coli* вводили рекомбинантную ДНК, содержащую *ail*- или *inv*-гены *Y. enterocolitica*. Штаммы, содержавшие ген *ail*, прикреплялись к

клеткам HEp-2, но плохо проникали внутрь. В опытах с линией клеток СНО штаммы, содержавшие ген *ail*, проникали внутрь клеток с такой же эффективностью, что и бактерии, содержавшие ген *inv*. Авторы пришли к выводу, что энтеропатогенные бактерии обладают поверхностными белками, проявляющими тканевую тропность: инвазин способствует проникновению внутрь клеток одного типа, белок Ail – другого [20].

Дальнейшие исследования результатов трансформации *ail*-гена из патогенного штамма *Y. enterocolitica* в непатогенный показали, что в отличие от рекомбинантных *E. coli* рекомбинантные штаммы *Y. enterocolitica* не приобретают способность прикрепляться к клеткам млекопитающих и проникать в них [24]. Авторы предполагают, что непатогенные штаммы могут содержать какой-либо ингибитор, препятствующий взаимодействию белка Ail с поверхностью клеток млекопитающих, либо, наоборот, вовсе не содержат некий фактор Ail-взаимодействия. Возможно, что на экспозицию белков Ail на поверхность внешней мембраны и их функцию влияет липополисахаридный состав мембраны [24].

Сравнительное исследование *in vitro* и *in vivo* свойств мутантного по гену *ail* штамма *Y. enterocolitica*, показало, что *in vitro* белок Ail вносит «вклад» в устойчивость микроба к сыворотке и в инвазийный фенотип *Y. enterocolitica*. Однако *in vivo* в моделях на мышах белок Ail не требовался для начала и генерализации инфекции. Авторы исследовали методом иммуноблотинга наличие белка Ail у бактерий и обнаружили его экспрессию только через 48 ч после заражения мышей.

Необходимо отметить, что эти данные согласуются с уже описанной ранее моделью начального этапа инфекции [4]. В ней первичным фактором адгезии и инвазии является инвазин, уже экспрессированный на поверхности клеток иерсиний при их попадании внутрь хозяина. По-видимому, белок Ail действует как вторичный фактор уже после адаптации клеток бактерий к температуре тела хозяина.

Фибриллярные структуры

У *Y. enterocolitica* описана структура, аналогичная рН6-антигену *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* [28] и образующая фимбрию. Главная единица этого антигена – белок 21 кДа – кодируется хромосомным геном *myfA* (*mucooid Yersinia factor*). Экспрессия белков Myf регулируется на уровне транскрипции температурой и рН. Ген *myfA* транскрибируется при температуре 35°C и низком значении рН и подобно энтеротоксину только в стационарной фазе роста [29]. MyfA имеет 44% гомологии с рН6-антигеном *Y. pestis* [30].

Изучение распространенности белка *MyfA* среди различных видов иерсиний выявило, что он подобно гену *yst* энтеротоксина встречается у патогенных серотипов *Y. enterocolitica* [30]. Фибриллярные структуры *Y. enterocolitica*, по-видимому, могут участвовать в адгезии и колонизации эпителия кишечника млекопитающих. Наличие энтеротоксина и фибриллярных структур у бактерий данного вида также ассоциируется с диареей у источников выделения.

В последнее время появились сообщения о роли М-клеток иммунной системы хозяина в переносе бактерий через эпителий кишечника [31]. Возможно, что они являются важнейшими сайтами адгезии и «воротами» для проникновения энтеропатогенных бактерий. Существуют клинические экспериментальные данные о том, что на ранних стадиях инфекции М-клетки эпителиальных фолликул транспортируют энтероинвазивные бактерии таких родов, как *Salmonella*, *Yersinia* и *Shigella* [31]. Механизмы адгезии и инвазии, выявленные на линиях эпителиальных клеток, также используются этими бактериями для проникновения внутрь М-клеток.

Известно, что у *Y. pseudotuberculosis* прикрепляется к М-клеткам посредством взаимодействия инвазина, экспрессированного на наружной мембране патогена, и β_1 -интегрин на поверхности М-клеток [32]. После переноса с помощью М-клеток через эпителий кишечника бактерии прикрепляются к фагоцитарным клеткам, преимущественно к макрофагам.

Роль плазмиды вирулентности иерсиний в развитии инфекционного процесса

Как уже отмечалось, для максимального проявления патогенных свойств необходимы присутствие в клетках иерсиний плазмиды *rYV* и экспрессия кодируемых ею белков. Размеры плазмиды составляют около 70 тыс. пар оснований. Плаزمиды вирулентности иерсиний не является конъюгативной. Кроме того, она несовместима с половым фактором F, то есть *rYV* не способна самостоятельно проникать в клетки или переноситься в них каким-либо агентом.

Известно, что штаммы иерсиний, обладающие плазмидой вирулентности, проявляют следующие фенотипические признаки, зависящие от температуры среды:

- клеточную адгезию, аутоагглютинацию и поверхностную агглютинацию;
- зависимость роста от концентрации Ca^{2+} в среде культивирования;
- синтез белков наружной мембраны (OMPs), в том числе V- и W-антигенов;

- высвобождение белков в среду культивирования;

- повышенную гидрофобность клеточной поверхности;

- летальность мышей при заражении *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* серовара O:8 (но не другими сероварами *Y. enterocolitica*).

Организация *rYV*

Белки, кодируемые плазмидой вирулентности иерсиний, можно разделить на следующие группы.

1. Белок *YadA* (адгезин) и липопротеин *YlpA* [33, 34].

2. Белки *Yop_s* (от *Yersinia outer protein*) – известно примерно 13 полипептидов [35], около 10 белков обнаруживаются в культуральной жидкости; в некоторых работах их классифицируют как *Rp_s* (*released proteins*), или как секретируемые белки.

Эти белки делят по крайней мере на *mpu* группы [36]:

а) белки-эффекторы – направляются внутрь клетки-мишени (*YopE*, *YopH*, *YpkA/YopO*, *YopJ/YopP*, *YopM*, *YopT*);

б) белки, необходимые для переноса эффекторов через клеточную мембрану хозяина – порообразующие *YopB* и *YopD*, вспомогательный *LcrV*;

в) белки, участвующие в регуляции переноса эффекторов внутрь клетки-мишени – *YopN/LcrE*, *TyeA*, *LcrG*, (*LcrV*), *YopK/YopQ*.

3. Белки, образующие аппарат секреции *Yop_s* – кодируются 20 генами *ysc* (*Yersinia sec-retion*) [36].

4. Белки, регулирующие экспрессию генов *yop_s*.

К настоящему времени плаزمиды вирулентности полностью секвенирована у всех трех видов патогенных иерсиний. Достаточно подробно изучены расположение генов и их регуляция.

Гены организованы в несколько моно- и полицистронных оперонов. Полицистронные опероны помимо *yop_s* также кодируют белки, участвующие в регуляции *Yop_s*, а также шапероны (внутриклеточные переносчики) для *yop_s*, которые не имеют сигнальной последовательности [37, 38]. Дополнительные полицистронные опероны кодируют другие регуляторные белки, а также белки аппарата секреции *Yop_s* [39, 40]. Все изученные *yop* опероны и некоторые регуляторные опероны объединены в так называемый *yop* регулон (или вирулон), который в конечном итоге находится под контролем белка *YmoA* [41].

Адгезин и липопротеин, функции и «вклад» в вирулентность иерсиний

YadA (*Yersinia adhesin A*; первоначально *Yop1*, *YopA*) – белок, состоящий из мономеров по 45 кДа, которые агрегируют на поверхности клеток в фиб-

рилярные структуры с молекулярной массой 200–240 кДа [14]. Другие авторы считают, что мономер YadA имеет молекулярную массу 53 кДа, а нативный белок – 116 кДа и содержит 2–3 мономера.

В отличие от других плазмидных белков YadA синтезируется в клетках независимо от наличия или отсутствия в среде Ca^{2+} [40, 42]. У *Y. pestis* ген *yadA* содержит делецию из одной пары оснований и, как следствие, имеет сдвиг рамки считывания. Поэтому этот белок у *Y. pestis* не синтезируется, хотя ген и содержится в плазмиде вирулентности [28].

Белок YadA вызывает аутоагглютинацию иерсиний и маннозостойчивую агглютинацию эритроцитов морской свинки [14]. Он может связывать широкий ряд эукариотических внеклеточных и поверхностных клеточных структур, таких, как коллаген, фибронектин, ламинины [43, 44, 45].

Белок YadA эффективно прикрепляется к интестинальным тканям кролика, к мембране линзы хрусталика глаза и к интестинальной подслизистой оболочке человека [44, 46, 47]. Кроме того, он опосредует прикрепление иерсиний к культивируемым клеточным линиям HEp-2, HeLa и проявление активности Yop_B в отсутствие инвазина, например у мутантного по инвазину штамма [48, 49].

Итак, белок YadA может рассматриваться в качестве ведущего адгезина иерсиний, необходимого для прикрепления патогена к эукариотическим клеткам [28]. Полагают, что адгезия за счет адгезина не является специфичной, а осуществляется за счет гидрофобных взаимодействий. Однако адгезин может опосредовать и проникновение иерсиний внутрь клеток хозяина, возможно, за счет взаимодействия с β_1 -интегринами, как и в случае инвазина [48, 50].

Установлено, что одна из функций белка YadA заключается в защите клеток иерсиний от обезвреживающего действия человеческой сыворотки. Это происходит за счет связывания фактора H, что препятствует размещению C3b комплемента на поверхности бактерий, вероятно, за счет быстрой инактивации этих молекул. Естественно, что это усиливает вирулентность иерсиний.

Белок YadA влияет также на поглощение опсонизированных иерсиний гранулоцитами хозяина [51], ингибирует антиинвазивное действие интерферона. Возможно, что он участвует в защите патогена от макрофагов, способствуя прикреплению бактерий к этим эукариотическим клеткам и процессу внедрения белков-эффекторов внутрь макрофагов [28].

Обнаружено существенное различие во влиянии мутаций в гене *yadA* *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* на их вирулентность в опытах на мышах [28]. Так, мутант *Y. enterocolitica* проявлял значительно

сниженную вирулентность, чем изогенный родительский штамм [14, 52]. Вероятно, из-за неспособности таких мутантов колонизировать пейеровы бляшки бактериальные клетки элиминировались из организма экспериментального животного и лишь небольшое количество бактерий обнаруживалось в мезентериальных лимфоузлах, селезенке и печени.

Кроме того, воспаление и некроз печени были значительно редуцированы. Аттенуация этих мутантов вряд ли является результатом того, что белок YadA необходим иерсиниям для проникновения в пейеровы бляшки. По-видимому, он нужен для персистенции бактерий в лимфоузлах и, возможно, для диссеминации бактерий в другие органы и ткани [28].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что экспрессия белка YadA *in vivo* позволяет *Y. enterocolitica* более эффективно колонизировать тонкую кишку и препятствует проникновению бактерий вглубь ее слизистой оболочки.

Мутант *Y. pseudotuberculosis*, наоборот, проявлял такую же вирулентность, как и родительский штамм, и эффективно колонизировал пейеровы бляшки [53]. Интересно, что при исследовании вирулентных свойств двойных *inv yadA* мутантов *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* в моделях на мышах также оказалось, что мутантный штамм *Y. enterocolitica* теряет свои вирулентные свойства, тогда как *Y. pseudotuberculosis* остается вирулентным, как и родительский штамм [53]. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что у *Y. pseudotuberculosis* ни инвазин, ни адгезин не играют значительной роли в инфекционном процессе и что этот патоген должен обладать дополнительными факторами адгезии [28].

YlpA – липопротеин иерсиний. Он также входит в состав Yop регулона и экспрессируется при температуре 37°C и в отсутствие Ca^{2+} [34].

YlpA имеет типичную сигнальную последовательность, не требует аппарата секреции в отличие от других Yop_B , локализуется в наружной мембране. Мутации в белковом домене не влияют на вирулентность в опытах на мышах [34]. На этот белок обращают внимание из-за почти 88% гомологии по аминокислотному составу с плазмидными белками TraT из *E. coli*, которые придают бактериям устойчивость к воздействию сывороток, ингибирование фагоцитоза макрофагами и способствуют отсоединению поверхностей бактериальных клеток после конъюгации [28]. Однако об участии липопротеина иерсиний в подобных процессах сведения пока отсутствуют.

Эффекторный белки

Действие этих белков направлено главным образом на подавление фагоцитарной активности кле-

ток иммунной системы [54]. В этот процесс вовлечено 6 белков, 3 из которых – YopE (*цитотоксин*), YopH (*тирозинфосфатаза*), YpkA (*протеинкиназа*) – известны давно и подробно изучены.

Далее рассмотрим строение и функции этих и других белков, прямо участвующих во взаимодействии бактерий с организмом хозяина.

YopE – секретруемый белок с молекулярной массой 23 кДа и свойствами цитотоксина. Механизм его воздействия на клетку точно не установлен, но известно, что после попадания YopE в эукариотическую клетку происходит расплетание филаментов веретена деления в клетках-мишенях.

Цитотоксическое воздействие YopE на клетку хозяина происходит только после прикрепления патогена к эукариотической клетке [55]. Перенос YopE внутрь клетки хозяина поляризован и происходит в месте контакта с патогеном. Данный белок, полученный из культуральной жидкости, не оказывает цитотоксического воздействия на клетки-мишени ни при добавлении к смеси клеток, ни при непосредственном введении внутрь клеток. Кроме того, если патоген попадает внутрь клетки хозяина, то цитотоксин также не проявляет активности.

YopH является фосфотиозинфосфатазой с молекулярной массой 51 кДа [56]. Участок на С-конце белка имеет 262 аминокислоты, гомологичные эукариотическим тирозинфосфатазам, и является активным центром фермента [56].

YopH катализирует дефосфорилирование специфических белков макрофагов и клеток эпителиальной ткани хозяина и влияет на процессы передачи сигналов клетками иммунной системы (макрофаги, лейкоциты) путем отмены сигнала, индуцируемого β_1 -интегринами [56, 57, 58]. Это приводит к неспособности клеток иммунной системы оказывать бактерицидное действие за счет выделения бактерицидных ферментов, активации окислительного взрыва у макрофагов, хемотаксических и фагоцитарных рецепторов на поверхности клеток [5].

Получены данные о том, что патогенные иерсинии способны подавлять немедленный ответ фагоцитов путем ингибирования Ca^{2+} -зависимого сигнального пути у нейтрофилов, который инициируется в момент прикрепления патогена к клеточной поверхности [5]. И этот процесс является YopH-зависимым. YopH может также опосредовать устойчивость к поглощению макрофагами опсонированных иммуноглобулинами бактерий [59], что также регулируется через Ca^{2+} -зависимый сигнальный путь [5].

YpkA (YopO) – протеинкиназа, секретруемый продукт плазмидного оперона, содержащего два структурных гена – *ypkA/yopO* и *yopJ/yopP* [60].

У *Y. pseudotuberculosis* этот белок имеет молекулярную массу 81,7 кДа. Обнаружено, что у *Y. pestis* и *Y. enterocolitica* фермент имеет сходную молекулярную массу [60]. Кроме того, наблюдается значительная его гомология с эукариотическими Ser/Thr протеинкиназами.

В опытах на мышах YpkA является существенным фактором вирулентности [60]. Показано, что при введении в мутантные штаммы *Y. pseudotuberculosis*, неэкспрессирующие некоторые Yops (YopH, M, E, K и YpkA), высококопийной плазмиды с нормальным геном белка YpkA происходила секрция большого количества этого белка *in vitro*. Заражение культивируемых HeLa клеток такими штаммами приводило к морфологическим изменениям инфицированных клеток-мишеней. Кроме того, было обнаружено, что после прикрепления патогена к HeLa клеткам происходил перенос YpkA с помощью YopB-транслоцирующего механизма на внутреннюю поверхность плазматической мембраны хозяина. Это указывает на то, что данный эффектор вовлечен во взаимодействие с сигнальной системой и повышает вирулентность микроба.

YopJ/YopP – белок с массой 31–32,5 кДа, содержащий 288 аминокислотных остатков [61, 62]. Первоначально он рассматривался как не несущий вирулентной нагрузки, так как в опытах на мышах мутантные по этому гену *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* оставались по-прежнему вирулентными. Однако позднее было установлено, что этот «минорный» белок, который секретруется в гораздо меньших количествах, чем, например, YopE [28], индуцировал апоптоз макрофагов [61, 63].

Следует отметить, что иерсинии способны индуцировать апоптоз только клеток лимфоидной ткани. Это может иметь значение в процессе инфекции, когда включение механизма апоптоза у макрофагов хозяина приводит к их инактивации и тем самым исключению воспалительного ответа, что, в свою очередь, приводит к внеклеточному размножению патогена в лимфоидной ткани [28].

YopP-белок *Y. enterocolitica* подавлял образование инфицированными макрофагами TNF- α [61, 64]. Этот эффект коррелирует с *митогенактивируемой протеинкиназой* (МАРК) макрофагов. Кроме того, белок ингибирует активность внеклеточного сигнала регулируемой киназы-2 макрофагов (ERK-2). Интересно, что YopJ/YopP имеет высокую степень схожести с белками AvrRxv *Xanthomonas campestris*, AvrA – бактерий рода *Salmonella* и у 410 – рода *Rhizobium*, функции которых практически неизвестны [28].

AvrRxv – это один из многих авирулентных белков растительных патогенов, которые опосредуют

реакцию гиперчувствительности у растений, по-видимому, запуская механизм апоптоза [28].

YopM – кислый белок с изоэлектрической точкой 4,06 и массой 41,6 кДа, имеет гидрофобные участки на С- и N-концах молекулы, содержит 12 богатых лейцином повторяющихся последовательностей. Интересно, что белок YopM, изолированный из штамма *Y. enterocolitica* серовара O:8 от пациента с тяжелым течением болезни, имел массу 56,9 кДа [28]. Авторы предположили, что увеличение молекулярной массы этого белка связано с дубликацией некоторых участков гена из-за повтора последовательностей, присутствующих в этом гене. О вирулентных функциях этого белка известно относительно немного [28].

Y. enterocolitica и *Y. pestis*, мутантные по *yopM*, имели значительно большую LD₅₀ для мышей, а также проявляли сниженную способность размножаться в печени и селезенке инфицированных *Y. enterocolitica* мышей [65]. Исследования *in vitro* показали, что очищенный YopM обладает тромбин-связывающей активностью и может полностью ингибировать тромбининдуцируемую активность тромбоцитов [65].

Предполагается, что YopM – это один из внеклеточных эффекторов. Относительно недавно были получены данные о том, что он может попадать внутрь эукариотической клетки, но мишень для этого белка внутри клетки пока не установлена.

YopM-белок имеет значительную гомологию с IpaH из бактерий рода *Shigella* и с u4fR из бактерий рода *Rhizobium*. Функции этих белков неизвестны.

YopT – недавно описанный белок с молекулярной массой 35,5 кДа [66]. Обнаружено, что он индуцирует цитотоксическое воздействие на клетки HeLa и макрофаги. Действие состоит в разрушении актиновых нитей и изменении цитоскелета.

Таким образом, этот белок наряду с YopE обладает свойствами цитотоксина.

Механизм секреции эффекторных белков

Транспорт и секреция Yop_s осуществляются кодируемой плазмидой вирулентности системой [67]. Такая система позволяет иерсиниям впрыскивать белки-эффекторы непосредственно внутрь клеток-мишеней и таким образом подавлять их специфические функции. Важно, что для успешной секреции белков-эффекторов внутрь клеток-мишеней необходимо, чтобы патоген прикрепился к поверхности эукариотической клетки, сохраняя внеклеточную локализацию.

In vitro при температуре 37°C и дефиците Ca²⁺ иерсинии секретируют белки Yop_s в среду культивирования. Некоторые из них (YopM, YopK/YopQ,

YopR, LcrV) растворимы в культуральной жидкости, другие (YopH, YopE, YopO/YpkA, YopB, YopD, YopP/YopJ, YopN/LcrE) образуют крупные нерастворимые агрегаты. Однако выделенные из культуральной среды белки не оказывают какого-либо токсического воздействия на клетки эукариот [68].

Белки аппарата секреции образуют каналы, проходящие сквозь внутреннюю цитоплазматическую мембрану, периплазматическое пространство и наружную мембрану бактерий [67]. Эти каналы обеспечивают одноэтапный перенос белков-эффекторов к месту контакта с клеткой-мишенью.

С системой секреции типа III иерсиний тесно ассоциированы белки-эффекторы, образующие поры в мембране эукариотической клетки – YopD и YopB [71], а также LcrV, YopK/YopQ, которые рассматриваются в этом разделе.

Следует отметить, что для Yop_s-белков характерно отсутствие классической N-терминальной сигнальной последовательности, поэтому они не подвергаются процессингу при транспортировке. Для их успешной транспортировки и секреции необходимы белки-шапероны Syc (*specific Yop chaperone*). У иерсиний пока обнаружено 6 таких белков – SycD (для YopB и YopD) [70], SycE (для YopE), SycH (для YopH), SycT (для YopT) [66], SycN (для YopN) [28].

Роль шаперонов скорее всего заключается в стабилизации конформации белков-эффекторов в цитозоле бактериальной клетки и в предотвращении их взаимодействия до момента секреции.

Порообразующие белки. Впрыскивание белков-эффекторов внутрь клетки-мишени, как сказано выше, осуществляется через поры в мембране эукариотической клетки, образуемые в месте контакта. Определен диаметр этих пор – 1,2–3,5 нм [71], по другим данным – 1,6–2,3 нм [69]. Получены многочисленные доказательства того, что в образовании этих пор участвуют главным образом 2 белка – YopB и YopD; белок LcrV вовлечен в этот процесс опосредованно [69, 71, 72, 73].

YopB кодируется дистальной частью большого плазмидного оперона IcrGV *sycD yopBD* [68]. Он состоит из 401 аминокислоты у *Y. enterocolitica* и у *Y. pseudotuberculosis*. Молекулярная масса белка обоих видов равна 41,942 и 41,745 кДа соответственно; изоэлектрическая точка (pI) равна соответственно 6,73 и 7,29.

Белок обладает двумя гидрофобными участками, которые разделены последовательностью из 15 аминокислот. Первый участок состоит из 44 аминокислот (позиции 165–208), второй – из 35 (позиции 224–258). Согласно компьютерному анализу, YopB-белок имеет типичное для трансмемб-

ранных белков строение в отличие от белков, имеющих глобулярные модели, – YopE, YopH и YopQ.

YopB из *Y. pseudotuberculosis* имеет некоторое сходство с белком IpaB *Shigella flexneri*. Он определяет инвазивный фенотип этого вида бактерий и является контактным гемолизинном, способным повреждать мембраны [56]. Белок IpaB аналогично YopB имеет два трансмембранных участка. Кроме того, YopB имеет значительную гомологию с гидрофобными участками белков RTX семейства α -гемолизиннов и лейкотоксинов, хотя на участке связывания с Ca^{2+} гомология отсутствует [68]. На основании такого сходства было предположено, что YopB может обладать гемолитической активностью.

Интересно, что очищенный YopB обладал *in vitro* мембранодеструктивной активностью [71]. Сообщалось о том, что очищенный YopB из *Y. enterocolitica* препятствует высвобождению TNF- α макрофагами [73]. TNF- α является цитокином и играет центральную роль в регуляции иммунитета и развитии воспалительного ответа. При обработке культивируемых макрофагов культуральным супернатантом, содержащим белки наружной мембраны иерсиний, происходила супрессия экспрессии мРНК TNF- α , но не интерлейкина-1 и интерлейкина-6. Этот эффект нивелировался после обработки культуры макрофагов сывороткой к YopB. Очищенный YopB также индуцировал супрессию продукции TNF- α . Кроме того, у инфицированных иерсиниями мышей не наблюдалось высвобождения TNF- α макрофагами в пейеровых бляшках, первичных участках инвазии патогена, тогда как интерлейкин-1 (α и β) нормально экспрессировался.

При обработке anti-YopB макрофагов перорально инфицированных мышей значительно снижалось количество живых бактерий, выделяемых из пейеровых бляшек животных, а количество высвобождающегося TNF- α возросло. Очевидно, что супрессия отдельного цитокина недостаточна для выживания микроба внутри хозяина, но все же очевидно, что YopB вносит существенный «вклад» в подавление ответа хозяина на инфекцию.

Белок YopD состоит из 306 аминокислот, имеет молекулярную массу 33,357 кДа у *Y. pseudotuberculosis* (pI = 6,99) и 33,234 кДа – у *Y. enterocolitica* (pI = 6,56) [68]. У обоих видов белок имеет один гидрофобный участок в середине молекулы, состоящий из 31 аминокислоты (позиции 122–152) и одного амфипатического домена на C-конце в положении 278–292 [68]. Последовательность аминокислот белка также определяет его трансмембранные свойства.

Белки YopD и YopB у обоих видов обладают высоким уровнем гомологии, что позволяет сделать заключение о дубликации и конвергенции кодирующих их

генов в процессе эволюции. Помимо этого каждый из белков обладает высокой степенью консервативности по сравнению с другими Yop-белками [68].

Недавно были получены данные о непосредственном взаимодействии *in vitro* белков YopD и YopE [72]. При исследовании методом аффинного блота возможности связывания YopD с другими Yop белками было обнаружено, что YopD связывается преимущественно с YopE и YopB. Причем YopE связывается с центральным участком молекулы YopD. Получены данные о существенном значении этого гидрофобного участка у YopD для образования пор [71]. Обнаружено также, что YopD негативно воздействует на Yop вирулон и, следовательно, может выполнять у иерсиний двойную функцию.

Итак, очевидно, что YopB и YopD являются структурными компонентами пор, представляющих собой гетерогенный трансмембранный комплекс [69]. Более того, показано, что эти белки транспортируются к месту сборки в ассоциации шапероном SycD [70] и полимеризуются в виде канала после секреции из бактериальной клетки. По-видимому, YopD – более подвижный элемент этого комплекса, так как показано, что он может связываться с некоторыми эффекторами [72] и обнаруживается в цитоплазме клетки-мишени [70].

Роль LcrV в секреции эффекторных белков. LcrV, или V-антиген – полипептид с молекулярной массой 37 кДа [75], кодируемый большим опероном IcrGVsycDYopBD. Этот белок известен уже около 50 лет благодаря своим протективным свойствам. Он активно изучается в целях создания противочумной вакцины.

Предполагается, что LcrV супрессирует воспалительный ответ на ранней стадии инфекции, что подтверждено экспериментально. Введение LcrV в организм мышей подавляло экспрессию TNF- α и INF- γ , а также пролонгировало выживаемость LcrV-негативных штаммов *Y. pestis* в организме животных, а также выживаемость бактерий родов *Salmonella* и *Listeria*. Кроме этого, было замечено, что LcrV задерживает отторжение пересаженной аллоткани и повышает устойчивость к липополисахаридам у мышей. LcrV способен также ингибировать хемотаксическую активность нейтрофилов *in vitro* и *in vivo*.

Экспериментальные данные [73, 76, 77] позволили предположить, что LcrV наряду с YopB и YopD является одним из элементов транслокационной системы иерсиний и способен взаимодействовать с этими белками, а также с LcrG (см. ниже). В недавних исследованиях LcrV придана значительная роль в транслокации эффекторных белков [36].

LcrV обнаруживается на поверхности бактерий еще до контакта между патогеном и клеткой-мишенью и является, таким образом, секретруемым белком наружной мембраны. Авторы заключили, что LcrV нужен на самых ранних стадиях переноса белков-эффекторов. Поскольку этот белок способен, по-видимому, взаимодействовать с рецепторами эукариотических клеток, то одна из потенциальных ролей LcrV могла бы состоять в сенсорном контакте с рецептором клетки-мишени. Возможно, что роль этого белка как в транслокации, так и в иммуносупрессии опосредуется через общее рецепторное взаимодействие.

Белки аппарата секреции. Как отмечалось, аппарат секреции III типа состоит из более чем 20 белков, кодируемых плазмидными генами *ysc* (по некоторым данным – из 28 белков) [28]. Эти гены содержатся в 4 больших локусах, названных первоначально у *Y. enterocolitica* *virA*, *virB*, *virG*, *virC* [28, 40]. Не все гены, входящие в локусы *ysc*, существенны для секреции белков-эффекторов. Сейчас используется другая номенклатура для обозначения входящих в эти локусы генов, однако такое деление на группы сохранилось для всех трех видов рассматриваемых иерсиний [28].

Локус *virC* кодирует 13 белков. Наиболее изучен белок YscC [28]. Он относится к группе секретинов – белков наружной мембраны, участвующих в транспорте различных макромолекул через наружную мембрану. Несколько мономеров этого белка образуют большой (около 600 кДа) комплекс в виде кольцевой структуры [78]. Еще один белок, кодируемый геном *yscH* из этого локуса, **YopR-белок**, существенен для патогенеза, поскольку летальная доза для мутанта *Y. enterocolitica* по этому гену в 10 раз выше, чем у дикого изогенного штамма. Остальные гены этого локуса участвуют как в образовании канала для секреции белков, так и в регуляции синтеза Yop-белков [28].

Локус *virG* кодирует один небольшой белок YscW, имеющий домен для связывания с липидами и являющийся липопротеином. Этот белок помогает при встраивании секретина в наружную мембрану иерсиний и является существенным для секреции YopD, YopB и LcrV [28, 78].

Оперон *virB* состоит из 8 генов. Он кодирует белок YscN, который, возможно, является АТФазой. Кроме того, он также кодирует несколько белков, образующих канал во внутренней мембране иерсиний [28].

Локус *virA* кодирует 7 белков [28], в том числе белки, контролирующие перенос белков-эффекторов – YopN и TyeA (см. ниже), а также белок

LcrD/YscV, участвующий в образовании канала для секреции во внутренней мембране иерсиний.

Белки, контролирующие перенос эффекторов. С помощью мутаций выявлены три гена (*yopN*, *tyeA* и *IcrG*), вовлеченные в контроль переноса Yop_s в эукариотические клетки. Мутации в этих генах приводили к полной утрате чувствительности секреции Yop_s к концентрации Ca²⁺ [39, 79, 80].

YopN (LcrE) – белок молекулярной массой 32,6 кДа, лишенный гидрофобных доменов [39], имеющий 2 скрученные спиральные структуры [79]. *In vitro* YopN массово секретруется в среду культивирования при температуре 37°C в отсутствие ионов кальция, но в отличие от других Yop_s может обнаруживаться у бактерий при 37°C и в присутствии ионов кальция. В этом случае он располагается в наружной мембране [28], и его можно экстрагировать ксиленом [39, 79] или выделить в нерастворимой фракции мембран при обработке тритоном X-100 [79].

TyeA – белок молекулярной массой 10,8 кДа, состоящий из 92 аминокислотных остатков [39]. TyeA обнаруживается у иерсиний как в бактериальной цитозольной фракции, так и в нерастворимой в тритоне X-100 фракции наружных мембран независимо от концентрации ионов кальция в среде культивирования. Подобно YopN белок можно экстрагировать из бактериальной поверхности ксиленом, что говорит о близкой его ассоциации с мембраной [28].

LcrG – белок (масса – 11,0 кДа), состоящий из 96 аминокислотных остатков, который *in vitro* оказывал контролирующее действие на секрецию Yop_s [80]. Показано, что *IcrG* мутант *Y. enterocolitica* не способен эффективно переносить внутрь клеток хозяина белки YopE, YopN, YopM, YrkA/YopO и YopP. Однако при исследовании процесса порообразования у мутантного по *IcrG* штамма иерсиний выявлено, что белок LcrG не влияет на формирование пор, а скорее всего он вовлечен в процесс транспорта белков-эффекторов [70] и опосредует их эффективную интернализацию внутрь клеток-мишеней.

Белок LcrG первоначально был обнаружен в цитозоле, но его также можно обнаружить и в мембране и во внеклеточной среде [81]. Локализация белка LcrG при развитии инфекционного процесса не исследовалась [28], однако показано, что он может связываться с белком LcrV [81] и, возможно, играть роль ингибитора секреции Yop_s [77, 81].

Помимо этого обнаружено, что у *Y. enterocolitica* белок LcrG может непосредственно связываться с HeLa клетками, а именно с гепаринсодержащими протеогликанами на их поверхности [76]. Анализ структуры белка LcrG выявил последовательность, обладающую сродством к гепарину. Возможно, что

взаимодействие между белком LcrG и сульфатом гепарина, расположенном на поверхности HeLa клеток, является сигналом включения системы транслокации Yop_s.

YopK (YopQ) – недавно открытый белок, кодируемый плазмидой вирулентности и входящий в *yop* регулон. Первоначально он был обнаружен у *Y. pseudotuberculosis*. Гомологичные последовательности имеются и у *Y. enterocolitica* (YopQ), и у *Y. pestis* (YopK) [82]. Вначале предполагалось, что этот белок не участвует в защите *Y. pseudotuberculosis* от реакций первичного иммунного ответа хозяина. Его влияние происходит на другом уровне (этапе) развития инфекции, так как этот белок влиял на развитие системных болезней у инфицированных внутрибрюшинно и перорально мышей.

Дальнейшие исследования роли YopK у *Y. pseudotuberculosis* выявили участие этого белка в регуляции переноса Yop-эффекторов внутрь эукариотической клетки путем изменения размера пор, образуемых YopB [82].

Дополнительные механизмы секреции белков вирулентности. Предполагается, что аппарат секреции флагеллина, являющегося мономером сложной фибриллярной структуры бактерий, располагающейся на поверхности клеток, был эволюционным предшественником аппарата секреции типа III грам-отрицательных бактерий. Поэтому многие Ysc-белки имеют значительную гомологию аминокислотных последовательностей с белками, образующими фибриллярные структуры иерсиний [67].

Кроме того, некоторые другие бактерии обладают последовательностями, гомологичными YopD, выполняющими регуляторные и секреторные функции. Одна группа таких гомологов связана с функцией синтеза флагеллина у *Caulobacter crescentus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* и *Campylobacter jejuni*. Другая группа связана с вирулентностью *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* и некоторых бактерий, патогенных для растений.

Показано, что в секреции вирулентных белков у *Y. enterocolitica* также может участвовать система секреции флагеллина [6]. В частности, так осуществляется транспорт ассоциированной с вирулентностью фосфолипазы (YplA).

Регуляция экспрессии и секреции белков pYV. Известно, что экспрессия Yop_s, как и их секреция, зависит от внеклеточных факторов – температуры и концентрации Ca²⁺ в культуральной жидкости. Фенотипически это проявляется в том, что максимальная экспрессия Yop_s происходит при температуре 37°C, низком содержании кальция в среде или полном его отсутствии. У патогенных иерсиний существует уникальный механизм ответа на сниже-

ние концентрации кальция в среде – *low calcium response* (LCR), который ассоциирован с плазмидой. Такой регуляции подвержены *yop* опероны, некоторые регуляторные опероны и *ysc* опероны. Исключение составляет ген *yadA*, который не регулируется концентрацией Ca²⁺ [12].

Установлено, что регуляция осуществляется двумя независимыми регуляторными петлями в ДНК плазмиды: одна имеет отрицательное значение, другая – положительное [37, 83]. Положительная петля осуществляет температурозависимую регуляцию всех *pYV*-генов, другая, отрицательная – ингибирует экспрессию *yop_s* и *ylpA* при высоких концентрациях Ca²⁺ [28].

В положительной регуляции участвует активатор транскрипции VirF/LcrF – кодируемый в плазмидный белок 30,9 кДа, который имеет гомологию аминокислотной последовательности с белком-регулятором AraC некоторых грамотрицательных бактерий [41] и связывается с промоторами оперонов *yop_s*, *yscE*, *ylpA*, *yadA*, *virC* [34, 40, 42, 83]. VirF/LcrF не влияет на транскрипцию генов оперонов *virA* и *virB*, кодирующих белки аппарата секреции [83]. Но все эти зависимые и независимые от VirF/LcrF гены являются молчащими при низких температурах окружающей среды и начинают транскрибироваться при 37°C. Эти гены получили название «*yop*-стимулон» [28].

При переключении роста клеток с температуры 26°C на 37°C уровень VirF повышается даже в присутствии 2,5 мМ Ca²⁺ [83]. Это показывает, что VirF/LcrF является терморегулируемым. Показано, что регулятором экспрессии *virF/lcrF* является белок YmoA (*Yersinia modulator*), кодирующийся соответствующим хромосомным геном. Этот белок 8,1 кДа содержит очень много положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков и похож на белки-гистоны. В регуляции температурозависимой транскрипции генов *pYV* играет роль структура хроматина, и YmoA также вовлечен в этот процесс [28].

Доказано, что высокая концентрация Ca²⁺ отрицательно воздействует при температуре 37°C не только на секрецию Yop, но и на их синтез. В этой сложной отрицательной регуляции участвуют по крайней мере 5 локусов. Один из них является опероном V-антигена *IcrGV yscD yopBD* [84, 38]. Мутации в этом опероне приводят к появлению у бактерий температурочувствительного фенотипа, то есть мутант проявляет сниженную частоту деления при температуре 37°C вне зависимости от концентрации Ca²⁺.

Кажется маловероятным, чтобы ионы кальция могли поступать в цитозоль бактерий и непосред-

венно воздействовать на уровень транскрипции. Вероятно, что первоначальным этапом воздействия ионов кальция является ингибирование секреции Yop_{β} , которое по принципу обратной связи приводит к ингибированию транскрипции соответствующих генов [28].

Как говорилось ранее, *in vitro* секреция Yop_{β} происходит только при температуре 37°C, отсутствии или низкой концентрации Ca^{2+} в культуральной среде. В организме теплокровного хозяина концентрация Ca^{2+} в межклеточном пространстве достигает 2,5 мМ, но внутри клеток она существенно ниже [28]. Следовательно, иерсинии могли бы существовать и противостоять воздействию клеток хозяина, находясь только внутри клеток-мишеней.

Однако существуют доказательства того, что иерсинии могут нормально распространяться и размножаться и в межклеточном пространстве тканей теплокровного хозяина [85]. Возникает таким образом парадокс [28], когда иерсинии, находясь в непроницаемых для продукции Yop_{β} условиях, в течение инфекционного процесса тем не менее синтезируют и секретируют эти белки, о чем говорят результаты обнаружения антител к ним в сыворотке крови хозяев.

Как описано выше, было обнаружено, что мутанты по *yopN/lcrE*, *lcrG* и *tyeA* были нечувствительны к концентрации ионов кальция и секретируют Yop_{β} как при отсутствии Ca^{2+} в среде, так и при его присутствии. Следовательно, эти белки участвуют в регуляции секреции Yop_{β} . Показано, что ключевым моментом в регуляции процесса переноса эффекторных белков является контакт патогена с поверхностью клетки-мишени. Кроме того, получены данные о том, что инициация транскрипции происходит только после этого события.

Однако до сих пор точный механизм взаимодействия $YopN$, $TyeA$, $LcrG$ и их индивидуальный «вклад» в регуляцию поляризованной контактнозависимой секреции Yop_{β} и их экспрессию еще неизвестны. Следует отметить, что белок $LcrV$ имеет также важное значение для контроля переноса эффекторных белков (см. выше). Роль Ca^{2+} в этом процессе также не совсем ясна. Очевидно то, что контакт с клеткой-мишенью приводит к устранению доступа Ca^{2+} к регуляторным сайтам на поверхности иерсинии. Возможно также, что в этом процессе играют определенную роль другие белки, имеющие рецепторную функцию.

Предполагается, что концентрация Ca^{2+} в среде культивирования влияет на экспрессию Yop_{β} , по-видимому, через экспрессию репрессора транскрипции, который взаимодействует с промоторами *yop* [37]. При концентрации Ca^{2+} по крайней мере 2,5 мМ количество репрессора в клетках возрастает,

что ведет к репрессии генов *yop*. Выращивание бактерий на среде, дефицитной по Ca^{2+} , приводит к снижению количества этого репрессора и, следовательно, к дерепрессии генов *yop*.

Значение «островка высокой патогенности» и железорепрессируемой системы белков в вирулентности иерсиний

На современном этапе наших знаний патогенные иерсинии разделяют:

1) на штаммы с низкой патогенностью (вызывают интестинальные инфекции со средней тяжестью течения, нелетальны для мышей при их заражении низкими дозами);

2) с высокой патогенностью (вызывают системные инфекции с тяжелым течением болезни, летальны для мышей при заражении низкими дозами) [86].

К первой группе относят pYV^+ штаммы *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* сероваров O:1 и O:3 и *Y. enterocolitica* биовара 1b, ко второй группе – pYV^+ штаммы *Y. pseudotuberculosis* сероваров O:2, O:4, O:5 и *Y. enterocolitica* био групп 2–5. Такие различия коррелируют с наличием в геноме высокопатогенных иерсиний большого хромосомного фрагмента (35–45 тыс. пар оснований), содержащего гены вирулентности и имеющего признаки «островка патогенности».

Признаками «островков патогенности» помимо указанных выше являются:

а) содержание нескольких повторяющихся последовательностей (IS-элементов);

б) наличие у одного из концов островка гена транспортной РНК;

в) большее чем в остальном геноме соотношение Г+Ц [86].

«Островки патогенности» широко распространены у грамотрицательных бактерий и были открыты относительно недавно [87]. У разных родов грамотрицательных бактерий «островки» включают разнообразные гены, имеющие значение для вирулентности. Поскольку у иерсиний этот участок генома содержит гены, коррелирующие с высокой патогенностью, он получил название «островок высокой патогенности» (HPI – *high-pathogenicity island*) [88]. Эти «островки» характеризуются нестабильностью и часто подвергаются спонтанным делециям [87].

У иерсиний HPI содержит гены системы поглощения железа [86]. Система включает секретируемый **сидерофор**, называемый «*yersiniabactin*», или «*yersiniophore*», который хелатирует железо, связанное с белками эукариот, и транспортирует их в бактериальную клетку. Структура и свойства сидеро-

фора иерсиний хорошо изучены [89]. Участвующий в поглощении железа локус включает 11 генов, организованных в 4 оперона [86].

У *Y. pestis* и у *Y. enterocolitica* серотипа O:8 НР1 содержится дополнительный оперон, кодирующий систему поглощения гема. Гены этих локусов кодируют белки, необходимые для биосинтеза иерсиниабактина, транспорта связанного железа внутрь бактериальной клетки (рецептор наружной мембраны и транспортеры) и регуляции.

Синтез сидерофора у *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* ассоциирован также с пигментацией колоний при выращивании на среде с хром-азурол S индикаторным красителем (конго красный) [90]. Потеря способности к пигментации, связанная со спонтанными делециями в «островке высокой патогенности», не означает полную потерю вирулентных свойств данным штаммом, но ассоциирована с отсутствием летальности у мышей.

В биосинтезе иерсиниабактина участвуют два белка с большой молекулярной массой (HMWP1 и HMWP2), образующие синтетазный комплекс [89]. Они кодируются генами *irp1* и *irp2* из оперона *irp*. В их сборке участвуют продукты еще трех генов – *ybtE/irp5*, *ybtS*, *ybtT/irp4* [86]. Показано, что инактивация гена *irp2* значительно снижает летальность мышей при заражении их штаммами *Y. pseudotuberculosis* [91].

Psn/FyuA – это рецептор наружной мембраны. Он обладает двойной функцией: рецепция иерсиниабактина и бактериоцина *Y. pestis* – пестицина [92]. Кодирован геном *psn/fyuA*. Транспортную функцию выполняют два других белка (YbtP и YbtQ), являющиеся пермеазами и локализующиеся во внутренней мембране [89]. Транспортеры для иерсиниабактина связаны с TonB-зависимой системой транспорта у грамотрицательных бактерий.

Описан активатор транскрипции YbtA, связывающийся с промоторами генов *psn/fyuA*, *ybtP* и *irp2*, и репрессор Fur, связывающийся со всеми четырьмя промоторными зонами оперонов системы иерсиниабактина [89, 93].

Участие иерсиниабактина в патогенезе иерсиниозов опосредовано через поглощение железа, связанного с молекулами белков-переносчиков в организме хозяина. Иерсинии чувствительны к концентрации железа в окружающей среде и, попадая в организм млекопитающего, не смогли бы активно размножиться и вызывать системную инфекцию, если бы у них не было такого механизма. Поэтому иерсиниабактин рассматривают как один из факторов вирулентности [86].

Иерсинии с низкой патогенностью не способны синтезировать свой собственный сидерофор с вы-

сокой степенью сродства к связанному железу. У них также отсутствует рецептор Psn/FyuA для иерсиниабактина. Однако они тем не менее обладают способностью к интернализации экзогенных сидерофоров, например ферроксамина и феррихрома. Для поглощения экзогенных сидерофоров иерсинии с низкой патогенностью используют рецепторы FohA и FcuA [93]. Непатогенные иерсинии, выделяемые из окружающей среды, продуцируют растворимый сидерофор и аэробактин, которые не ассоциированы с вирулентностью.

Факторы токсигенности иерсиний

Продукция токсинов и токсических продуктов у бактерий является одним из основных факторов патогенности [94]. Как отмечалось выше, иерсинии обладают ярко выраженными цитотоксическими свойствами, которые опосредуются по крайней мере двумя известными Yop_s – YopE и YopT. Однако плазмидные цитотоксины специфически воздействуют на клетки иммунной системы млекопитающих.

Имеются данные о цитотоксическом воздействии *Y. pseudotuberculosis* на культивируемые клетки эпителиальной ткани *in vitro* и в опытах *in vivo* с использованием тестов на морских свинках и изолированной петли кишечника кролика [95, 96]. При этом клетки иерсинии проникали внутрь клеточных мишеней и разрушали их лизосомальный аппарат, за которым следовало разрушение самих клеток и возникали различной степени выраженности некротические поражения тканей. Данных о детерминантах, которые могли бы опосредовать этот процесс, в литературе нет. Исследовавшиеся *Y. enterocolitica* заметно отличались от *Y. pseudotuberculosis* по цитотоксичности в опытах *in vitro* и *in vivo* и не вызывали глубокого поражения тканей [11].

Для иерсиний характерно наличие разнообразных **энтеротоксинов** (Yst), кодируемых хромосомными генами [35, 93]. Среди симптомов иерсиниозных инфекций диарейный синдром ярко выражен, особенно у пациентов, выделяющих *Y. enterocolitica* различных сероботипов. Помимо Yst_s развитие диареи могут опосредовать различные фибриллярные и липополисахаридные структуры иерсиний.

Y. pseudotuberculosis обладает термостабильным токсином (ST), на который у пациентов с псевдотуберкулезом обнаруживаются антитела. Токсин летален для мышей (LD₅₀ = 4,5 мкг/мышь). Он выделен из бактерий, растущих при температуре 8–10°C. Это видоспецифический белок с молекулярной массой 45 кДа, устойчивый к высокой температуре (выдерживает кипячение в течение

5 мин), устойчив к воздействию анионного детергента (0,1–1,0% раствора додецил сульфата натрия). Белок стабилен при pH 6,0–8,0. Определена его аминокислотная последовательность в N-терминальной части.

У *Y. enterocolitica* также обнаружен термостабильный энтеротоксин [97]. Молекулярная масса токсического компонента равна 12,4 кДа [97]. Энтеротоксин может кодироваться двумя хромосомными генами – *ystA* и *ystB*. Ген *ystB* впервые выделен из *Y. enterocolitica* серотипа O:5 биовара 1A. Он содержит 216 пар оснований и кодирует белок, состоящий из 71 аминокислотного остатка.

Между генами *ystA* и *ystB* имеется 73,5% гомологии по нуклеотидной последовательности. При исследовании методом *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) ряда серотипов *Y. enterocolitica* было обнаружено, что все положительные с *ystB* пробами штаммы относятся к биотипу 1A и большей частью – к так называемым непатогенным серотипам O:5, O:6, O:7,8, O:7,13 и O:10. Положительные с *ystA* пробами штаммы (78,5%) идентифицированы как патогенные серотипы. Из 36 содержащих ген *ystB* штаммов 18 имели клиническое происхождение и были положительны в тесте на мышах, что говорит о возможном участии YstB в патогенезе. При этом так называемые непатогенные штаммы могут быть вирулентными для человека.

У *Y. enterocolitica* регуляция экспрессии энтеротоксинов происходит на транскрипционном уровне. Часто ген токсина находится в «молчащем» состоянии. На экспрессию энтеротоксина очень сильно влияют физико-химические параметры окружающей среды, а также продукт гена *ymoA*. В обычной среде культивирования ген транскрибируется только при температуре ниже 30°C, что противоречит возможности участия энтеротоксина в развитии диареи при температуре тела. Однако транскрипция *yst* может индуцироваться при температуре 37°C, увеличении осмолярности и pH до значений, которые обычно имеют эти показатели в просвете кишечника.

Недавно у *Y. pseudotuberculosis* открыт суперантигенный токсин **YPM** (*Y. pseudotuberculosis-derived mitogen*). Этот антиген обнаружен в культуральном супернатанте штаммов, выделенных от пациентов с симптомами болезни Кавасаки в Японии. Была выделена и охарактеризована субстанция, которая проявляла митогенную активность на модели мононуклеарных клеток периферической крови [98].

Антиген состоял из 131 аминокислоты и имел массу в 14,5 кДа. YPM кодируется, по-видимому, хромосомным геном. Описано три разновидности суперантигена *Y. pseudotuberculosis* – YPMa, YPMb

и YPMc [99]. Разделение на группы осуществляется только по нуклеотидной или аминокислотной последовательности генов и самих суперантигенов. Групповая принадлежность коррелирует с географическим распределением штаммов, обладающих суперантигеном.

При исследовании сывороток крови у 61% пациентов с псевдотуберкулезом выявлены IgG-антитела к YPM. Причем у пациентов с различными системными осложнениями титр антител был выше. Очищенный суперантиген вызывал летальный шок у мышей, проявляя токсичность *in vivo*. Помимо этого было продемонстрировано, что токсин может мешать нормальной функции эпителиальных клеток, уменьшая транспорт ионов и повышая проницаемость эпителия [95].

Исследования вирулентности мутантного по гену *ypmA* штамма показало, что такие штаммы при внутривенном заражении менее вирулентны на мышах, чем их изогенные родительские штаммы [99, 100]. Однако при введении мутантного и родительского штаммов перорально или интрагастрально отличий в LD₅₀ не обнаружено.

Дефектный суперантиген также не влиял на диссеминацию и рост бактерий в органах (пейеровы бляшки, селезенка, мезентериальные лимфоузлы) мышей при пероральном заражении, а также не обнаружено изменений в этих органах после внутривенного и интрагастрального заражений. Авторы полагают, что суперантиген опосредует развитие системной инфекции у мышей.

Предполагается, что биологическая активность YPM заключается в стимуляции активной пролиферации Т-лимфоцитов, обладающих Т-клеточными рецепторами, и их активации, в результате которой происходит массовая продукция цитокинов антигенпрезентирующими клетками и Т-клетками, что, в свою очередь, приводит к развитию шока и повреждению тканей [99].

Таким образом, существуют доказательства вовлечения суперантигена в патогенетический процесс при иерсиниозах, вызванных *Y. pseudotuberculosis*. Возможно, что суперантигены ответственны за возникновение иммунопатологических состояний, сопряжены с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, вызывающих различные метаболические и гематологические сдвиги при развитии инфекционного процесса [94].

Продукция экзоферментов и их «вклад» в инфекционный процесс

Показано, что некоторые *Y. enterocolitica* обладают **фосфолипазной активностью**, которая связана с лецитинзависимым гемолизом. Был определен

ген фосфолипазы у *Y. enterocolitica* [33]. При анализе нуклеотидной последовательности выявлены две расположенные друг за другом рамки считывания. Первая, *yp1A*, имеет 74% гомологии и 85% схожести с геном фосфолипазы А из *Serratia liquefaciens*. Однако другая, *yp1B*, менее схожа с геном второго аналогичного белка из *S. liquefaciens*.

Для оценки роли фосфолипазы в патогенезе был сконструирован мутант по *yp1A*. В качестве модели использовали мышей BALB/c. При пероральном заражении несколько мутантных микроорганизмов были выделены из мезентериальных лимфоузлов и пейеровых бляшек на 3-й или 5-й день после заражения. Однако ткань кишечника, в том числе пейеровы бляшки, были менее воспаленными, чем у моделей, зараженных родительским штаммом.

При заражении экстремально высокими дозами мутантных и нормальных бактерий в обоих случаях выделялось одинаковое число живых бактерий из мезентериальных лимфатических узлов и пейеровых бляшек. Однако число очагов воспаления, их интенсивность и степень некроза внутри них были значительно ниже при заражении мутантным штаммом. На основании этого было сделано заключение, что *Y. enterocolitica* продуцирует фосфолипазу А, имеющую значение в патогенезе.

SigA-протеазы являются ферментами, расщепляющими секреторные иммуноглобулины класса А. Их наличие характерно прежде всего для патогенных бактерий, вызывающих ряд локальных инфекций у человека. Эти ферменты были обнаружены с помощью ПЦР также у *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* [101]. Гены, отвечающие за синтез ферментов, расположены на хромосоме. «Вклад» протеаз в развитие инфекционного процесса состоит в подавлении местной противинфекционной защиты открытых полостей макроорганизма, в частности слизистых оболочек.

Кроме того, при расщеплении молекулы SigA образуются Fab- и Fc-фрагменты. Fab-фрагменты, связываясь с поверхностью бактерий, предохраняют последние от воздействия активных антител.

Таким образом, SigA-протеазы рассматривают как фактор, участвующий в проявлении патогенности бактерий. В фильтрате культуральной жидкости *Y. pseudotuberculosis* обнаружена **секретируемая трипсиноподобная протеиназа** массой в 110 кДа [102], которая, как считают авторы, вносит важнейший «вклад» в патогенность бактерии.

Заключение

Представленные материалы свидетельствуют о сложности процессов взаимодействия иерсиний с организмом хозяина, в который вовлечены многие специализированные структуры паразита, имеющие полидетерминантную природу. Они демонстрируют также сложность генетического контроля факторов патогенности, значение состояния макроорганизма и условий существования бактерий для экспрессии вирулентности.

Важнейшее значение в регуляции экспрессии патогенных свойств иерсиний имеют плазмиды класса rYV. Значительная роль в их проявлении принадлежит белкам наружной мембраны и другим структурам.

Однако необходимы дальнейшие исследования многих процессов интимных взаимоотношений в системе «паразит–хозяин», в частности особенностей молекулярно-генетических механизмов экспрессии патогенности как способа сохранения видов и защиты от иммунных реакций организма.

Благодарность

Выражаем искреннюю признательность и благодарность академику РАМН А.А. Тотоляну за ценные советы при оформлении настоящего обзора литературы.

Литература

1. Определитель бактерий Берджи. Пер с англ. Г.А. Заварзина. Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. В 2 т. Москва: Мир; 1997.
2. Skurnik M., Peippo A., Ervela E. Characterization of the O-antigen gene clusters of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b. *Mol Microbiol* 2000; 37:316-30.
3. Kapatral V., Olson J.W., Pepe J.C., Miller V.L., Minnich S.A. Temperature-dependent regulation of *Yersinia enterocolitica* Class III flagellar genes. *Mol Microbiol* 1996;19:1061-71.
4. Bottone E.J. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microb Infect* 1999; 1:323-33.
5. Andersson K., Magnusson K.-E., Majeed M., Stenghal O., Fallman M. *Yersinia pseudotuberculosis*-induced calcium signaling in neutrophils is blocked by the virulence effector YopH. *Infect Immun* 1999; 67:2567-74.
6. A new pathway for the secretion of virulence factors by bacteria: the flagellar export apparatus functions as a protein-secretion system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:6456-61.

7. Heesemann J., Keller C., Morawa R., Schmidt N., Seimens H.J., Laufs R. Plasmid of human strains of *Yersinia enterocolitica*: molecular relatedness and possible importance. *J Infect Dis* 1983; 147:107-15.
8. Lian C.J., Hwang W.S., Kelly J.K., Pai C.H. Invasiveness of *Yersinia enterocolitica* lacking the virulence plasmid: an *in vivo* study. *J Med Microbiol* 1987; 24:219-26.
9. Lian C.J., Pai C.H. Inhibition of human neutrophil hemoluminescence by plasmid-mediated outer membrane proteins of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1985; 49:145-51.
10. Forsberg A., Rosqvist R. *In vivo* expression of virulence genes of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect Agents Dis* 1993; 2:275-78.
11. Ценева Г.Я. Варианты проявления основных патогенных свойств иерсиний в эксперименте и их сопоставление с изменениями у больных. Материалы международной конференции «Инфекции, обусловленные иерсиниями (иерсиниоз, псевдотуберкулез), и другие актуальные инфекции». Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера; 2000. с. 66.
12. Kapperud G., Namork E., Skarpeid H.-J. Temperature-inducible surface-fibrillae associated with the virulence plasmid of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect Immun* 1985; 47:561-6.
13. Isberg R.R., Falkow S. A single genetic locus encoded by *Yersinia pseudotuberculosis* permit invasion of cultured animal cells by *Escherichia coli* K-12. *Nature* 1985; 317:262-4.
14. Kapperud G., Namork E., Skurnik M., Nesbakken T. Plasmid-mediate surface fibrillae of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*: relationship to the outer membrane protein YOP1 and possible importance for pathogenesis. *Infect Immun* 1987; 55:2247-2254.
15. Yang Y., Isberg R.R. Transcriptional regulation of the *Yersinia pseudotuberculosis* pH6 antigen adhesin by two envelope-associated components. *Mol Microbiol* 1997; 24:499-510.
16. Isberg R.R., Voorhis D., Falkow S. Identification of invasin: a protein that allows enteric bacteria to penetrate cultured mammalian cells. *Cel* 1987; 50:769-78.
17. Straley S.C., Skrzypek E., Piano G.V., Bliska J.B. Yop₈ of *Yersinia* spp. pathogenic for humans. *Infect Immun* 1993; 61:3105-10.
18. Arencibia I., Suatze N.C., Wolf-Watz H., Sundqvist K.G. *Yersinia* invasin, a bacterial beta-1-integrin ligand, is potent inducer of lymphocyte motility and migration to collagen type IV and fibronectin. *J Immunol* 1997; 159:1853-9.
19. Young V.B., Miller V.L., Falkow S., Schoolnik G.K. Sequence, localization and function of the invasin protein of *Yersinia enterocolitica*. *Mol Microbiol* 1990; 4:1119-28.
20. Miller V.L., Falkow S. Evidence for two genetic loci from *Yersinia enterocolitica* that can promote invasion of epithelial cells. *Infect Immun* 1988; 56:1242-8.
21. Fortineau N., Beretti J.L., Berche P., Simonet M. Lack of antibody response to invasin in humans with yersiniosis. *Clin Diagnostic Lab Immunol* 1994; 1:235-7.
22. Тимченко Н.Ф., Венедиктов В.С., Павлова Т.Н. Моделирование инициации псевдотуберкулезной инфекции. *Журн микробиол* 1988; 7:16-20.
23. Pederson K.J., Carlson S., Pierson D.E. The ClpP protein, a subunit of the Clp protease, modulating *ail* gene expression in *Yersinia enterocolitica*. *Mol Microbiol* 1997; 26:99-107.
24. Pierson D.E., Falkow S. The *ail* gene of *Yersinia enterocolitica* has a role in the ability of the organism to survive serum killing. *Infect Immun* 1993; 61:1846-52.
25. Pierson D.E. Mutations affecting lipopolysaccharide enhance *ail*-mediated entry of *Yersinia enterocolitica* into mammalian cells. *J Bacteriol* 1994; 176:4043-51.
26. Goverde R.L., Jansen W.H., Brunings H.A., Huis-in-'t-Veld J.H., Mooi F.R. Digoxigenin-labeled *inv*- and *ail*-probes for the detection and identification of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical specimens and naturally contaminated pig samples. *J Appl Bacteriol* 1993; 74:301-13.
27. Yang Y., Merriam J.J., Mueller J.P., Isberg R.R. The *psa* locus is responsible for thermoinducible binding of *Yersinia pseudotuberculosis* to cultured cells. *Infect Immun* 1996; 64:2483-9.
28. Cornelis G.R., Boland A., Boyd A.P., et al. The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genom. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62:1315-52.
29. Iriarte M., Stainier I., Cornelis G.R. The *rhoS* gene from *Yersinia enterocolitica* and its influence on expression of virulence factors. *Infect Immun* 1995; 63:1840-7.
30. Iriarte M., Vanooteghem J.C., Delor I., Diaz R., Knutton S., Cornelis G.R. The Myf fibrillae of *Yersinia enterocolitica*. *Mol Microbiol* 1993; 9:507-20.
31. Sansonetti P.J., Phalipon A. M cells as ports of entry for enteroinvasive pathogens: mechanisms of interaction, consequences for the disease process. *Semin Immunol* 1999; 11:193-203.
32. Clark M.A., Hirst B.H., Jepson M.A. M-cell surface beta 1 integrin expression and invasin-mediated targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* to mouse Peyer's patch cells. *Infect Immun* 1998; 66:1237-43.
33. Kwaga J., Iversen J.O. Plasmid and outer membrane proteins of *Yersinia enterocolitica* and related species of swine origin. *Vet Microbiol* 1993; 36:205-14.
34. China B., Michiels T., Cornelis G.R. The pYV plasmid of *Yersinia* encodes a lipoprotein YlpA, related to TraT. *Mol Microbiol* 1990; 4:1585-93.
35. Heesemann J. Enteropathogenic yersinias: pathogenicity factors and new diagnostic methods [Germany]. *Infect Immun* 1990; 18:186-91.
36. Pettersson J., Holmstrom A., Hill J., et al. The V-antigen of *Yersinia* is surface exposed before target cell contact and involved in virulence protein translocation. *Mol Microbiol* 1999; 32:961-76.
37. Bergman T., Hakansson S., Forsberg A., et al. Analysis of the V-antigen *IcrGVH-yopBD* operon of *Yersinia pseudotuberculosis*: evidence for a regulatory role of *LcrH* and *LcrV*. *J Bacteriol* 1991; 173:1607-16.
38. Mulder B., Michiels T., Simonet M., Sory M.-P., Cornelis G. Identification of additional virulence determinants on the plasmid of *Yersinia enterocolitica* W227. *Infect Immun* 1989; 57:2534-41.

39. Forsberg A., Viitanen A.-M., Skurnik M., Wolf-Watz H. The surface-located YopN protein is involved in calcium signal transduction in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Mol Microbiol* 1991; 5:977-86.
40. Michiels T., Vanooteghem J.-C., Lambert de Rouvroit C., et al. Analysis of virC, an operon involved in the secretion of Yop proteins by *Yersinia enterocolitica*. *J Bacteriol* 1991; 173:4994-5009.
41. Cornelis G.R. Role of the transcription activator virF and the histone-like protein YmoA in the thermoregulation of virulence functions in Yersiniae. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis* 1993; 278:149-64.
42. Skurnik M., Toivanen P. LcrF is the temperature-regulated activator of the *yadA* gene of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Bacteriol* 1992; 174:2047-51.
43. Gripenberg-Lerche C., Skurnik M., Toivanen P. Role of YadA-mediated collagen binding in arthritogenicity of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8: experimental studies with rats. *Infect Immun* 1995; 63:3222-6.
44. Flugel A., Schulze-Koops H., Heesemann J., et al. Interaction of enteropathogenic *Yersinia enterocolitica* with complex basement membranes and the extracellular matrix proteins collagen type IV, laminin-1 and -2, and nidogen/entacin. *J Biol Chem* 1994; 269:29732-8.
45. Schulz-Koops H., Burkhardt H., Heesemann J., et al. Outer membrane protein YadA of enteropathogenic yersiniae mediates specific binding to cellular but not plasma fibronectin. *Infect Immun* 1993; 61:2513-9.
46. Paerregaard A., Espersen F., Jensen O.M., Skurnik M. Interactions between *Yersinia enterocolitica* and rabbit ileal mucus: growth, adhesion, penetration and subsequent changes in surface hydrophobicity and ability to adhere to ileal brush border membrane vesicles. *Infect Immun* 1991; 59:253-260.
47. Paerregaard A., Espersen F., Skurnik M. Role of the *Yersinia* outer membrane protein YadA in adhesion to rabbit intestinal tissue and rabbit intestinal brush border membrane vesicles. *APMIS* 1991; 99:226-32.
48. Bliska J.B., Copass M.C., Falkow S. The *Yersinia pseudotuberculosis* adhesin YadA mediates intimate bacterial attachment to and entry into Hep-2 cells. *Inf Immun* 1993; 61:3914-21.
49. Heesemann J., Gruter L. Genetic evidence that the outer membrane protein Yop1 of *Yersinia enterocolitica* mediates adherence and phagocytosis resistance to human epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* 1987; 40:37-41.
50. Yang Y., Isberg R.R. Cellular internalization in the absence of invasin expression is promoted by the *Yersinia pseudotuberculosis yadA* product. *Infect Immun* 1993; 61:3907-13.
51. Visser L.G., Annema A., van Furth R. Role of Yops in inhibition of phagocytosis and killing of opsonized *Yersinia enterocolitica* by human granulocytes. *Infect Immun* 1995; 63:2570-5.
52. Roggenkamp A., Ruchdeschel K., Leitritz L., Schmitt R., Heesemann J. Deletion of aminoacids 29 to 81 in adhesion protein YadA of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 results in selective abrogation of adherence to neutrophils. *Infect Immun* 1996; 64:2506-14.
53. Han Y.W., Miller V.L. Reevaluation of the virulence phenotype of the *inv yadA* double mutants of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect Immun* 1997; 65:327-30.
54. Rosqvist R., Forsberg A., Wolf-Watz H. Intracellular targeting of the *Yersinia* YopE cytotoxin in mammalian cells induces actin microfilament disruption. *Infect Immun* 1991; 59:4562-9.
55. Forsberg A., Rosqvist R. *In vivo* expression of virulence genes of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Infect Agents Dis* 1993; 2:275-8.
56. Guan K., Dixon J.E. Protein tyrosine phosphatase activity of an essential virulence determinant in *Yersinia*. *Science* 1990; 249:553-6.
57. Andersson K., Carballeira N., Magnosson K.E., et al. YopH of *Yersinia pseudotuberculosis* interrupts early phosphotyrosine signalling associated with phagocytosis. *Mol Microbiol* 1996; 20:1057-69.
58. Persson C., Carballeira N., Wolf-Watz H., Fallman M. The PTPase YopH inhibits uptake of *Yersinia*, tyrosine phosphorylation of p130 Cas and FAK, and the associated accumulation of these proteins in peripheral focal adhesion. *EMBO J* 1997; 16:2307-18.
59. Follman M., Andersson K., Hakansson S., Magnass K.-E., Stendahl O., Wolf-Watz H. *Yersinia pseudotuberculosis* inhibits Fc receptor-mediated phagocytosis in J774 cells. *Infect Immun* 1995; 63:3117-24.
60. Galyov E.E., Hakansson S., Forsberg A., Wolf-Watz H. A secreted protein kinase of *Yersinia pseudotuberculosis* showing homology with eukariotic Ser/Thr protein kinases is an indispensable virulence determinant. *Nature* 1993; 361:730-2.
61. Mills S.D., Boland A., Sory M.P., et al. *Yersinia enterocolitica* induces apoptosis in macrophages by a process requiring functional type III secretion and translocation mechanisms and involving YopP, presumably acting as an effector protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:12638-43.
62. Palmer L.E.S., Hobbie S., Galan J.E., Bliska J.B. YopJ of *Yersinia pseudotuberculosis* is required for the inhibition of macrophages TNF- α production and downregulation of the MAP kinase p38 and JNK. *Mol Microbiol* 1998; 27:953-5.
63. Monack D.M., Mecsas J., Ghori N., Falkow S. *Yersinia* signals macrophages to undergo apoptosis and YopJ is necessary for this cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:10385-90.
64. Boland A., Cornelis G.R. Role of YopP in suppression of tumor necrosis factor alpha release by macrophages during *Yersinia* infection. *Infect Immun* 1998; 66:1878-1884.
65. Leung K.Y., Reisner B.S., Straley S.C. YopM inhibits platelet aggregation and is necessary for virulence of *Yersinia pestis* in mice. *Infect Immun* 1990; 58:3262-71.
66. Iriarte M., Cornelis G.R. YopT, a new *Yersinia* Yop effector protein, affects the cytoskeleton of host cells. *Mol Microbiol* 1998; 29:915-29.
67. Kerr J. Type III (contact-dependent) secretion in Gram-negative bacteria. *Rev Med Microbiol* 1999; 10:155-64.
68. Hakansson S., Bergman T., Vanooteghem J.-C., Cornelis G., Wolf-Watz H. YopB and YopD constitute a novel class of *Yersinia* Yop proteins. *Infect Immun* 1993; 61:71-80.

69. Neyt C., Cornelis G. Insertion of a Yop translocation pore into the macrophage plasma membrane by *Yersinia enterocolitica*: requirement for translocators YopB and YopD, but not LcrG. *Mol Microbiol* 1999; 33:971-81.
70. Neyt C., Cornelis G. Role of SycD, the shaperone of the *Yersinia* Yop translocators YopB and YopD. *Mol Microbiol* 1999; 31:143-56.
71. Hakansson S., Schesser K., Persson C., et al. The YopB protein of *Yersinia pseudotuberculosis* is essential for the translocation of Yop effector proteins across the target cell plasma membrane and displays a contact-dependent membrane disrupting activity. *EMBO J* 1996; 15:5812-23.
72. Hartland E.L., Robins-Browne R.M. *In vitro* association between the virulence proteins, YopD and YopE, of *Yersinia enterocolitica*. *FEMS Microbiol Let* 1998; 162:207-13.
73. Sarker M.R., Neyt C., Stainier I., Cornelis G. The *Yersinia* Yop virulon: LcrV is required for extrusion of the translocators YopB and YopD. *J Bacteriol* 1998; 180:1207-14.
74. Beuscher H.U., Burdack S., Rollinghoff M. Bacterial cytokine antagonists encoded by pathogenic yersiniae. *Behring Institute Mitteilungen* 1997; 98:240-8.
75. Roggenkamp A., Geiger A.M., Leitritz L., Kessler A., Heesemann J. Passive immunity to infection with *Yersinia* spp. mediated by anti-recombinant V antigen is dependent on polymorphism of V antigen. *Infection Immun* 1997; 65:446-51.
76. Boyd A.P., Sory M.P., Iriarte M., Cornelis G.R. Heparin interferes with translocation of Yop proteins into HeLa cells and binds to LcrG, a regulatory component of the *Yersinia* Yop apparatus. *Mol Microbiol* 1998; 27:425-36.
77. Nilles M.L., Fields K.A., Straley S.C. The V antigen of *Yersinia pestis* regulates Yop vectorial targeting as well as Yop secretion through effects on YopB and LcrG. *J Bacteriol* 1998; 180:3410-20.
78. Koster M., Bitter W., de Cock H., Allaoui A., Cornelis G.R., Tommassen J. The outer membrane component, YscC, of the Yop secretion machinery of *Yersinia enterocolitica* forms a ring-shaped multimeric complex. *Mol Microbiol* 1997; 26:789-98.
79. Iriarte M., Sory M.P., Boland A., et al. TyeA, a protein involved in control of Yop release and in translocation of *Yersinia* Yop effectors. *EMBO J* 1998; 17:1907-18.
80. Sarker M.R., Sory M.-P., Boyd A.P., Iriarte M., Cornelis G.R. LcrG is required for efficient translocation of *Yersinia* Yop effector proteins into eukaryotic cells. *Infect Immun* 1998; 66:2976-9.
81. Nilles M.L., Williams W., Skrzypek E., Straley S.C. *Yersinia pestis* LcrV forms a stable complex with LcrG and may have a secretion-related regulatory role in the low-Ca²⁺ response. *J Bacteriol* 1997; 179:1307-16.
82. Holmstrom A., Rosqvist R., Wolf-Watz H., Forsberg A. Virulence plasmid-encoded YopK is essential for *Yersinia pseudotuberculosis* to cause systemic infection in mice. *Infect Immun* 1995; 63:2269-76.
83. Holmstrom A., Pettrson J., Rosqvist R., et al. A YopK of *Yersinia pseudotuberculosis* controls translocation of Yop effectors across the eukaryotic cell membrane. *Mol Microbiol* 1997; 24:73-91.
84. Lambert de Rouvroit C., Sluifers C., Cornelis G. Role of the transcriptional activator, VirF, and temperature in the expression of the pYV plasmid genes of *Yersinia enterocolitica*. *Mol Microbiol* 1992; 6:395-409.
85. Hanski C., Kutschuka U., Schmoranzner H.P., et al. Immunohistochemical and electron microscopic study of interaction of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8 with intestinal mucosa during experimental enteritis. *Infect Immun* 1989; 57:673-8.
86. Carniel E. The *Yersinia* high-pathogenicity island. *Intern Microbiol* 1999; 2:161-7.
87. Hacker J., Blum-Oehler G., Muhldorier I. Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol Microbiol* 1997; 23:1089-97.
88. Carniel E., Guilvout I., Prentice M. Characterization of a large chromosomal «high-pathogenicity island» in biotype 1b *Yersinia enterocolitica*. *J Bacteriol* 1996; 178:6743-51.
89. Gehring A.M., Demoll E., Fetherston J.D., et al. Iron acquisition in plague: modular logic in enzymatic biogenesis of yersiniabactin in *Yersinia pestis*. *Chem Biol* 1998; 5:573-86.
90. Buchrieser C., Brosh R., Bach S., Guiyole A., Carniel E. The high-pathogenicity island of *Y. pseudotuberculosis* can be inserted into any of the three chromosomal *asn* tRNA genes. *Mol Microbiol* 1998; 30:965-78.
91. Carniel E., Guiyole A., Guilvout I., Mercereau Puijalon O. Molecul cloning, iron-regulation and mutagenesis of the *irp2* gene encoding HMWP2, a protein specific for the highly pathogenic *Yersinia*. *Mol Microbiol* 1992; 6:379-88.
92. Rakin A., Saken E., Harmsen D., Heesemann J. The pesticin receptor of *Yersinia enterocolitica*: a novel virulence factor with dual function. *Mol Microbiol* 1994; 13:253-63.
93. Straley S.C., Perry R.D. Environmental modulation of gene expression and pathogenesis in *Yersinia*. *Trends in Microbiology* 1995; 3:310-7.
94. Бондаренко В.М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса. *Журн микробиол* 1999; 5:34-9.
95. Donnelly G.A.E., Lu J., Takeda T., McKey D.M. Colonic epithelial physiology is altered in response to the bacterial superantigen *Yersinia pseudotuberculosis* mitogen. *J Infect Dis* 1999; 180:1590-6.
96. Куляшова Л.Б., Ценева Г.Я., Буйневич Ю.Б. Роль антигенов наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis* в патогенезе и диагностике псевдотуберкулеза. *Журн микробиол* 1997; 1:14-8.
97. Saikia G.K., Thapliyal D.C. Enterotoxigenicity as an attribute of virulence in *Yersinia enterocolitica*. *Indian J Experiment Biol* 1997; 35:1108-10.
98. Miyoshi-Akiyama T., Imanischi K., Uchiyama T. Purification and partial characterization of a product from *Yersinia pseudotuberculosis* with the ability to acti-

- vate human T-cells. *Infect Immun* 1993; 61:3922-7.
99. Carnoy C., Muller-Alouf H., Desreumaux P., Mullet C., Grangette C., Simonet M. The superantigenic toxin of *Yersinia pseudotuberculosis*. a novel virulence factor? *Int J Med Microbiol* 2000; 290:477-82.
100. Carnoy C., Mullet C., Muller-Alouf H., Leteurtre E., Simonet M. Superantigen YPMa exacerbates the virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* in mice. *Infect Immun* 2000; 68:2553-9.
101. Бондаренко В.М., Голкочева Е.Н., Найденский Х. Обнаружение островков высокой патогенности и син-теза SIgA протеазы у редко встречающихся видов иерсиний. Материалы конференции «Инфекции, обусловленные иерсиниями (иерсиниоз, псевдотуберкулез), и другие актуальные инфекции. Санкт-Петербургский НИИЭМ им. Пастера; 2000. с. 8.
102. Бурцева Т.И., Бузолева Л.С., Сомов Г.П. Секретируемая трипсиноподобная протеиназа *Yersinia pseudotuberculosis*. *Биохимия* 1995; 60:1589-95.
103. Gemski P., Lazere J.R., Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependence of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1980; 27:682-5.

УДК [579.862.04+616.98:579.862]-036.22

Антимикробная резистентность *Streptococcus pneumoniae* в России: результаты проспективного многоцентрового исследования (фаза А проекта ПеГАС-I)

Р.С. Козлов¹, О.И. Кречикова¹, О.В. Сивая², Л.И. Ахметова³, Л.А. Вишнякова⁴, Е.Н. Гугуцидзе⁵, В.Н. Ильина⁶, Л.К. Катосова⁷, В.А. Курчавов⁸, В.Б. Кузин⁹, Н.Е. Марусина¹⁰, Е.А. Молодова¹¹, И.Г. Мултых¹¹, А.Л. Павлов¹², А.И. Синопальников¹³, И.В. Смирнов¹⁴, Ю.Г. Тихонов¹³, М.Е. Фаустова⁴, В.А. Ларченко¹⁵, Л.С. Страчунский¹

¹ НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Смоленск

² Кафедра клинической фармакологии Смоленской государственной медицинской академии, Смоленск

³ Городской центр лабораторной диагностики болезней матери и ребенка, Екатеринбург

⁴ Государственный центр пульмонологии Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург

⁵ Центральная клиническая больница Управления делами Президента РФ, Москва

⁶ Областная клиническая больница, Новосибирск

⁷ Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

⁸ Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова, Москва

⁹ Городская инфекционная больница № 23, Нижний Новгород

¹⁰ Детская республиканская клиническая больница, Казань

¹¹ Клинический диагностический центр, Краснодар

¹² Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

¹³ Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко, Москва

¹⁴ Городская клиническая больница № 11, Рязань

¹⁵ Контрактно-исследовательская организация «ИннФарм», Смоленск

Цель исследования – определить структуру резистентности к антимикробным препаратам клинических штаммов пневмококков в различных регионах России.

Материал и методы исследования. В исследование включены 210 штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных в 15 центрах Центрального (Москва – 5 центров, Казань, Нижний Новгород, Рязань), Северо-Западного (Смоленск, Санкт-Петербург) и Южного (Краснодар) регионов России, на Урале (Екатеринбург) и в Сибири (Новосибирск, Томск). Чув-

ствительность к 19 антимикробным препаратам – пенициллину, амоксициллину, амоксициллину/клавуланату, цефотаксиму, цефепиму, эритромицину, азитромицину, кларитромицину, ми-декамицину, ми-декамицину ацетату, спирамицину, клиндамицину, тетрациклину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, хлорамфениколу, котримоксазолу, рифампицину и ванкомицину – определяли методом микроразведений в бульоне в соответствии с рекомендациями *Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS, США)*.

Результаты исследования. β -Лактамные антибиотики сохраняют высокую *in vitro* активность в отношении исследованной популяции пневмококков: нечувствительность (частота умеренно резистентных и резистентных штаммов) к амоксициллину и амоксициллину/клаву-

Контактный адрес:
Козлов Роман Сергеевич
214019, Смоленск, а/я 5
Эл. почта: roman@antibiotic.ru

ланату составила 0,5%, к цефотаксиму и цефепиму – 2%, к пенициллину – 9%. Устойчивость к макролидам (эритромицину, азитромицину, кларитромицину, mideкамицину, mideкамицина ацетату, спирамицину) колебалась от 2 до 6%. Хлорамфеникол, клиндамицин и рифампицин сохраняли также относительно высокую активность: нечувствительные штаммы составили 5, 2 и 1%, соответственно. Не выявлено резистентности к левофлоксацину и ванкомицину. Самый высокий процент нечувствительных штаммов (27 и 33% соответственно) отмечен к тетрациклину и ко-тримоксазолу. Полирезистент-

ность у пневмококков (устойчивость к 3 и более классам препаратов) встречалась в 8%.

Выводы. β -Лактамы (амоксициллин, амоксициллин/клавуланат, цефалоспорины III), респираторные фторхинолоны (левофлоксацин), макролиды и ванкомицин являются наиболее активными препаратами в отношении протестированных штаммов. Высокая резистентность к ко-тримоксазолу и тетрациклину диктует необходимость ограничения использования данных препаратов для лечения пневмококковых инфекций.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, пневмококки, антимикробная резистентность.

Antimicrobial Resistance of *Streptococcus Pneumoniae* in Different Regions of Russia: Results of Prospective Multicentre Study (phase A of project PeHAS-I)

R.S. Kozlov¹, O.I. Kretchikova¹, O.V. Sivaya², L.I. Akhmetova³, L.A. Vishnyakova⁴, E.N. Gugutsidze⁵, V.N. Ilyina⁶, L.K. Katosova⁷, V.A. Kurchavov⁸, V.B. Kuzin⁹, N.E. Marusina¹⁰, E.A. Molodova¹¹, I.G. Mulykh¹¹, A.L. Pavlov¹², A.I. Sinopalnikov¹³, I.V. Smirnov¹⁴, Yu.G. Tikhonov¹³, M.E. Faustova⁴, V.A. Larchenko¹⁵, L.S. Stratchounski¹

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy of Smolensk State Medical Academy, Smolensk

² Department of Clinical Pharmacology of Smolensk State Medical Academy, Smolensk

³ State Centre of Laboratory Diagnosis of Mother' and Child' Diseases, Ekaterinburg

⁴ State Centre of Pulmonology of Ministry of health of Russian Federation, Saint Petersburg

⁵ Central Clinical Hospital of Business Department of the President of Russian Federation, Moscow

⁶ Regional Clinical Hospital, Novosibirsk

⁷ Scientific Centre of Children Health of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

⁸ Children City Clinical Hospital N 13 named under N.F. Filatov, Moscow

⁹ City Infectious Hospital N 23, Nizhny Novgorod

¹⁰ Children Republican Clinical Hospital, Kazan

¹¹ Clinical Diagnostic Centre, Krasnodar

¹² Saint-Petersburg State Medical Academy named under I.P. Pavlov, Saint-Petersburg

¹³ Main Military Clinical Hospital named under N.N. Burdenko, Moscow

¹⁴ City Clinical Hospital N 11, Ryazan

¹⁵ Contract Research Organization «InnoPharm», Smolensk

Objective. To determine the structure of antimicrobial resistance of clinical isolates of pneumococci in different regions of Russia.

Materials and methods. A total of 210 *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in 15 centres of Central (Moscow – 5 centers, Kazan, Nizny Novgorod, Ryzan), North-Western (Smolensk, Saint-Petersburg), Southern (Krasnodar) regions, Urals (Ekaterinburg) and Siberia (Novosibirsk, Tomsk) were included in this study. Susceptibility to 19 antimicrobials – penicillin G, amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, cefotaxime, cefepime, erythromycin, azithromycin, clarithromycin, midecamycin, midecamycin acetate, spiramycin, clindamycin, tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacin, chloramphenicol, co-trimoxazole, rifampicin and vancomycin – was determined by broth microdilution in accordance with NCCLS recommendations.

Results. β -Lactams sustain high *in vitro* activity against studied population of pneumococci: non-susceptibility (percentage of both intermediate and fully resistant isolates) to amoxicillin and amoxicillin/clavulanate was 0,5%, to cefotaxime and cefepime – 2%, to penicillin G – 9%. Resistance to studied macrolides/azalide (erythromycin, azithromycin, clarithromycin, midecamycin, midecamycin acetate, spiramycin) varied from 2 to 6%. Chloramphenicol, clindamycin and rifampicin also sustained high activity (proportion of non-susceptible strains was 5, 2 and 1% respectively). No resistance to levofloxacin and vancomycin was found. The highest percentage of non-susceptible isolates (27 and 33% respectively) was determined to tetracycline and co-trimoxazole. Multi-resistance (defined as resistance to 3 and more classes of antimicrobials) was found in 8% of strains.

Conclusions. β -Lactams and macrolides might be recommended as drugs of choice for the therapy of pneumococcal infections. Respiratory fluoroquinolones (levofloxacin) are highly active against pneumococci. High resistance to co-trimoxazole

and tetracycline dictates the necessity to limit use of these antimicrobials for the therapy of the above infections.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococci, antimicrobial resistance.

Введение

Streptococcus pneumoniae является одним из основных возбудителей инфекций дыхательных путей, таких, как внебольничная пневмония, обострение хронического бронхита, острый синусит, острый средний отит. Пневмококки также вызывают менингит, бактериемию и первичный перитонит.

Эмпирическая антимикробная терапия пневмококковых инфекций предполагает наличие достоверных региональных и локальных данных о резистентности их возбудителей к наиболее часто используемым препаратам. Разработка национальных стандартов (протоколов) терапии различных болезней диктует необходимость учета особенностей структуры и механизмов резистентности микробов в соответствующей стране.

В последнее десятилетие особую актуальность в США и ряде стран Европы приобрели появление и распространение пенициллино- и макролидорезистентных пневмококков [1, 2].

Принимая во внимание указанное, а также увеличение потока туристов в страны (Испания, Португалия, США и др.) с высокой распространенностью *антибиоткорезистентных пневмококков* (АРП), представляется целесообразным проведение мониторинга резистентности к антимикробным препаратам клинических штаммов *S. pneumoniae* в различных регионах России. Полученные данные могут являться основой для создания и оптимизации рекомендаций по эмпирической терапии пневмококковых инфекций.

Исследование чувствительности пневмококков, относящихся к «привередливым» микроорганизмам, – трудоемкий и дорогостоящий процесс, обусловленный необходимостью применения особых питательных сред, реагентов и специального оборудования, которые недоступны для большинства российских лабораторий. Вследствие этого наиболее обоснованно проведение проспективных многоцентровых исследований с определением чувствительности в одной референтной лаборатории.

Для обеспечения сравнимости получаемых данных с результатами международных исследований критически важным является использование общепринятых рекомендаций и критериев интерпрета-

ции результатов, в частности метода микроразведения в бульоне, и критериев *Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS)*.

Цель данного исследования – определение структуры резистентности к антимикробным препаратам клинических штаммов пневмококков в различных регионах России.

Материал и методы исследования

Данная работа является проспективным многоцентровым микробиологическим исследованием. В каждом из 15 центров-участников в 1999–2000 гг. проводился отбор последовательных клинически значимых штаммов пневмококков, выделенных от пациентов с инфекциями различной локализации.

Материалом для микробиологического исследования служили мокрота, кровь, спинномозговая жидкость, содержимое синусов, отделяемое из среднего уха, жидкость, полученная при *бронхоальвеолярном лаваже* (БАЛ) и др.

Центры-участники были обеспечены питательными средами, в частности агаром «Колумбия» (bioMerieux, Франция), дисками с оптохином (bioMerieux, Франция) для предварительной идентификации и транспортной средой (модифицированная среда Дорсэ, Смоленск) для пересылки штаммов в центральную микробиологическую лабораторию НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск).

В центральной лаборатории для субкультивирования *S. pneumoniae* использовали агар «Колумбия» (bioMerieux, Франция) с добавлением 5% дефибрированной крови. Инкубация проводилась в атмосфере с повышенным (3–7%) содержанием CO_2 при температуре 35°C в течение 24 ч.

Пневмококки реидентифицировали на основе морфологии колоний на кровяном агаре, наличия α -гемолиза, чувствительности к оптохину, лизиса в присутствии солей желчных кислот с 10% раствором дезоксихолата натрия (Sigma, США) и/или положительных результатов латекс-агглютинации с использованием Slidex Pneumo-Kit (bioMerieux, Франция).

После реидентификации штаммы хранили в пробирках с триптиказосоевым бульоном (bioMerieux, Франция) с добавлением 10% стерильного глицерина (Sigma, США) при температуре –70°.

В соответствии с рекомендациями NCCLS исследование чувствительности *S. pneumoniae* с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК) проводили методом микроразведения в катион-сбалансированном бульоне Мюллера–Хинтона (Becton Dickinson, США) с добавлением лизированной лошадиной крови в итоговой концентрации 2,5%.

При тестировании использовали двойные серийные разведения химически чистых субстанций антибиотиков: пенициллина (Sigma, Германия), амоксициллина (Sigma, Германия), амоксициллина/клавуланата (Glaxo SmithKline, Великобритания), цефотаксима (Aventis Pharma, Франция), цефепима (Bristol-Myers Squibb, США), эритромицина (Sigma, Германия), азитромицина (Pliva, Хорватия), кларитромицина (KRKA, Словения), мидекамицина (KRKA, Словения), мидекамицина ацетата (KRKA, Словения), спирамицина (Aventis Pharma, Франция), клиндамицина (Sigma, Германия), тетрациклина (Sigma, Германия), ципрофлоксацина (Sigma, Германия), левофлоксацина (Aventis Pharma, Франция), хлорамфеникола (Fluka, Германия), ко-тримоксазола (Sigma, Германия), рифампицина (Fluka, Германия), ванкомицина (Eli Lilly,

США) в микротитровальных планшетах (Медполимер, Санкт-Петербург).

Из чистой суточной культуры готовили бактериальную суспензию, соответствующую по мутности 0,5 по стандарту МакФарланда. Суспензию вносили в лунки микротитровальных планшетов с помощью многоканальных пипеток (Dunatech, Германия). После этого планшеты инкубировали при температуре 35°C в течение 20–24 ч в обычных атмосферных условиях.

Интерпретацию результатов и контроль качества с использованием контрольного штамма *S. pneumoniae* ATCC 49619 проводили при каждой постановке чувствительности в соответствии со стандартами NCCLS (2001). Критерии интерпретации результатов и допустимые значения МПК для контрольного штамма представлены в табл. 1.

Ввод, статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, версия 7.0, SAS, версия 6.12 (SAS Institute, США) и M-Lab (НИИАХ, Смоленск).

Для сравнения регионов по резистентности использовали критерий Фишера с поправкой на множественные сравнения.

Таблица 1. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *S. pneumoniae* к антибиотикам (МПК, мг/л) и диапазоны МПК (мг/л) для контрольного штамма [3]

Антибиотик	Чувствительный	Умеренно резистентный	Резистентный	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619
Пенициллин	≤ 0,06	0,12-1	≥ 2	0,25–1
Амоксициллин	≤ 2	4	≥ 8	0,03–0,12
Амоксициллин/клавуланат	≤ 2	4	≥ 8	0,03–0,12
Цефотаксим	≤ 0,5	1	≥ 2	0,03–0,12
Цефепим	≤ 0,5	1	≥ 2	0,06–0,25
Эритромицин	≤ 0,25	0,5	≥ 1	0,03–0,12
Азитромицин	≤ 0,5	1	≥ 2	0,06–0,25
Кларитромицин	≤ 0,25	0,5	≥ 1	0,03-0,12
Мидекамицин*	≤ 1	–	≥ 1	0,03–128
Мидекамицина ацетат* (миокамицин)	≤ 1	–	≥ 1	0,03–128
Спирамицин*	≤ 1	–	> 4	0,03–64
Клиндамицин	≤ 0,25	0,5	≥ 1	0,03–0,012
Тетрациклин	≤ 2	4	≥ 8	0,12–1,0
Ципрофлоксацин	–	–	–	–
Левофлоксацин	≤ 2	4	≥ 8	0,5–2
Хлорамфеникол	≤ 4	–	≥ 8	2–8
Ко-тримоксазол	≤ 0,5	–	≥ 4	0,12–1
Рифампицин	≤ 1	2	≥ 4	0,015–0,06
Ванкомицин	≤ 1	–	–	0,12–0,5

* Критерии Французского общества микробиологов [15].

Результаты исследования

Исследовали 210 штаммов *S. pneumoniae*, выделенных в 15 центрах (рис. 1) Центрального (Москва – 5 центров, Казань, Нижний Новгород, Рязань), Северо-Западного (Смоленск, Санкт-Петербург) и Южного (Краснодар) регионов России, на Урале (Екатеринбург) и в Сибири (Новосибирск, Томск).

Структура клинического материала, из которого были выделены штаммы, представлена на рис. 2.

Большинство штаммов пневмококков (82,9%, $n=174$) выделено из респираторных образцов: мокрота – 130 (62%), содержимое синуса – 18 (8,7%), жидкое отделяемое из среднего уха – 14 (6,7%), жидкость, полученная при БАЛ, – 12 (5,5%).

Из ликвора получено 20 (9,5%) штаммов, из крови – 7 (3,3%).

Определение чувствительности

β -Лактамы

Как видно из данных табл. 2, к пеницилину были нечувствительны 9% штаммов пневмококков, из них 7% обладали умеренной резистентностью (МПК – 0,12–1 мг/л) и 2% – высокой (МПК \geq мг/л).

Анализ пенициллинорезистентности пневмококков в отдельных регионах (табл. 3) показал, что в Сибири частота резистентных штаммов (3,9%) достоверно выше, чем в Москве (0%, $p<0,0003$). При сравнении устойчивости к пеницилину пневмококков в остальных регионах статистически значимой разницы не получено.

Чувствительность к амоксицилину и амоксицилину/клавуланату составила 99,5%.

Цефотаксим и цефепим обладали одинаково высокой активностью (98%) *in vitro* в отношении исследованных штаммов *S. pneumoniae* со значениями МПК₉₀ = 0,06 мг/л. Резистентные штаммы (по 2) были выделены из мокроты у взрослых пациентов в Смоленске и Новосибирске.

Распределение МПК β -лактамов представлено на рис. 3–6.

Макролиды

В целом макролиды обладали высокой *in vitro* активностью в отношении пневмококков: уровень резистентности – 2–6% (табл. 2).

По значениям МПК₉₀ в порядке убывания активности исследованные препараты можно расположить следующим образом: эритромицин = кларитромицин < азитромицин < спирамицин < мидекамицин = мидекамицина ацетат.

При сравнении региональной устойчивости пневмококков к макролидам следует отметить, что

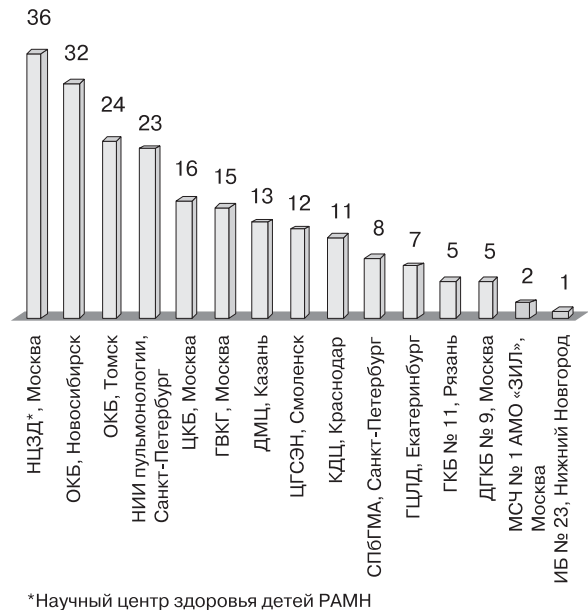
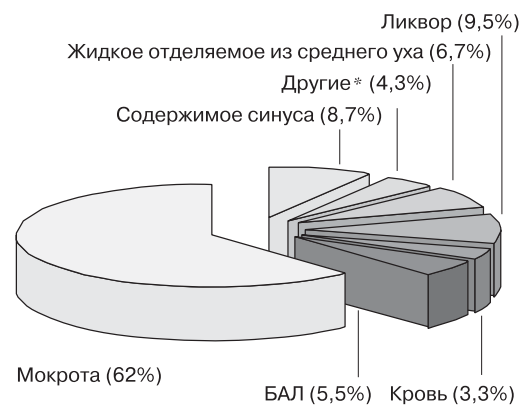


Рис. 1. Количество штаммов *S. pneumoniae*, полученных из 15 центров



* 0,9% – отделяемое из глаза, 0,9% – плевральная жидкость, 1% – ткань легкого, 1% – отделяемое из влагалища, 0,5% – раневое отделяемое

Рис. 2. Клинический материал, из которого были выделены *S. pneumoniae*

у большинства препаратов не отмечено статистически значимых различий в уровне резистентности. Единственное исключение – мидекамицина ацетат, к которому в Сибири резистентны 10,7% пневмококков, что достоверно выше, чем в Москве (0%, $p=0,01$) и Северо-Западном регионе (3%, $p=0,04$).

Распределение МПК макролидов представлено на рис. 7–12.

Линкосамиды

К клиндамицину были чувствительны 98% штаммов пневмококков. Распределение МПК пред-

Таблица 2. Суммарная чувствительность *S. pneumoniae* в России

Антибиотик	Ч, %	У/Р, %	Р, %	МПК ₅₀ , мг/л	МПК ₉₀ , мг/л	Диапазон МПК, мг/л
Пенициллин	91	7	2	0,016	0,06	0,002–4
Амоксициллин	99,5	0	0,5	0,125	0,25	0,03–8
Амоксициллин/клавуланат	99,5	0	0,5	0,125	0,25	0,03–8
Цефотаксим	98	1	1	0,016	0,06	0,008–2
Цефепим	98	0,5	1,5	0,016	0,06	0,008–4
Эритромицин	94	0	6	0,03	0,06	0,016–128
Азитромицин	94	0,5	5,5	0,06	0,125	0,03–128
Кларитромицин	94	0,5	5,5	0,03	0,06	0,008–128
Мидекамицин	96	3	1	0,125	0,5	0,03–128
Мидекамицина ацетат	94	4	2	0,25	0,5	0,03–128
Спирамицин	98	0	2	0,125	0,25	0,03–64
Клиндамицин	98	0	2	0,03	0,06	0,008–128
Тетрациклин	73	2	25	0,5	32	0,125–128
Ципрофлоксацин	–	–	–	1	2	0,125–8
Левифлоксацин	100	0	0	1	1	0,25–4
Хлорамфеникол	95	0	5	2	4	0,125–32
Ко-тримоксазол	67	26	7	0,25	2	0,06–8
Рифампицин	99	1	0	0,03	0,06	0,016–2
Ванкомицин	100	0	0	0,25	0,5	0,03–0,5

Примечание: Ч – чувствительные штаммы, У/Р – умеренно резистентные штаммы, Р – резистентные штаммы, МПК₅₀ – минимальная подавляющая концентрация в отношении 50% исследованных штаммов, МПК₉₀ – минимальная подавляющая концентрация в отношении 90% исследованных штаммов.

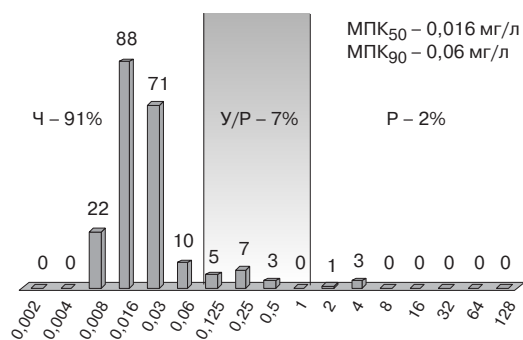


Рис. 3. Распределение МПК пеницилина

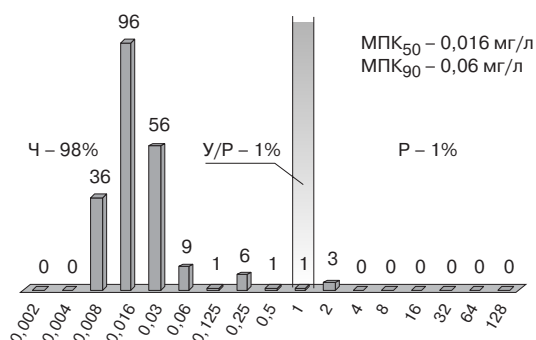


Рис. 5. Распределение МПК цефотаксима

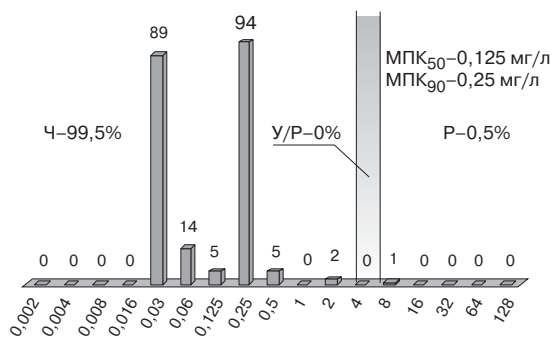


Рис. 4. Распределение МПК амоксицилина и амоксицилина/клавуланата

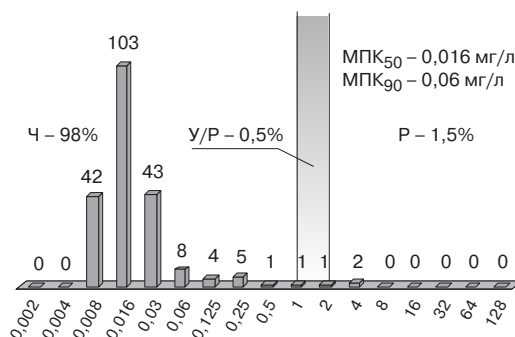


Рис. 6. Распределение МПК цефепима

Таблица 3. Резистентность *S. pneumoniae* к антимикробным препаратам в различных регионах России, %

Антибиотик	Москва, n=62		Северо-Западный регион, n=65		Центральный регион, n=14		Южный регион, n=10		Сибирь, n=51		Урал, n=7	
	Р	У/Р	Р	У/Р	Р	У/Р	Р	У/Р	Р	У/Р	Р	У/Р
Пенициллин	0 (0)	3 (4,7)	2 (3)	2 (3)	0 (0)	2 (14)	0 (0)	1 (10)	2 (3,9)	13,7	0 (0)	0 (0)
Амоксициллин	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Амоксициллин/клавуланат	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Цефотаксим	1 (1,6)	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Цефепим	0 (0)	0 (0)	1 (1,5)	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Эритромицин	3 (4,7)	0 (0)	5 (7,7)	0 (0)	1 (7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	1 (14)	0 (0)
Азитромицин	3 (4,7)	0 (0)	5 (7,7)	0 (0)	1 (7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	1 (14)	0 (0)
Кларитромицин	2 (3,2)	0 (0)	5 (7,7)	1 (1,5)	1 (7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	1 (14)	0 (0)
Мидекамицин	0 (0)	1 (1,6)	2 (3)	0 (0)	1 (7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	2 (28)	0 (0)
Мидекамицина ацетат	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (14)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	10,7	0 (0)	1 (14)	0 (0)
Спиррамидин	1 (1,6)	0 (0)	7 (11)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Клиндамицин	0 (0)	0 (0)	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (14)	0 (0)
Тетрациклин	3 (4,7)	12 (19,3)	10 (15,3)	2 (3)	6 (42,9)	0 (0)	5 (50)	0 (0)	31,4	0 (0)	2 (28)	0 (0)
Левифлоксацин	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Хлорамфеникол	2 (3,2)	0 (0)	5 (7,7)	0 (0)	1 (7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	2 (3,9)	0 (0)	0 (0)
Ко-тримоксазол	22 (35,4)	1 (1,6)	4 (6,1)	11 (17)	3 (21,4)	5 (35,7)	3 (30)	3 (30)	5,9	21,6	0 (0)	1 (14)
Рифампицин	0 (0)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Ванкомицин	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Примечание: У/Р – умственно резистентные штаммы, Р – резистентные штаммы.

ставлено на рис. 13. В регионах уровень резистентности варьировал от 0 до 2% (табл. 3) при отсутствии статистически значимых различий.

Тетрациклин

К тетрациклину были нечувствительны 27% штаммов пневмококков, причем 25% обладали высоким уровнем резистентности (рис. 14). Значимых региональных различий в уровне устойчивости не выявлено.

Фторхинолоны

Все исследованные пневмококки оказались чувствительными к левофлоксацину независимо от резистентности к другим классам препаратов. В то же время у 12 (5,7%) штаммов МПК ципрофлоксацина составила 4 мг/л, что, по мнению ряда авторов, говорит об устойчивости к данному препарату [5].

Распределение МПК фторхинолонов представлено на рис. 15–16.

Хлорамфеникол

К хлорамфениколу были резистентны 5% штаммов (рис. 17) без значимых различий в устойчивости в различных регионах.

Ингибиторы синтеза фолиевой кислоты

К сульфаметоксазолу/триметоприму (ко-тримоксазолу) были нечувствительны 33% штаммов. Из них 7% – высокорезистентны (рис. 18).

В Москве уровень резистентности (35,4%) был выше ($p < 0,0001$), чем в Северо-Западном регионе и Сибири (6,1 и 5,9% соответственно).

Другие препараты

К рифампицину были устойчивы (МПК = 2 мг/л) 2 штамма, выделенные в Смоленске. Штаммов, резистентных к ванкомицину, не обнаружено.

Распределение МПК рифампицина и ванкомицина представлено на рис. 19 и 20 соответственно.

Полирезистентность

Из всех исследованных штаммов пневмококков 17 (8%) обладали поли-

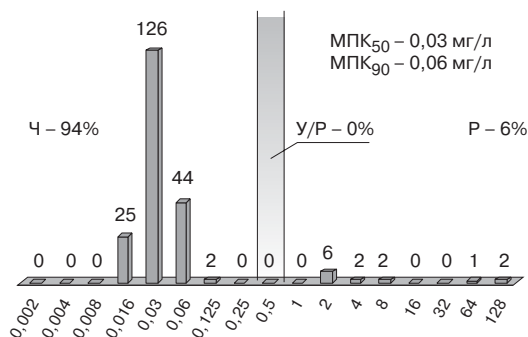


Рис. 7. Распределение МПК эритромицина

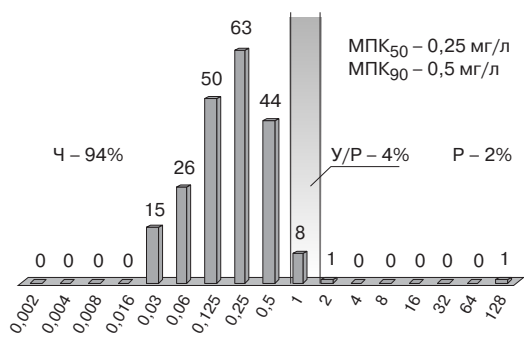


Рис. 10. Распределение МПК мидекамина

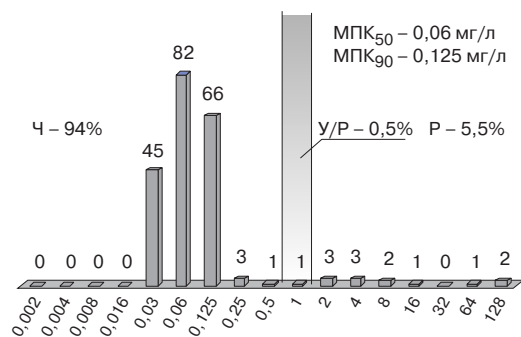


Рис. 8. Распределение МПК азитромицина

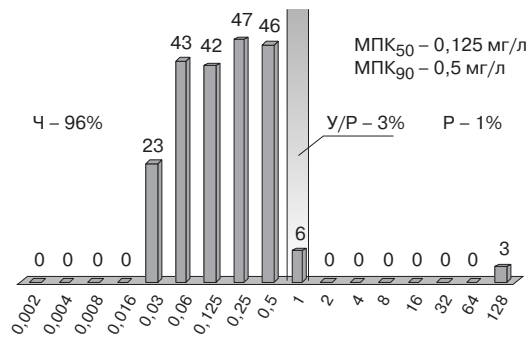


Рис. 11. Распределение МПК мидекамина ацетата

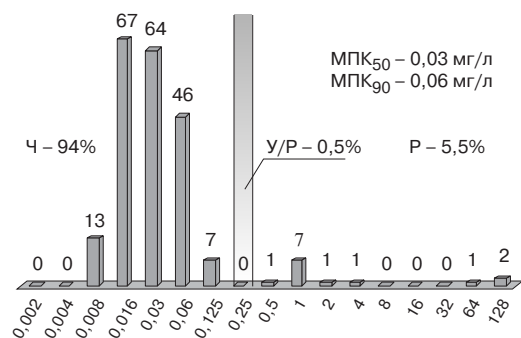


Рис. 9. Распределение МПК кларитромицина

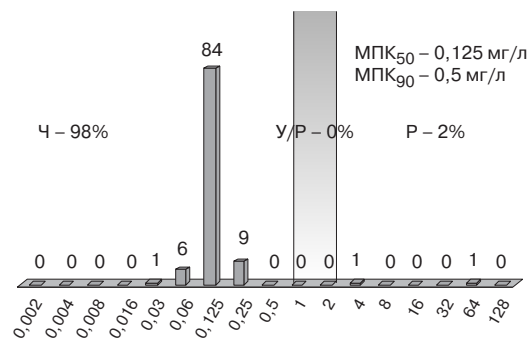


Рис. 12. Распределение МПК спирамицина

резистентностью – устойчивостью к 3 и более классам антибиотиков. Большинство штаммов выделены из респираторных источников: 15 – из мокроты, 1 – из содержимого синуса. Один штамм пневмококка обнаружен в ликворе.

Данные пневмококки выделены в различных центрах Центрального (3 – в Москве, по 1 – в Казани и Рязани), Северо-Западного (3 – в Смоленске, 1 – в Санкт-Петербурге), Южного (2 – в Краснодаре) регионов и в Сибири (6 – в Новосибирске).

Все полирезистентные штаммы сохраняли 100% чувствительность к левофлоксацину, рифампицину

и ванкомицину, а 16 из 17 (94,1%) – к амоксициллину и амоксицилину/клавуланату. Пневмококк, выделенный из ликвора, сохранял чувствительность к цефотаксиму и цефепиму (МПК = 0,016 мг/л).

Обсуждение результатов исследования

В последние годы проблема резистентности *S. pneumoniae* к антимикробным препаратам приобретает все большую актуальность. Появившиеся в середине 60-х годов в США и Австралии АРП в настоящее время приобрели практически повсеместное распространение. Во многих странах отмечен рост резистентности *S. pneumoniae* [2, 4, 6, 8].

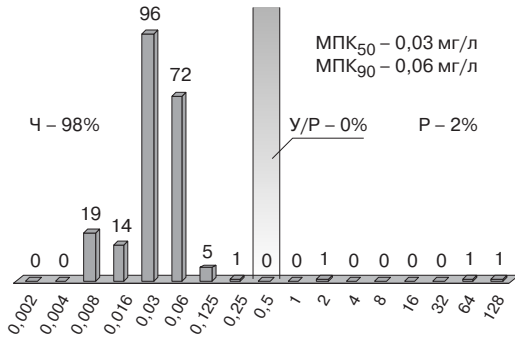


Рис. 13. Распределение МПК клиндамицина

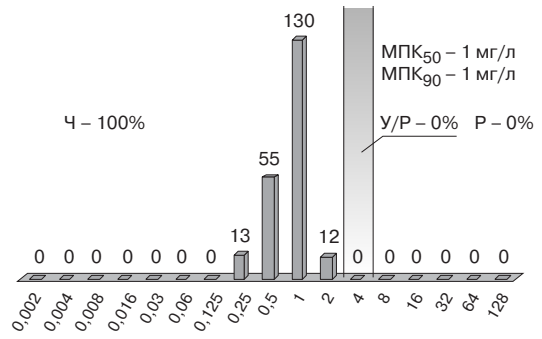


Рис. 16. Распределение МПК левофлоксацина

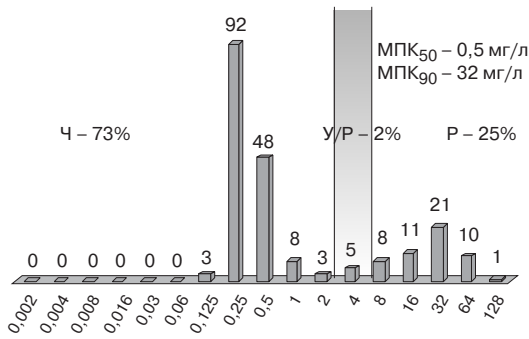


Рис. 14. Распределение МПК тетрациклина

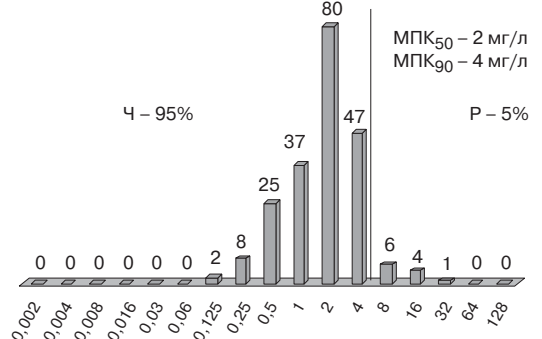


Рис. 17. Распределение МПК хлорамфеникола

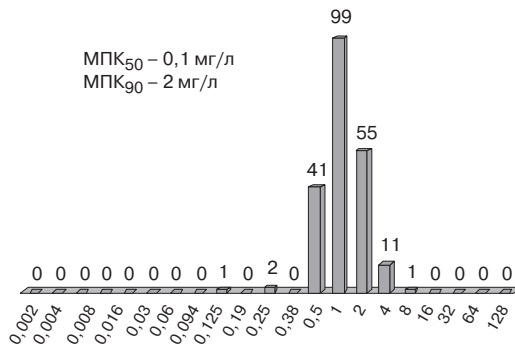


Рис. 15. Распределение МПК ципрофлоксацина

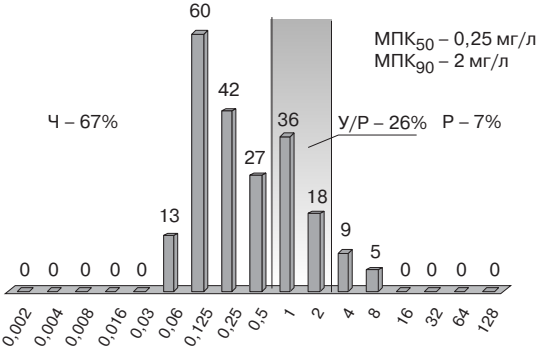


Рис. 18. Распределение МПК ко-тримоксазола

Для выбора оптимального антибиотика необходимо как минимум опираться на региональные показатели чувствительности возбудителя. Данные о резистентности *S. pneumoniae* в России ограничены и носят разрозненный характер.

В связи с отсутствием единых стандартных методик тестирования микроорганизмов достоверность многих результатов сомнительна. Все это послужило причиной многоцентрового исследования чувствительности *S. pneumoniae* к антимикробным препаратам.

Принимая во внимание, что β -лактамы составляют основу терапии пневмококковых инфекций, уровень резистентности к ним значительно влияет на алгоритмы эмпирической терапии пневмококковых инфекций.

Данные об устойчивости к β -лактамам в различных регионах мира существенно варьируют. Так, например, в Азии число пенициллинорезистентных штаммов пневмококков составляет 47%, в Северной Америке – 46%, в Южной Америке – 35%, в Европе – 19% [5]. В Европе наряду со стра-

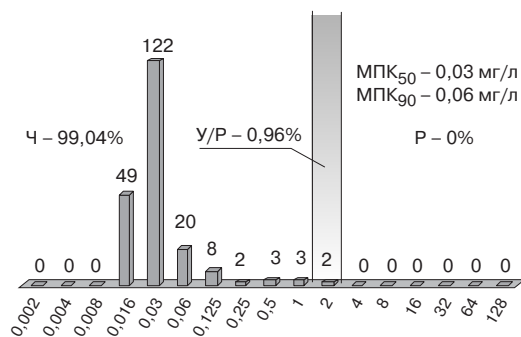


Рис. 19. Распределение МПК рифампицина

нами с высоким уровнем устойчивости (Испания – 38%, Португалия – 19%) [2, 6] есть государства, где доля пенициллинорезистентных *S. pneumoniae* по-прежнему остается низкой (Германия, Исландия и Нидерланды – 2, 2 и 1% соответственно) [2, 7, 8].

В нашем исследовании число штаммов пенициллинорезистентных пневмококков составило 9%. Только 2% из них были высокорезистентны (МПК \geq мг/л). Кроме того, уровень устойчивости к амоксициллину и амоксициллину/клавуланату не превышал 0,5%.

Несмотря на то что в некоторых странах уровень резистентности *S. pneumoniae* к цефалоспорином достаточно высокий и колеблется от 4% к цефотаксиму и цефепиму до 22% к цефуроксиму [9], только 2% штаммов пневмококков были устойчивы к цефотаксиму и цефепиму в данном исследовании.

В целом в Сибири уровень резистентности был выше, чем в других регионах, что, возможно, связано с особенностями применения antimicrobных препаратов. Данная гипотеза должна быть подтверждена фармакоэпидемиологическими данными.

В последние десятилетия во всем мире наблюдается тенденция к росту устойчивости пневмококков к макролидам. Например, в США в 1997 г. частота резистентности пневмококков составила 14–26%, во Франции – 45%, в Испании – 32,6%, в Бельгии – 31,1%, в Италии – 24,1%, в Швеции – 15,8%, в Азии – до 39% [2, 9, 10, 13].

Препараты данной группы также составляют основу терапии пневмококковых инфекций, особенно в педиатрии, и при гиперчувствительности к β -лактамам. Результаты фазы А проекта ПеГАС-I показали, что макролиды сохраняют высокую активность в отношении пневмококков с уровнем резистентности не более 6%. Несколько большая частота макролидорезистентности *S. pneumoniae* выявлена на юге России (9–10%) и на Урале (14–25%).

В целом частота резистентности к 16-членным макролидам оказалась несколько ниже, чем к 14- и

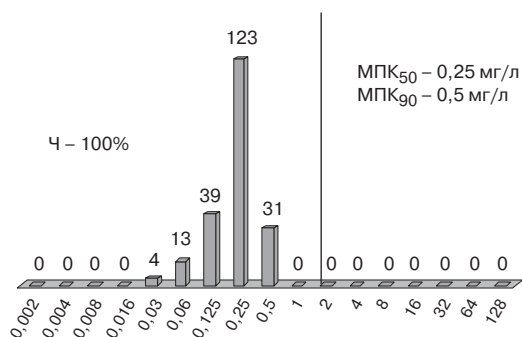


Рис. 20. Распределение МПК ванкомицина

15-членным. Это, вероятно, связано с наличием у таких штаммов *mefE* гена, кодирующего систему активного выброса (эффлюкса), активную в отношении 14- и 15-членных макролидов, но не способную удалить из микробной клетки 16-членные макролиды и линкосамиды.

Учитывая относительно низкую частоту резистентности к макролидам у *S. pneumoniae*, эти препараты можно рекомендовать для эмпирической терапии неинвазивных форм пневмококковых инфекций.

На основе полученных данных в качестве альтернативы для терапии пневмококковых инфекций (синусит, обострение хронического бронхита, внебольничная пневмония), включая полирезистентные штаммы, можно рекомендовать респираторные фторхинолоны, в частности левофлоксацин. Однако следует продолжать мониторинг устойчивости к этому классу препаратов в связи с сообщениями о росте резистентности параллельно с увеличением их потребления.

Так, например, в Канаде с 1988 по 1997 г. использование фторхинолонов увеличилось с 0,8 до 5,5 случаев на каждые 100 человек в год. При этом уровень устойчивости возрос от 0 (1993) до 2,9% (1997–1998) [4].

Для России наибольшую тревогу вызывает высокая резистентность к тетрациклину и ко-тримоксазолу. Общий уровень устойчивости к тетрациклину составил 27%, высокорезистентны были 25% штаммов. Максимальная частота устойчивости выявлена в Сибири (31,4%), в Северо-Западном регионе она оказалась в 2 раза ниже (15,3%).

В других регионах земного шара резистентность пневмококков к тетрациклину также высокая и варьирует от 17 (США) до 42% (Азия), причем отмечается тенденция к росту этих показателей [2, 9].

Устойчивостью к ко-тримоксазолу обладали 33% *S. pneumoniae*, из них 7% были высокорезистентными. Самая высокая резистентность выявлена в Москве (35,4%), тогда как в Северо-Западном

регионе и Сибири доля резистентных штаммов составила соответственно 5,9 и 6,1%.

В Европе, по данным многоцентрового проспективного исследования SENTRY, устойчивость к ко-тримоксазолу равнялась 12% [9].

Полученные данные свидетельствуют о необходимости ограничения использования тетрациклинов и ко-тримоксазола при эмпирической терапии пневмококковых инфекций.

На сегодняшний день в терапии менингитов пневмококковой этиологии в России продолжают применять хлорамфеникол. Поэтому важно знать резистентность к нему *S. pneumoniae*. В данном исследовании этот показатель составил 5% с диапазоном колебаний от 0% на Урале до 7,8% в Северо-Западном регионе.

Особую терапевтическую проблему представляют полирезистентные штаммы, определяемые как устойчивые к 3 и более классам препаратов. Так, в США полирезистентные пневмококки встречаются

в 22,4% случаев [2]. Проведенное исследование продемонстрировало, что частота полирезистентности *S. pneumoniae* в нашей стране сравнительно низкая (8%). Подобные штаммы встречались во всех регионах, за исключением Урала.

Таким образом, принимая во внимание высокую активность β -лактамов, макролидов и респираторных фторхинолонов (левофлоксацин), данные препараты можно применять в качестве препаратов выбора для лечения пневмококковых инфекций.

Высокая резистентность (>25%) к ко-тримоксазолу и тетрациклину диктует необходимость ограничения использования их при пневмококковых инфекциях.

Отмеченные качественные и количественные различия антибиотикорезистентности пневмококков в 15 регионах России свидетельствуют о необходимости расширения мониторинга лекарственной устойчивости с целью использования его результатов при выборе антимикробных препаратов.

Литература

- Bronzwaer S., Cars O., Buchholz U., Molstad S., Goettsch W., Veldhuijzen I., et al. A European study on relationship between use and antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis* 2002;8:278-82.
- Doern G.V., Heilmann K.P., Huynh H.K., Rhomberg P.R., Coffman S.L., Brueggemann A.B. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *S. pneumoniae* in the United States during 1999–2000, including a comparison of resistance rates since 1994–1995. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1721-9.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically – M100-S12. MIC testing supplemental tables. NCCLS, Villanova, PA; 2002. p. 110-2.
- Chen D.K., McGeer A., Azavedo J.C., Low D.E. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. *N Engl J Med* 1999;341:233-9.
- Appelbaum P.C. Resistance among *Streptococcus pneumoniae* [RTF bookmark start: z8]: Implications for Drug Selection. *Clin Infect Dis* 2002; 34:1613-20.
- Baquero F., Granizo J.J., Aguilar L., Casal J., Garsia-Rey C., Dal-Rel R. *S. pneumoniae* resistance to erythromycin and penicillin in relation to macrolide and β -lactam consumption in Spain. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46:767-73.
- Reinert R.F., Lahlam A., Tenholte C., Briefs C., Haupts S. Emergence of macrolide and penicillin resistance among invasive pneumococcal isolates in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2001;49:61-8.
- Neeling A.J., Overbeek B.P., Horrevorts A.M., Ligtoet E.J., Goettsch W.G. Antibiotic use and resistance of *S. pneumoniae* in the Netherlands during the period 1994–1999. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:441-4.
- Hoban D.J., Doern V.G., Fluit A.C., Roussel-Delvallez M., Jones N.R. Worldwide prevalence of antimicrobial resistance in *S. pneumoniae*, *H. influenzae* and *M. catarrhalis* in the SENTRY antimicrobial surveillance program 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2001;32 (Suppl 2):81-93.
- Nagai K., Appelbaum P.C., Davis T.A., Kelly L.M., Hoellman D.B., Andrusevic A.T., et al. Susceptibilities to *telithromycin* and six other agents and prevalence of macrolide resistance due to L4 ribosomal protein mutation among 992 pneumococci from 10 Central Eastern European countries. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:371-7.
- Schmitz F.J., Verhoef J., Milatovic D., Fluit A.C. Treatment options for *Streptococcus pneumoniae* strains resistant to macrolides, tetracycline, quinolones or trimethoprim/sulfamethoxazole. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:827-9.
- Legg J.M., Bint A.J. Will pneumococci put quinolones in their place? *J Antimicrob Chemother* 1999; 44:425-7.
- Coyle E.A., Kaatz G.W., Rybak M.J. Activities of newer fluoroquinolones against ciprofloxacin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1654-9.
- Klugman K.P. Antibiotic selection of multiply resistant pneumococci. *Clin Infect Dis* 2001;33:489-91.
- Statement 1996 CA-SFM. Zone sizes and MIC breakpoints for non-fastidious organisms. *Clin Microbiol Infect* 1996; 2 (Suppl 1): S46-8.

УДК [616.381-022+616.34-022]-085.281

Основы рационального выбора антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях (Лекция)*

Х. Гарау

Отделение терапии госпиталя «Mutua de Terrassa», Барселонский университет, Испания

Bases for the Rational Choice of Antimicrobials in the Treatment of Intra-Abdominal Infections (Lecture)*

J. Garau

Department of Medicine, Hospital «Mutua de Terrassa», University of Barcelona, Spain

Одно из необходимых условий выбора рациональной антибактериальной терапии при *интраабдоминальных инфекциях* (ИАИ) – знание наиболее распространенных бактериальных возбудителей различных ИАИ. В свое время профессор Х. Планельес выделил 2 наиболее важных момента, касающихся установления этиологии ИАИ и требующих особого внимания клиницистов.

В о - п е р в ы х , образцы клинического материала для микробиологического исследования следует брать непосредственно из мест локализации инфекции. В частности, когда речь идет об ИАИ, в качестве образцов для исследования должен использоваться материал, взятый из брюшной полости.

В о - в т о р ы х , крайне важно поддерживать тесное взаимодействие между клиницистами и микробиологами. Подобное двустороннее сотрудничество позволяет добиться несомненных преимуществ при лечении пациентов с ИАИ.

Контактный адрес:
Javier Garau
Факс: +34 93 736 50 59
Эл. почта: jagarau@terra.es

Первичный перитонит

Первичный перитонит является одной из наиболее интересных ИАИ. Нередко он представляет собой серьезную проблему для врачей-клиницистов.

Этиология первичного перитонита крайне разнообразна. Он является классическим примером интраабдоминальной моноинфекции в отличие от вторичных перитонитов, которые, как правило, вызываются ассоциациями микроорганизмов.

К состояниям, при которых может развиваться первичный перитонит, относятся:

- спонтанный бактериальный перитонит (СБП) у пациентов с циррозом печени, нефротическим синдромом;
- туберкулезный перитонит;
- перитонит, источником которого являются инфекции женских половых органов;
- пациенты, находящиеся на постоянном перитонеальном диализе;
- пациенты с гидроцефалией, у которых установлены вентрикулоперитонеальные шунты.

Для клиницистов важно уметь четко дифференцировать так называемый СБП, который в настоящее время часто наблюдается у пациентов с тяжелыми формами цирроза печени и асцитом. У таких больных может развиваться бактериемия, которая

* Прочитана на V Международной конференции МАКМАХ «Антимикробная терапия» 4–6 июня 2002 г., Москва.
Has been given on V IASMAC International conference «Antimicrobial therapy» 4–6 June 2002, Moscow.

при нормальной функции иммунной системы, вероятнее всего, будет кратковременной.

В то же время иммунокомпromетированные пациенты с циррозом печени, у которых образуется и накапливается в брюшной полости асцитическая жидкость, в наибольшей степени подвержены риску развития такого осложнения, как СБП.

СБП может также иногда наблюдаться у пациентов с нефротическим синдромом, особенно у детей раннего возраста, у которых на определенном этапе течения болезни развивается асцит. Возникающая при этом бактериемия, вызываемая таким наиболее распространенным внебольничным возбудителем, как *Streptococcus pneumoniae*, может способствовать проникновению микроорганизма в брюшную полость с последующим развитием у пациентов СБП.

Другим источником первичного перитонита, представляющим большой интерес, является реактивация *Mycobacterium tuberculosis* в предсуществующих скрытых очагах туберкулеза, которыми в большинстве случаев являются лимфатические узлы. Активация возбудителя туберкулеза дает начало развитию подострого или хронического процесса, приводящего к постепенному возникновению распространенного туберкулеза органов брюшной полости.

В некоторых случаях инфицирование брюшной полости может быть связано с инфекцией, распространяющейся восходящим путем из женских половых органов. При этом могут развиваться гонококковый перитонит и перитонит, вызванный таким относительно необычным для этой патологии возбудителем, как *Chlamydia trachomatis*.

В настоящее время во всем мире большое количество пациентов находится на постоянном перитонеальном диализе. Эти лица также имеют высокую вероятность развития первичного перитонита, являющегося в данном случае ятрогенной инфекцией.

Возникновению первичного перитонита подвержены и пациенты с вентрикулоперитонеальными шунтами, установленными в связи с гидроцефалией.

СБП при циррозе печени в подавляющем большинстве случаев вызывается грамотрицательными бактериями, в основном *Escherichia coli*, а также некоторыми грамположительными кокками, представленными преимущественно внебольничными возбудителями, такими, как пневмококки.

Так, J. Fernandez и соавт. провели исследование, в которое были включены 138 пациентов с циррозом печени и СБП. У 102 пациентов первичный перитонит развился во внебольничных условиях, у 36 инфекция носила нозокомиальный характер. Положительные результаты микробиологического

исследования получены в 43 и 11 случаях соответственно.

Согласно данным исследования, как внебольничный, так и нозокомиальный СБП в подавляющем большинстве случаев вызывается грамотрицательными бактериями (83,7 и 63,6% соответственно). Гораздо реже возбудителем как внебольничного, так и нозокомиального СБП являлись грамположительные кокки, главным образом стрептококки, в частности *S. pneumoniae* [1].

Наиболее значимым среди грамотрицательных бактерий возбудителем СБП, несомненно, является *E. coli* (79%). В то же время возбудителями СБП могут быть и другие грамотрицательные микроорганизмы, такие, как *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Klebsiella* spp.

Из грамположительных кокков наиболее распространенными возбудителями СБП являются стрептококки. Этиологическое значение имеют не только *Streptococcus viridans* (45,5%), но и другие представители *Streptococcus* spp., например, *S. pneumoniae*, стрептококки группы В (*Streptococcus agalactiae*), а также, хотя и в гораздо более редких случаях, энтерококки.

Наконец, в очень тяжелых случаях, встречающихся достаточно редко, СБП может вызываться *Staphylococcus aureus*.

Необходимо отметить, что частота развития СБП у пациентов с тяжелыми формами цирроза печени значительно увеличивается с возрастом. J. Fernandez и соавт. установили, что у таких пациентов возможно проведение длительной профилактики пероральными антимикробными препаратами, позволяющими предотвратить развитие первичного или спонтанного перитонита. В действительности в последнее десятилетие многие гастроэнтерологи использовали антибиотик из группы фторхинолонов норфлоксацин в качестве препарата для химиопрофилактики СБП у пациентов с циррозом печени. Однако за этот период у штаммов *E. coli* резистентность к фторхинолонам значительно возросла.

В упомянутом исследовании авторы сравнили чувствительность возбудителей СБП, выделенных от пациентов с циррозом печени. Больных разделили на 2 группы.

Первая группа была контрольной: пациенты не получали антибиотики с целью профилактики.

Во второй группе пациентам в качестве профилактического препарата назначали норфлоксацин. Согласно результатам исследования, у пациентов, получавших норфлоксацин, частота резистентности к фторхинолонам у *E. coli* составила 57%, в то время как в контрольной группе этот показатель оказался равным 21% ($p < 0,04$).

Это позволило исследователям сделать вывод о том, что в связи с высокой распространенностью резистентности к фторхинолонам у *E. coli* препараты этой группы не могут быть использованы (по крайней мере в Испании) с целью профилактики СБП у пациентов с циррозом печени [1].

У пациентов, находящихся на постоянном перитонеальном диализе, основными возбудителями первичного перитонита по понятным причинам являются преимущественно микроорганизмы, колонизирующие кожный покров. Представители микрофлоры кожи (*Staphylococcus epidermidis* и другие коагулазонегативные стафилококки) часто колонизируют выходные диализные дренажи. В более редких случаях возбудителем является *S. aureus*. При этом случаи перитонита, вызванные этим патогеном, протекают очень тяжело и сопровождаются высокой летальностью.

Другие микроорганизмы также могут проникать в брюшную полость посредством диализных трубок. В связи с этим описаны случаи первичного перитонита, вызванного *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp., различными энтеробактериями, а также, хотя и в очень редких случаях, *Candida* spp.

Пациенты с венстрикулоперитонеальным шунтом могут подвергаться инфицированию непосредственно во время установки катетера. В таких случаях, как и у пациентов, находящихся на постоянном перитонеальном диализе, спектр возбудителей будет представлен микроорганизмами, которые в обычных условиях колонизируют или контаминируют кожу, главным образом коагулазонегативными стафилококками, чаще *S. epidermidis*.

В более редких случаях у данной категории пациентов могут развиваться эпизоды бактериемии, вызванные типичными возбудителями менингита, такими, как *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *S. pneumoniae*. В данной ситуации интересным представляется тот факт, что эти микроорганизмы могут колонизировать брюшную полость и/или субарахноидальное пространство, вызывая в последнем случае развитие тяжелого и нередко заканчивающегося летальным исходом менингита.

И, наконец, в редких случаях перитонеальный конец шунта может смещаться и перфорировать полый орган брюшной полости, например толстую кишку. В таких случаях развивается вторичный перитонит, представляющий собой полимикробную инфекцию.

Как уже указывалось, одним из источников развития первичного перитонита, в частности у сексуально активных женщин молодого возраста, могут быть воспалительные заболевания органов малого таза. В классических случаях первичный перитонит у этой

категории пациентов представляет моноинфекцию, одним из возбудителей которой является *N. gonorrhoeae*, которая в настоящее время уже редко встречается в большинстве развитых западных стран.

Все более распространенным возбудителем инфекций органов малого таза у молодых женщин становится *Chlamydia trachomatis*. В наше время у большинства женщин воспалительные заболевания органов малого таза представляют собой микст-инфекцию и вызываются ассоциациями различных аэробов и анаэробов. Наиболее этиологически значимыми возбудителями являются аэробы – *E. coli* и различные стрептококки, в меньшей степени – *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*. Наиболее часто встречающиеся в ассоциации с ними анаэробы представлены *Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptococcus* spp.

В гораздо более редких случаях инфекция органов малого таза обусловлена *Actinomyces israelii*. Этот редкий в обычных ситуациях микроорганизм является относительно распространенным возбудителем инфекций у женщин, использующих внутриматочные контрацептивы.

Наконец, *Mycobacterium tuberculosis* как причина инфекций органов малого таза у женщин в настоящее время встречается в странах с высокой распространенностью туберкулеза.

Один из типичных примеров бактериальных ИАИ – инфекции желчевыводящих путей, в частности, острый холецистит и холангит. Хорошо известно, что наиболее распространенными возбудителями острого холецистита являются различные энтеробактерии, первое место среди которых также занимает *E. coli*.

Тем не менее следует принимать во внимание, что возбудителями инфекции желчевыводящих путей могут быть *Enterococcus* spp. Особенно часто они вызывают развитие ИАИ в следующих ситуациях: после перенесенной операции на желчевыводящих путях, у пациентов, которым проводится дренирование желчевыводящих путей, а также у получавших цефалоспорины с целью профилактики или в качестве лечения в острый период болезни. Во всех этих случаях следует предполагать в качестве возбудителя инфекции различные энтерококки.

У пациентов с инфекциями желчевыводящих путей также могут обнаруживаться анаэробы – *Clostridium perfringens* и *Bacteroides fragilis*. Они выделяются практически у всех пациентов, имеющих патологическое расширение желчевыводящих путей, а также у больных с эндопротезами, обеспечивающими проходимость общего желчного протока.

В то же время у большинства пациентов со злокачественными новообразованиями желчевыводящих

путей, которым проводилось эндоскопическое исследование, наиболее вероятным возбудителем инфекции желчевыводящих путей будет *P. aeruginosa*.

Вторичный перитонит

Вторичным называют перитонит, развивающийся в классических случаях в результате перфорации аппендикса или толстой кишки. Менее распространенные причины – дивертикулит или злокачественная опухоль какого-либо органа брюшной полости.

Причиной вторичного перитонита может быть проникающее ранение живота с перфорацией полого органа, приводящее к контаминации брюшной полости. Развивающийся в перечисленных ситуациях перитонит будет являться классическим примером микст-инфекции, вызванной ассоциацией аэробов и анаэробов.

Наиболее важную роль в патогенезе вторичного бактериального перитонита играют грамотрицательные аэробные палочки. Чаще всего из брюшной полости выделяются *E. coli* (56,8–68,4%), *Klebsiella* spp. (15,4–17%), *P. aeruginosa* (14,8–19,1%), *Enterobacter* spp. (6,1–13,5%) [2, 3], в более редких случаях – *Citrobacter* spp., *Serratia marcescens* и *Morganella morganii*.

Из грамположительных аэробов наиболее часто выделяются стрептококки (25,9–35,8%) и энтерококки (10,5–23,5%). Вероятность их обнаружения зависит от локализации инфекции [2, 3].

Так, *Enterococcus* spp. крайне редко являются возбудителями перитонита при остром аппендиците. В то же время они очень часто выделяются у пациентов с перфорацией толстой кишки. Тем не менее необходимо отметить, что этиологическая значимость энтерококков в развитии вторичного перитонита остается спорной.

Третий компонент, практически всегда обнаруживаемый у пациентов с вторичным перитонитом, – анаэробы. Наиболее распространенным в данном случае возбудителем является *Bacteroides fragilis* (22,8–44,5%), в меньшей степени – другие бактерии [2, 3].

Таким образом, при антибактериальной терапии вторичного перитонита необходимо назначать препараты, активные в отношении 2 основных групп возбудителей – энтеробактерий (в первую очередь *E. coli*) и грамотрицательных анаэробов (прежде всего *B. fragilis*).

При лечении вторичного перитонита необходимо учитывать, что намного более тяжелым с точки зрения терапии является лечение так называемого послеоперационного перитонита. В данном случае речь идет о больных, поступающих в стационар по поводу

острых хирургических заболеваний органов брюшной полости и не имеющих явлений перитонита, но который развивается у них практически сразу после или во время оперативного вмешательства.

Особенность этих пациентов состоит в том, что они предварительно уже получали антимикробные препараты или с целью профилактики, или в качестве стартовой терапии основного заболевания как, например, при остром холецистите.

Очевидно, что после развития послеоперационного перитонита у этих пациентов будут выделяться микроорганизмы, большинство из которых обладает устойчивостью к назначенным ранее антибиотикам. При этом часто чувствительные микроорганизмы, главным образом *E. coli* и бактероиды, элиминируются из организма и замещаются госпитальными штаммами возбудителей.

По данным исследований, основными возбудителями послеоперационного перитонита в настоящее время остаются *E. coli* и *Proteus* spp. [4]. Однако в последние годы все чаще у таких пациентов обнаруживаются *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., а также *Acinetobacter* spp., являющиеся типичными нозокомиальными патогенами [4].

Хорошо известно, что возбудители нозокомиальных инфекций обладают гораздо более высокой резистентностью к антимикробным препаратам, чем внебольничные. В случае выделения грамположительных микроорганизмов от пациентов с послеоперационным перитонитом, находящихся в стационаре с высокой распространенностью метициллинорезистентных стафилококков, наиболее вероятным возбудителем у них будет метициллинорезистентный *S. aureus* [4].

Другими широко распространенными грамположительными возбудителями являются *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*.

Послеоперационный перитонит, как правило, протекает в более тяжелой форме и гораздо труднее поддается лечению. В связи с этим одно из важнейших условий ведения таких пациентов – точный микробиологический диагноз, так как именно им определяется выбор соответствующей антибактериальной терапии.

Послеоперационный перитонит всегда ассоциируется с высокой летальностью. В то же время исследования Р. Montravers и соавт. продемонстрировали, что у пациентов, получавших неадекватную антибактериальную терапию, частота летальных исходов была в 3 раза выше, чем у больных, проходивших адекватную антибактериальную терапию, и составила 31 и 12% соответственно (табл. 1) [4].

Таблица 1. Результаты лечения перитонита, развившегося после операции на органах брюшной полости [4]

Результат лечения	Антибактериальная терапия		P
	адекватная, n=52	неадекватная, n=48	
Неудовлетворительный	13/52 (25%)	28/48 (58%)	<0,05
Летальный исход	6/52 (12%)	15/48 (31%)	<0,01

Третичный перитонит

Третичный перитонит – следующий шаг с точки зрения прогрессирования данного заболевания. К этой группе относятся пациенты, у которых формируется нарушение целостности стенки кишечника или другого полого органа, обычно после оперативных манипуляций.

Механизм развития воспалительного процесса недостаточно ясен, однако предполагается, что третичный перитонит представляет собой персистирующую инфекцию брюшины, ассоциированную с нозокомиальными патогенами. В некоторых случаях у таких пациентов не удается выделить какого-либо возбудителя. Однако в остальных случаях, как правило, обнаруживаются микроорганизмы, обладающие слабой способностью к инвазии, такие, как энтерококки, коагулазонегативные стафилококки и *Candida* spp.

Гораздо реже в качестве возбудителя выделяют *P. aeruginosa* и энтеробактерии. В связи с этим третичный перитонит – еще один из ярких примеров ситуации, когда микробиологический диагноз является решающим при назначении хирургом адекватной антибактериальной терапии.

Антибактериальная терапия интраабдоминальных инфекций

Терапия ИАИ в подавляющем большинстве случаев складывается из хирургического лечения и антибактериальной терапии. Для рационального выбора антимикробных препаратов необходимо иметь представление о наиболее распространенных возбудителях ИАИ с учетом условий стационара, в котором находится пациент.

Не менее важно располагать локальными дан-

ными об антибиотикорезистентности основных возбудителей. Как уже указывалось, наиболее часто встречающимся возбудителем большинства ИАИ является *E. coli*. В связи с этим D.M. Livermore и соавт. провели сравнительное исследование чувствительности к антимикробным препаратам 248 штаммов *E. coli*, выделенных из брюшной полости пациентов в 5 различных странах.

Как видно из данных табл. 2, традиционные антибиотики, используемые для лечения ИАИ, в настоящее время сохраняют высокую активность против *E. coli* [5]. При этом высокая активность в отношении *E. coli* характерна для карбапенемов, ингибиторозащищенных пенициллинов и цефалоспоринов III–IV поколения (табл. 2).

При лечении послеоперационного или третичного перитонита особенно важно учитывать частоту резистентности к различным антимикробным препаратам наиболее распространенных возбудителей. В табл. 3 представлены данные о чувствительности штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с нозокомиальными инфекциями в 28 отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) России [6]. Как видно из данных табл. 3, в России антибиотиками, которые с учетом локальных данных об антибиотикорезистентности могут быть эффективно использованы при лечении ИАИ, являются карбапенемы, цефалоспорины III поколения, в частности цефтазидим, и ципрофлоксацин.

Вторым наиболее значимым грамотрицательным аэробным возбудителем ИАИ является *P. mirabilis*. Как видно из данных табл. 4, этот микроорганизм остается чувствительным к тем же антимикробным препаратам, что и *E. coli* [5].

Таблица 2. Сравнительная активность антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях, вызванных *E. coli* [5]

Антибиотик	Диапазон чувствительности	МПК ₅₀	МПК ₉₀
Эртапенем	0,006–1	0,008	0,03
Имипенем	0,012–2	1	8
Пиперациллин/тазобактам	0,03–256	2	128
Цефепим	0,03–64	0,03	0,25
Цефтриаксон	0,03–128	0,06	0,25

Таблица 3. Чувствительность штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с нозокомиальными инфекциями в 28 отделениях реанимации и интенсивной терапии (Россия) [6]

Антибиотик	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Диапазон чувствительности	%, R
Амоксицилин/клавуланат	6	32	0,75–256	35,8
Пиперациллин	3	256	0,19–256	40,9
Пиперациллин/тазобактам	1,5	8	0,25–256	6,3
Цефотаксим	0,09	12	0,01–256	11,0
Цефтазидим	0,3	6	0,02–256	7,8
Имипенем	0,25	0,38	0,01–3	0
Гентамицин	1	64	0,25–256	20,9
Амикацин	2	3	0,5–256	2,2
Ципрофлоксацин	0,01	0,38	0,004–32	8,4

Из анаэробов, вызывающих развитие перитонита в ассоциации с *E. coli*, наиболее распространенным и этиологически важным является *B. fragilis*. В табл. 5 представлены основные антимикробные препараты, обладающие антианаэробной активностью.

Наиболее активными в отношении *B. fragilis* препаратами в настоящее время остаются метронидазол, ингибиторозащищенные пенициллины и карбапенемы [7]. Тем не менее и выбор антианаэробного препарата должен осуществляться с учетом антибиотикорезистентности.

Так, с 70-х годов традиционной терапией ИАИ была комбинация клиндамицина с аминогликозидами. Однако в настоящее время в некоторых странах, в частности в США, наблюдается очень высокая распространенность штаммов *B. fragilis*, резистентных к клиндамицину [7]. Более того, при применении

клиндамицина может развиваться такое тяжелое осложнение, как псевдомембранозный колит.

Эти обстоятельства, а также появление новых, более эффективных и безопасных антибиотиков обуславливают необоснованность и нецелесообразность использования комбинации клиндамицин + аминогликозиды при перитоните.

Другая группа анаэробов – *Clostridium* spp., которые также могут обнаруживаться как часть смешанной микрофлоры при перитоните. Они сохраняют высокую чувствительность к традиционным антианаэробным препаратам (табл. 6).

В качестве препаратов выбора для монотерапии пациентов с ИАИ могут быть использованы ингибиторозащищенные пенициллины, такие, как тикарциллин/клавуланат и пиперациллин/тазобактам, обладающие высокой активностью в отноше-

Таблица 4. Сравнительная активность антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях, вызванных *Proteus mirabilis* [5]

Антибиотик	Диапазон чувствительности	МПК ₅₀	МПК ₉₀
Эртапенем	<0,008–1	0,015	0,06
Имипенем	0,25–>16	1	8
Пиперациллин/тазобактам	0,03–256	0,25	1
Цефепим	0,006–64	0,03	0,25
Цефтриаксон	0,03–128	0,03	0,06

Таблица 5. Сравнительная активность антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях, вызванных *B. fragilis* [7]

Антибиотик	Диапазон чувствительности	МПК ₅₀	МПК ₉₀
Эртапенем	<0,06–8	0,125	1
Имипенем	<0,5–2	0,06	0,25
Пиперациллин/тазобактам	<0,06–16	0,125	1
Цефокситин	4–32	8	16
Цефтриаксон	0,5–>128	16	64
Клиндамицин	<0,06–>32	0,5	>32
Метронидазол	0,125–8	1	4

Таблица 6. Сравнительная активность антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях, вызванных *Clostridium perfringens* [7]

Антибиотик	Диапазон чувствительности	МПК ₅₀	МПК ₉₀
Эртапенем	<0,015–0,125	<0,015	0,06
Имипенем	<0,015–0,125	0,06	0,125
Пиперациллин/тазобактам	<0,06–0,5	<0,06	0,125
Цефокситин	0,25–2	0,5	1
Цефтриаксон	<0,06–2	<0,06	2
Клиндамицин	<0,06–4	0,25	2
Метронидазол	0,125–8	1	4

нии как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов, или карбапенемы (имипенем, меропенем).

Высокой эффективностью обладает также комбинация метронидазола с цефалоспоридами III поколения. Однако необходимо помнить, что чувствительность наиболее распространенных возбудителей ИАИ неодинакова в различных странах и даже отдельных стационарах. В связи с этим подход к терапии ИАИ может различаться.

Роль энтерококков в этиологии интраабдоминальных инфекций

В настоящее время известно 16 различных видов *Enterococcus* spp. Однако в подавляющем большинстве случаев выделяются и представляют наибольшую клиническую значимость *E. faecalis* и *E. faecium*. Энтерококки выделяются у 10–20% пациентов с внебольничными ИАИ.

Однако, как уже указывалось, роль энтерококков в качестве возбудителей ИАИ остается недостаточно ясной. В последние десятилетия для лечения этих пациентов широко использовались такие комбинации антибиотиков, как метронидазол + цефалоспорины III поколения и клиндамицин + аминогликозиды. Эти комбинации демонстрировали высокую эффективность лечения пациентов с перитонитом, в частности тех, у кого при

микробиологическом исследовании материала, взятого из брюшной полости, были выделены энтерококки.

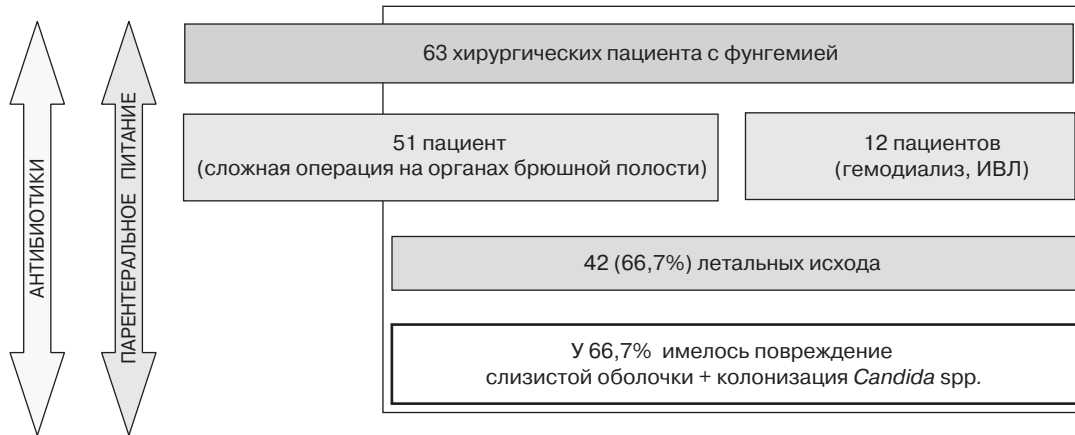
Однако хорошо известно, что ни цефалоспорины, ни клиндамицин, ни метронидазол не обладают активностью в отношении *Enterococcus* spp. Это, в свою очередь, позволяет предполагать, что энтерококки не играют значительной роли в развитии по крайней мере вторичного перитонита.

Тем не менее в последнее время появляется все больше сообщений о том, что этот микроорганизм становится все более значимым госпитальным патогеном, участвующим в развитии послеоперационного перитонита. Более того, указывается, что выделение энтерококков, особенно гемокультуры, у пациентов с осложненными ИАИ является независимым предиктором более тяжелого течения болезни и неблагоприятного ее исхода.

Одним из таких последних примеров может служить проспективное исследование A. Sitges-Serra и соавт., в которое были включены 200 пациентов с первым эпизодом ИАИ и положительными результатами культурального исследования. В ходе исследования частота выделения *Enterococcus* spp. оценивалась для каждого очага локализации инфекции. Послеоперационные инфекционные осложнения, вызванные энтерококками, были связаны как с

Таблица 7. Эффективность внутривенного введения флуконазола для профилактики послеоперационного интраабдоминального кандидоза у хирургических пациентов группы высокого риска, % [12]

Диагноз, показатель	Флуконазол (+), n = 23	Флуконазол (-), n = 20
Хирургическое заболевание:		
злокачественное новообразование	39	35
перфорация кишечника	61	50
Предшествующая колонизация <i>Candida</i> spp.	44	35
Кандидозный перитонит	4	35
Кандидозный сепсис	4	35
Общая летальность	30	50
Летальность, связанная с кандидозом	0	20



Послеоперационная кандидемия: факторы риска и исходы [11]

адекватной (пиперациллин/тазобактам), так и с неадекватной эмпирической антибактериальной терапией (цефотаксим+метронидазол).

По данным исследования, *Enterococcus* spp. были выделены у 42 (21%) пациентов. Частота обнаружения этого возбудителя составила 11% при внебольничном перитоните, 50% – при послеоперационном перитоните и 23% – при интраабдоминальных абсцессах у пациентов как с внебольничным, так и с послеоперационным перитонитом. Необходимо отметить, что энтерококки не были выделены ни у одного из 49 пациентов с перфоративным аппендицитом [8].

В этом же исследовании авторы провели множественный регрессионный анализ и выявили некоторые независимые факторы риска развития послеоперационных осложнений, связанных с энтерококками. К ним относятся: тип ИАИ – послеоперационный перитонит ($p=0,006$), тяжелое течение болезни – оценка по шкале APACHE >12 баллов ($p=0,04$), возраст старше 50 лет, неактивная в отношении энтерококков эмпирическая антибактериальная терапия ($p=0,05$) [8].

В связи с новыми фактами возникает вопрос о том, в каких случаях при лечении ИАИ следует назначать препараты, обладающие активностью в отношении энтерококков?

В первую очередь необходимо подчеркнуть, что эмпирически назначать антибиотики, активные против *Enterococcus* spp., не следует у пациентов с вторичным перитонитом, в частности при перфорации толстой кишки и перфоративном аппендиците. Считается, что эти препараты должны быть включены в стартовый режим антибактериальной терапии только у пациентов с послеоперационным перитонитом, а также у больных, имеющих несколько факторов риска развития послеоперационной инфекции, вызванной энтерококками.

В данных ситуациях следует использовать антимикробные препараты, активные в отношении этого микроорганизма: ампициллин (амоксциллин) либо пиперациллин, либо их комбинации с ингибиторами β -лактамаз.

Однако в некоторых странах, например в США, наблюдается тенденция к более частому обнаружению у пациентов с послеоперационным перитонитом *E. faecium*, который в сравнении с *E. faecalis* обладает более высокой устойчивостью к пенициллинам. У таких пациентов, отобранных по строгим показаниям, в качестве препарата выбора может использоваться ванкомицин.

Антимикотики в лечении интраабдоминальных инфекций

Одно из наиболее важных обстоятельств, связанных с лечением ИАИ, – возможность развития грибковых инфекций. В последнее время все чаще этиологически значимым патогеном, являющимся составной частью микробной ассоциации преимущественно у пациентов с послеоперационным и третичным перитонитом, становится *Candida* spp. Развитие интраабдоминального кандидоза у этой группы пациентов значительно увеличивает частоту неудовлетворительных результатов лечения и риск развития неблагоприятного исхода болезни.

Как правило, у пациентов с кандидозным перитонитом имеется один или более других локусов, колонизированных *Candida* spp. При этом в ряде случаев, особенно у пациентов с иммунодефицитными состояниями, развивается кандидемия с последующим формированием диссеминированного кандидоза [9].

Т. Calandra и соавт. провели исследование 49 хирургических пациентов, у которых из брюшной полости были выделены грибы рода *Candida*. Из них у 57% была спонтанная перфорация полого органа, у

41% – операция на органах брюшной полости, сопровождавшаяся вскрытием просвета полого органа.

Послеоперационный интраабдоминальный кандидоз был зарегистрирован у 19 (39%) пациентов, при этом у 7 развился абсцесс в брюшной полости, у 12 – кандидозный перитонит. При проведении только оперативного вмешательства без назначения адекватной противогрибковой терапии неудовлетворительные результаты получены в 16 (84%) из 19 случаев, из них 7 с летальным исходом, а в 9 остальных эффект достигнут только после комбинированного лечения, включавшего оперативное вмешательство и противогрибковую терапию [10].

Абсолютное показание к терапии системными антимикотиками пациентам с ИАИ – развитие в послеоперационный период кандидемии, подтвержденное при посеве крови. Так, J.S. Solomkin и соавт. исследовали 63 хирургических пациента, имевших хотя бы один эпизод фунгемии, из них у 51 (81%) она развилась в послеоперационный период как позднее осложнение ИАИ. Факторами риска развития фунгемии явились массивная антибактериальная терапия основного заболевания и парентеральное питание. При микробиологическом исследовании в 70% случаев выделена *Candida spp.*

У пациентов, не получавших противогрибковой терапии, летальность составила 83% (30 из 36 пациентов), а выживаемость – менее 1 дня.

В то же время у пациентов, лечившихся амфотерицином В, летальность составила всего 33,3% (5 из 15 пациентов).

При аутопсии у пациентов обеих групп наиболее часто встречающимися источниками фунгемии оказались интраабдоминальные абсцессы.

В целом из 63 пациентов умерли 42, летальность составила 66,7% (см. рисунок). У всех этих пациентов имелись повреждение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и колонизация *Candida spp.* [11].

В связи с этим противогрибковая терапия с использованием системных антимикотиков (флуконазол или амфотерицин В) должна быть неотъемлемой частью комплексной терапии ИАИ, особенно послеоперационного перитонита, при котором был хотя бы один эпизод фунгемии. Более того, противогрибковая терапия показана пациентам с клиническими признаками послеоперационного перитонита, у которых при посеве перитонеальной жидкости, другого материала из различных участков брюшной полости или крови выделяется *Candida spp.*

В то же время следует отметить целесообразность проведения у хирургических пациентов с ИАИ из группы высокого риска превентивной те-

рапии системными антимикотиками, в частности флуконазолом, с целью предотвращения развития интраабдоминального кандидоза.

Так, P. Eggimann и соавт. провели проспективное двойное слепое клиническое исследование 49 хирургических пациентов с рецидивирующей перфорацией органов брюшной полости и несостоятельностью анастомозов. Все пациенты были рандомизированы на 2 группы, одна из которых получала внутривенно флуконазол по 400 мг/сут до полного исчезновения симптомов основного хирургического заболевания, а другая – плацебо. Всем пациентам 3 раза в неделю проводилось микробиологическое исследование с целью обнаружения *Candida spp.* Основные результаты исследования представлены в табл. 7.

Из числа больных, у которых не установлена колонизация *Candida spp.* до поступления в стационар, этот патоген был выделен в ходе исследования у 15% в группе, получавшей флуконазол, а в контрольной группе – у 62%. Как видно из данных табл. 7, кандидозный перитонит развился у 1 (4%) из 23 пациентов и у 7 (35%) из 20 пациентов, получавших флуконазол и плацебо соответственно.

В целом кандидоз зарегистрирован у 2 из 23 пациентов, получавших флуконазол, и у 7 из 20 – получавших плацебо ($p=0,06$). Все штаммы *C. albicans*, выделенные от пациентов, были чувствительны к флуконазолу [12]. Препарат обладал хорошей переносимостью. Частота нежелательных лекарственных реакций оказалась сходной в обеих группах.

Данное исследование подтверждает эффективность внутривенного применения флуконазола для предотвращения как инвазивного кандидоза, так и колонизации *Candida spp.* у хирургических пациентов с ИАИ.

Заключение

Следует еще раз подчеркнуть, что антибактериальная терапия пациентов с ИАИ наряду с оперативным вмешательством является неотъемлемой частью лечения. Рациональный выбор антимикробных препаратов у таких пациентов нередко позволяет спасти им жизнь.

Так, В.А. Barnes и соавт. провели исследование, в котором проанализировали динамику эффективности лечения ИАИ на фоне крупных достижений медицины [13]. Открытие антибиотиков и использование их в лечении ИАИ – решающие факторы существенного снижения летальности при перфоративном аппендиците и аппендикулярном абсцессе, сравнимые с таковым при внедрении в практику техники переливания крови.

Литература

1. Fernandez J., Navasa M., Gomez J., et al. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology* 2002; 35:140-8.
2. Solomkin J.S. Antibiotic resistance in postoperative infections. *Crit Care Med* 2001; 29:97-9.
3. Mosdell D.M., Morris D.M., Voltura A., Pitcher D.E., et al. Antibiotic treatment for surgical peritonitis. *Ann Surg* 1991; 214:550-2.
4. Montravers P., Gauzit R., Muller C., et al. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in cases of peritonitis after intraabdominal surgery affects the efficacy of empirical antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* 1996; 23:486-94.
5. Livermore D.M., Carter M.W., Bagel S., et al. *In vitro* activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:1860-7.
6. Stratchounski L., Reshedko G., Stetsiouk O., Kretchikova O., Riabkova E. Results of Russian Country-Wide Surveillance of Antimicrobial Resistance of Nosocomial Gram-Negative Bacteria from 28 Intensive Care Units. Proceedings of the 41th ICAAC, Chicago, USA, 2001. p. 113.
7. Goldstein E.J., Citron D.M., Vreni Merriam C., et al. Comparative *in vitro* activities of ertapenem (MK-0826) against 1,001 anaerobes isolated from human intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:2389-94.
8. Sitges-Serra A., Lopez M.J., Girvent M., et al. Postoperative enterococcal infection after treatment of complicated intra-abdominal sepsis. *Br J Surg* 2002; 89:361-7.
9. Solomkin J.S., Flohr A.B., Quie P.G., Simmons R.L. The role of *Candida* in intraperitoneal infections. *Surgery* 1980; 88:524-30.
10. Calandra T., Bille J., Schneider R., et al. Clinical significance of *Candida* isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet* 1989; 8677:1437-40.
11. Solomkin J.S., Flohr A.B., Simmons R.L. Indications for therapy for fungemia in postoperative patients. *Arch Surg* 1982; 117:1272-5.
12. Eggimann P., Francioli P., Bille J., et al. Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high-risk surgical patients. *Crit Care Med* 1999; 27:1066-72.
13. Barnes B.A., Behringer G.E., Wheelock F.C., Wilkins E.W. Do antibiotics help? Mortality from perforated or abscessed appendicitis. *Ann Surg* 1961; 154:585-98.

УДК 615.33.035

Индивидуализация применения антибиотиков в отделениях реанимации и интенсивной терапии (Лекция)*

Т. Маццеи

Отделение доклинической и клинической фармакологии, Университет Флоренции, Италия

Individualization of Usage of Antimicrobials in Intensive Care Units (Lecture)*

T. Mazzei

Department of Preclinical and Clinical Pharmacology, University of Florence, Italy

Антибактериальная терапия пациентов, находящихся в *отделениях реанимации и интенсивной терапии* (ОРИТ), представляет сложную проблему. Это связано с тем, что от адекватности выбора антибиотиков при инфекциях в ОРИТ нередко зависит жизнь пациента. Убедительно показано, что неверный выбор антибактериального препарата ухудшает исход болезни и является наиболее значимым независимым фактором риска летального исхода у этих пациентов [1].

Однако у пациентов в ОРИТ адекватность выбора антибиотиков определяется не только *in vitro* чувствительностью к ним микроорганизма, вызвавшего инфекцию, но и во многом зависит от соотношения *фармакокинетических* (ФК) и *фармакодинамических* (ФД) параметров (рис. 1).

Фармакокинетика антимикробных препаратов, как и любых других лекарственных средств, складывается из таких процессов, как абсорбция, метаболизм, распределение в биологических жидкостях и тканях, выведение из организма. ФД параметры отражают зависимость между концентрацией антибиотика в плазме или тканях и его антимикробным эффектом.

Активность антибиотика определяется такими показателями, как *минимальная подавляющая концентрация* (МПК), *минимальная бактерицидная*

концентрация (МБК), а также скорость бактерицидного эффекта.

Антибиотики, достигающие высокой концентрации в тканях и сыворотке крови, обычно дают высокую эффективность. Однако даже при относительно невысокой концентрации некоторые классы антимикробных препаратов проявляют антимикробное действие, обеспечивающее достаточную эффективность. Это, в частности, связано с такими феноменами, как *постантибиотический эффект* (ПАБЭ), ПАБЭ субингибирующей концентрации препарата, а также ПАБЭ, потенцированный (индуцированный) иммунной системой.

Согласно современным представлениям, все антибиотики можно разделить на *две* основные группы:

- 1) концентрационно-зависимые;
- 2) времязависимые [2].

К *первой* группе, например, относятся аминогликозиды и фторхинолоны.

В *второй* группе включает почти все β -лактамы антибиотиков, активность которых лишь до определенного уровня зависит от концентрации, достигаемой в сыворотке крови.

Эффективность препаратов второй группы определяется главным образом временем, в течение которого концентрация антибиотика превышает его МПК для определенного возбудителя. В то же

* Прочитана на V Международной конференции МАКМАХ «Антимикробная терапия» 4–6 июня 2002 г., Москва.
Presented on V IASMAC International conference «Antimicrobial therapy» 4–6 June 2002, Moscow.

время для препаратов первой группы бактерицидный эффект прямо пропорционален их концентрации, что нехарактерно для времязависимых антибиотиков.

В последние годы широко проводятся исследования, в которых на моделях инфекции *in vitro* и *in vivo* изучаются различные режимы дозирования антибиотиков. Их цель – установить, какие соотношения ФК и ФД показателей могут оказаться полезными для прогнозирования антимикробной активности различных классов препаратов.

В экспериментах на *in vitro* моделях инфекции установлено, что соотношение *время больше (выше)* МПК (время > МПК) является основным параметром, определяющим эффективность времязависимых антибиотиков, таких, как β -лактамы, гликопептиды и эритромицин.

В то же время такие ФК/ФД соотношения, как $C_{max}/MПК$, *площадь под фармакокинетической кривой*/МПК (ПФК/МПК), представляют наиболее важные параметры, позволяющие определить эффективность концентрационно-зависимых препаратов, к которым, в частности, относятся хинупристин/дальфопристин, новые препараты из группы кетолидов, полусинтетические макролиды, (klarитромицин, азитромицин).

Более того, в нескольких клинических исследованиях продемонстрировано, что ФК/ФД параметры являются важными прогностическими показателями (предикторами) исхода болезни – достижения эрадикации возбудителя или клинического выздоровления [2].

Не менее важно, что ФК/ФД параметры позволяют прогнозировать селекцию резистентности бактерий и находить пути к ее предотвращению. Последнее, в свою очередь, является одним из ос-

новных факторов, требующих внимания к пациентам, находящимся в ОРИТ.

В настоящее время нет идеального препарата для лечения тяжелых инфекций у пациентов, находящихся в ОРИТ. Среди антибиотиков, которые могут быть использованы в качестве первой линии антимикробной терапии у этой категории пациентов, предпочтение следует отдавать β -лактамам: карбапенемам, цефалоспорином III и IV поколений, комбинациям уреидопенициллинов с ингибиторами β -лактамаз. Для достижения максимальной эффективности и/или расширения спектра действия их можно сочетать с аминогликозидами, гликопептидами или фторхинолонами.

Концентрационно-зависимые препараты

Для выбора препаратов, обладающих максимальной эффективностью, важно учитывать их ФК/ФД профили.

Одним из первых исследований, продемонстрировавших влияние ФК/ФД параметров антибиотиков на их клиническую эффективность, стала опубликованная в 1987 г. оценка связи между значением отношения $C_{max}/MПК$ и частотой клинической эффективности терапии у 236 пациентов (с инфекцией, вызванной грамотрицательными микроорганизмами), лечившихся различными аминогликозидами (гентамицином, тобрамицином, амикацином) [3].

Согласно полученным результатам, наибольшие возможности для получения удовлетворительного клинического ответа на терапию создаются при достижении соотношения $C_{max}/MПК$ более 8 для любого из перечисленных аминогликозидов. Поэтому для достижения максимального соотношения $C_{max}/MПК$ аминогликозиды лучше назначать один раз в сутки.

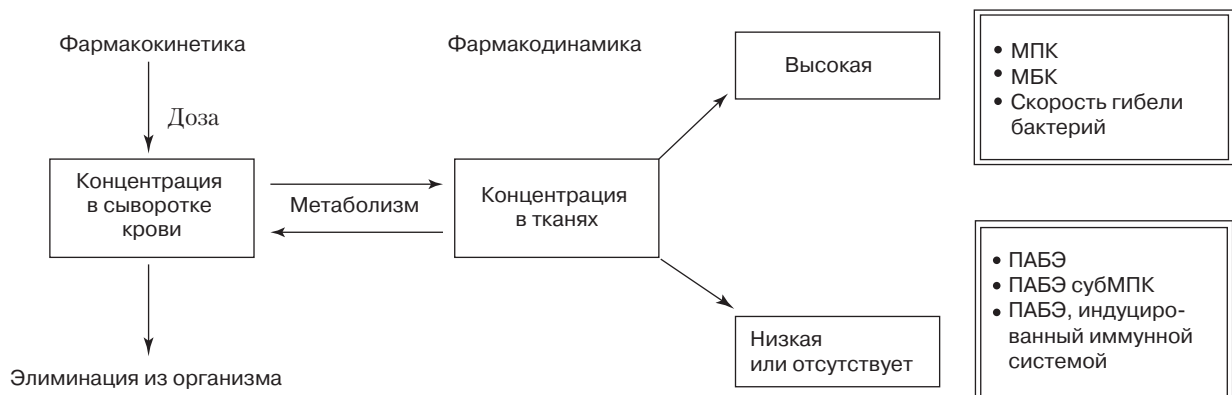


Рис. 1. Основные ФК/ФД параметры антибиотиков

В другом клиническом исследовании оценивалась зависимость между ПФК₂₄/МПК (ПФКИ – площадь под фармакокинетической кривой ингибирования) ципрофлоксацина и частотой эрадикации возбудителя у 74 пациентов с инфекциями дыхательных путей в ОРИТ. Наиболее высокая частота эрадикации возбудителя наблюдалась в том случае, если при лечении ципрофлоксацином удавалось достичь значения ПФК₂₄/МПК более 125. В противном случае вероятность микробиологического выздоровления составляла не более 30% [4].

Времязависимые препараты

В отношении времязависимых препаратов, к которым относятся β -лактамы, остается нерешенным вопрос о том, какой режим дозирования позволяет достичь максимальной эффективности: введение равных доз через короткие интервалы или постоянная инфузия. В целом это зависит от особенностей выбранного для лечения препарата.

Так, например, в нашем предыдущем исследовании наиболее эффективным режимом терапии цефтазидимом 8 пациентов с инфекцией в ОРИТ, позволявшим достичь максимально высоких значений время > МПК, явилось введение в начале лечения нагрузочной дозы (1 г) с последующей длительной внутривенной инфузией 3 г препарата (общая суточная доза – 4 г) и длительной внутривенной инфузией 4 г препарата в последующие дни. Такой способ введения обеспечивает сохраняющиеся на протяжении всего курса терапии оптимальную концентрацию цефтазидима в сыворотке крови и высокое значение ПФК данного антибиотика.

Так, например, соотношение ПФК₂₄/МПК цефтазидима для *P. aeruginosa* в 1-й день терапии, когда используется нагрузочная доза, составляет 112,8 мг/(л × ч). В то же время значение этого параметра снижается на 2-й и 3-й дни терапии, в связи с чем при лечении инфекций, вызванных этим возбудителем, целесообразно назначать цефтазидим в комбинации с аминогликозидом.

По нашим данным, лучшим аминогликозидом для этой цели является амикацин. Цефтазидим также можно сочетать с фторхинолонами – ципрофлоксацином и левофлоксацином.

Карбапенемы

Как правило, карбапенемы, к которым относятся имипенем и меропенем, описываются как времязависимые препараты. Однако при сравнении параметров, определяющих бактерицидную активность в отношении *P. aeruginosa*, обнаруживается выраженная зависимость эффекта от концентрации [5]. Для карбапенемов, как и для тикарциллина, характерно усиление антимикробной активности по мере увеличения концентрации препарата *in vitro*.

Оба препарата из группы карбапенемов обладают достаточно высоким ПАБЭ в отношении некоторых наиболее распространенных грамотрицательных возбудителей инфекций в ОРИТ: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* [6–10].

В целом как для имипенема, так и для меропенема важным ФК/ФД соотношением, позволяющим оценить антимикробную активность по меньшей мере на животных моделях, является процент времени от длительности интервала дозирования, в течение которого концентрация препарата превышает его МПК для конкретного возбудителя.

Так, в экспериментах на модели инфекции мягких тканей у мышей максимальная бактерицидная активность имипенема достигалась в том случае, если время выше МПК составляло не менее 30–40% от длительности интервала дозирования [11].

ФК характеристики обоих карбапенемов обычно описываются как очень сходные. Как видно из данных табл. 1, период полувыведения имипенема и меропенема составляет около 1 ч. Оба препарата имеют достаточно большой объем распределения и очень сходную долю почечной экскреции.

Тем не менее недавно были опубликованы результаты как минимум 3 сравнительных исследований на здоровых добровольцах, в которых проде-

Таблица 1. Фармакокинетические параметры имипенема и меропенема после однократной инфузии 1 г препарата здоровым добровольцам [11–13]

Параметр	Имипенем	Меропенем
C _{max} , мг/л	61–70	52–62
ПФК, мг/(л × ч)	94–96	70–77
Объем распределения, л	14–15	18–19
Период полувыведения, ч	1	1
Плазменный клиренс, мл/мин	175–183	208–240
Почечный клиренс, мл/мин	85–134	144–199
Доля препарата, экскретируемого с мочой, %	46–75	59–79

Таблица 2. Сравнительная характеристика фармакокинетических параметров имипенема и меропенема, $\bar{x} \pm m_x$

Параметр	Имипенем (n=9)	Меропенем (n=8)	p
C_{\max} , мг/л	95,8±50,5	46,6±14,7	<0,01
$T_{1/2}$, ч	2,0±0,3	2,1±0,6	Не значимый
ПФК $_{0 \rightarrow \infty}$, мг/(л × ч)	226,4±85,3	99,5±23,9	<0,01
Объем распределения, л	16,4±3,6	25,0±4,1	<0,01
Общий клиренс, мл/мин	105,6±26,6	191±52,2	<0,01

монстрированы некоторые преимущества имипенема по сравнению с меропенемом [12–14]. Например, при использовании имипенема достигалась более высокая концентрация препарата в сыворотке крови. Более того, значение ПФК имипенема составило 94–96 мг/(л × ч), тогда как ПФК меропенема оказалась равной 70–77 мг/(л × ч). Для меропенема оказались более высокими плазменный и почечный клиренсы (табл. 1).

Так, в одном из этих исследований, в котором участвовали 12 здоровых добровольцев, у имипенема выявлены более высокие, чем у меропенема, показатели ПФК: 96,1±14,4 мг/(л × ч) против 70,5±10,3 мг/(л × ч) [13].

В связи с выявленными различиями ФК/ФД профилей имипенема и меропенема нами проведено сравнительное клиническое исследование различий ФК параметров обоих карбапенемов. В его ходе оценивалась концентрация, развивавшаяся в сыворотке крови и моче после однократного введения в виде 20-минутной внутривенной инфузии 1 г каждого антибиотика.

В исследование были включены 19 госпитализированных в ОРИТ пациентов старше 18 лет. Первая группа (n=9) получала имипенем, вторая (n=10) – меропенем. Все пациенты были сгруппированы по полу, возрасту и характеру

патологии и оценены по шкалам SAPS II и SOFA. По возрасту, массе тела, уровням в крови креатинина и общего белка, оценкам по шкалам SAPS II и SOFA больные обеих групп существенно не отличались.

Образцы мочи и венозной крови собирали в течение первых 8 ч после введения антибиотика. Сразу после получения пробы крови ее центрифугировали, сыворотку замораживали в жидком азоте и хранили при температуре минус 80°C до проведения исследования.

Концентрацию антибиотиков в сыворотке крови и моче исследовали трехкратно микробиологическим методом путем разведения в агаре. Для определения активности имипенема использовали агар ВНИ (Difco) и штамм *Bacillus subtilis* ATCC 6633, меропенема – Nutrient Agar (Difco) и штамм *Escherichia coli* NHIJ.

ФК параметры рассчитывали с использованием компьютерной программы Syphar 4.0 (SIMED). Для статистического анализа применяли метод наименьшей квадратической регрессии и открытую двухстороннюю математическую модель.

По полученным данным, средняя концентрация имипенема, развивавшаяся в сыворотке крови после внутривенной инфузии 1 г препарата, значительно превышала таковую у меропенема (рис. 2).

Выявлены статистически значимые различия между основными ФК параметрами обоих антибиотиков, такими, как максимальная концентрация препарата в сыворотке крови (C_{\max}) и ПФК. При этом имипенем, как видно из данных табл. 2, имел более высокий, чем у меропенема, ФК/ФД профиль: C_{\max} составила 95,8±50,5 для имипенема и 46,6±14,7 – для меропенема (p<0,01), ПФК $_{0 \rightarrow \infty}$ – 226,4±85,3 и 99,5±23,9 мг/(л × ч) для имипенема и меропенема соответственно (p<0,01). Периоды полувыведения ($T_{1/2}$) обоих антибиотиков оказались сходными.

В другом исследовании, проведенном М. Palazzo и соавт. (служба реанимации и интенсивной терапии, госпиталь «Чэринг Кросс», Лондон, Великобритания; неопубликованные данные), оценивалась концентрация меропенема, развивавшаяся в сыворотке крови после внутривенного введения у паци-

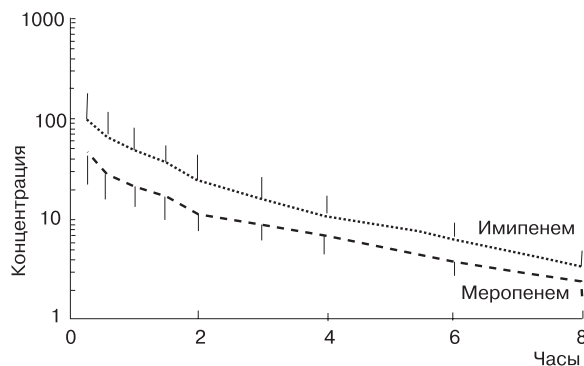


Рис. 2. Средняя концентрация имипенема и меропенема в сыворотке крови после внутривенной инфузии (1 г) у пациентов в ОРИТ, мг/л

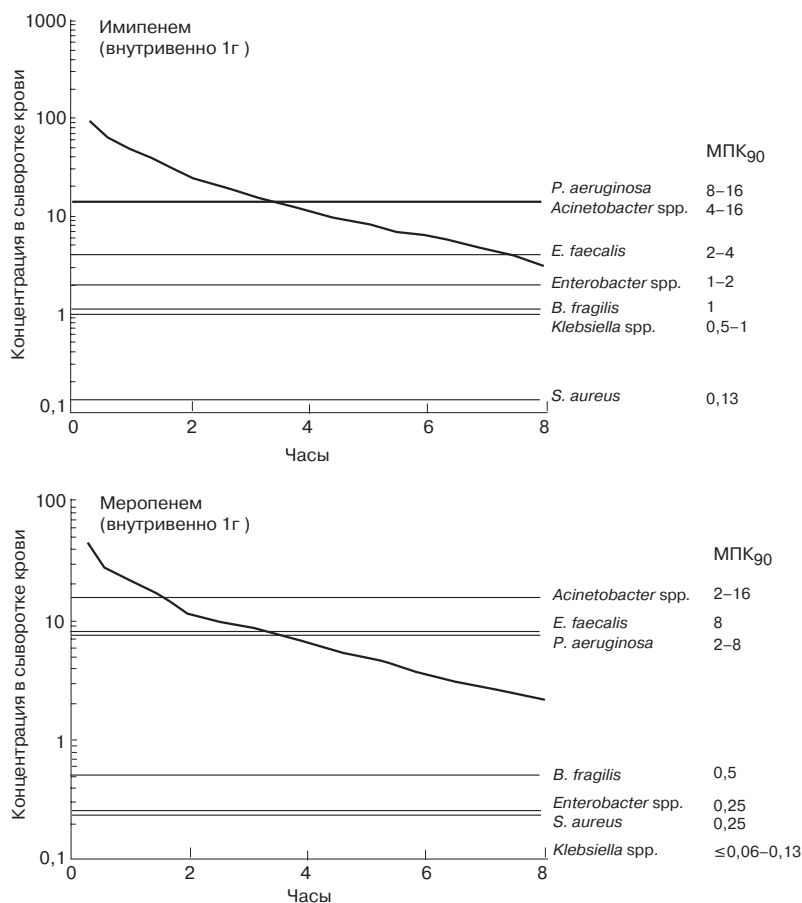


Рис. 3. Сравнительная характеристика соотношения $C_{max}/MПК$ для различных возбудителей у меропенема и имипенема, мг/л

ентов, госпитализированных в ОРИТ. Использовались 2 различных режима терапии:

- 1) болюсное введение препарата в дозе 1 г 3 раза в сутки ($n = 6$);
- 2) введение нагрузочной дозы (1 г) с последующей постоянной инфузией 3 г препарата в течение 24 ч ($n = 8$).

Необходимо отметить, что сывороточная концентрация меропенема, достигавшаяся у пациентов в обеих группах, оказались значительно ниже, чем у имипенема, зарегистрированная в описанном исследовании. При этом ФК преимущества имипенема наблюдались при его сравнении как с первым, так и со вторым режимом введения меропенема.

Одно из наиболее вероятных объяснений различий ФК профилей карбапенемов в сыворотке крови – неодинаковая степень их проникновения в ткани и жидкости организма. Однако, согласно результатам нескольких исследований, имипенем и меропенем обладают очень сходной степенью проникновения в ткани [15]. Другими возможными причинами различий ФК профилей карбапенемов могут быть разные величины таких показателей, как общий и почечный

клиренсы препаратов, объем распределения и, вероятно, особенности тканевого метаболизма каждого.

Важные различия в характеристиках имипенема и меропенема могут быть выявлены при сравнении концентраций, развивающихся в сыворотке крови при внутривенном введении каждого препарата, с теоретическими МПК₉₀ для различных возбудителей, являющихся наиболее частыми причинами инфекций у пациентов в ОРИТ.

Так, по данным нашего исследования, при внутривенном введении 1 г имипенема в сыворотке крови достигается концентрация, превышающая 8 мг/л и являющаяся бактерицидной в отношении большинства возбудителей, имеющих МПК₉₀ ниже этого значения (рис. 3).

К таким патогенам относятся *S. aureus*, *Klebsiella* spp., *Bacteroides fragilis*, *Enterobacter* spp., *Enterococcus faecalis*, некоторые штаммы *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*.

В противоположность имипенему сывороточная концентрация, развивающаяся при использовании меропенема, эффективна только в отношении возбудителей, имеющих

МПК данного препарата не более 4 мг/л (рис. 3). Этим объясняется более низкая активность меропенема в отношении большинства штаммов *P. aeruginosa*, *E. faecalis* и *Acinetobacter* spp.

Для того чтобы судить о преимуществах какого-либо карбапенема, необходимо сравнить их клиническую эффективность. Так, например, суммарные результаты нескольких рандомизированных открытых сравнительных клинических исследований эффективности имипенема и меропенема, использовавшихся в качестве эмпирической терапии пациентов с тяжелыми инфекциями ($n = 561$), продемонстрировали сходную частоту эрадикации возбудителя, составившую 67–94% для меропенема и 60–88% – для имипенема.

Не выявлено и существенных различий в частоте удовлетворительных клинических ответов на терапию, составившей 76–88 и 68–85% для меропенема и имипенема соответственно [16–18].

Заключение

Выбор оптимального антибиотика для лечения инфекций у пациентов в ОРИТ не может ограничиваться отдельными разработанными схе-

мами и является динамичным процессом. В первую очередь следует ориентироваться на ФК/ФД характеристики применяемых препаратов. Кроме того, необходимо учитывать данные мониторинга спектра возбудителей, наиболее распространенных в данном стационаре и ОРИТ, и их резистентности к антимикробным препаратам.

Исходя из современных представлений о фармакокинетике и фармакодинамике антибиотиков, можно сделать следующие выводы, касающиеся применения отдельных препаратов у пациентов с инфекцией в ОРИТ:

1) для достижения максимального значения C_{max} /МПК аминогликозиды должны назначаться 1 раз в сутки;

2) для поддержания стабильной сывороточной концентрации β -лактамовых антибиотиков, превышающих МПК для отдельных возбудителей, их

следует вводить через короткие интервалы времени или постоянно внутривенно;

3) на основании приведенных ФК характеристик карбапенемов наиболее эффективные значения время > МПК ($\geq 50\%$) достигаются при использовании имипенема в дозе 1 г 3 раза в сутки в отношении возбудителей, имеющих МПК ≤ 8 мг/л, и меропенема в отношении возбудителей, имеющих МПК ≤ 4 мг/л; только при лечении тяжелых инфекций, вызванных *P. aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. наиболее предпочтительными могут оказаться сокращение интервала дозирования и увеличение дозы вводимого препарата до 1 г каждые 6 ч;

4) особенности ФК/ФД профилей позволяют объяснить сходную клиническую эффективность обоих карбапенемов, несмотря на различия между ними в *in vitro* активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Литература

- Kollef M.N., Sherman G., Ward S., Fraser V.J. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999; 115:462-74.
- Craig W.A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1-10.
- Moore R.D., Lietman P.S., Smith C.R. Clinical response to aminoglycoside therapy: importance of the ratio of peak concentration to minimal inhibitory concentration. *J Infect Dis* 1987; 155:93-9.
- Forrest A., Nix D.E., Ballou C.H., Goss T.F., Birmingham M.C., Schentag J.J. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1073-81.
- Ferrara A., Grassi G., Grassi F.A., Piccioni P.D., Gialdroni Grassi G. Bactericidal activity of meropenem and interactions with other antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1989; 24 (Suppl. A):239-50.
- Martinez F.F., Caminero M.M., Izquierdo J.I., Gomez-Lus Centelles M.L., Prieto J.P. Postantibiotic sub-MIC effect of meropenem on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Chemother* 1995; 7 (Suppl. 4):12-4.
- Nadler H.L., Pitkin D.H., Sheikh W. The postantibiotic effect of meropenem and imipenem on selected bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1989; 24 (Suppl. A): 225-31.
- Majcherczyk P.A., Livermore D.M. Penicillin-binding protein (PBP) 2 and the post-antibiotic effect of carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26:593-4.
- Maggiolo F., Taras A., Frontespezi S., Legnani M.C., Silanos M.A., Pravettoni G., Suter F. Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa* in an *in vitro* dynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:1416-8.
- Bowker K.E., Holt H.A., Reeves D.S., MacGowan A.P. Bactericidal activity, post antibiotic effect and modified controlled effective regrowth time of meropenem at high concentrations. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38:1055-60.
- Mouton J.W., Touzw D.J., Horrevorts A.M., Vinks A.A. Comparative pharmacokinetics of carbapenems: clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 2000; 39:185-201.
- Nilsson-Ehle I., Hutchison M., Haworth S.J., Norrby S.R. Pharmacokinetics of meropenem compared to imipenem-cilastatin in young, healthy males. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10:85-8.
- Dreetz M., Hamacher J., Eller J., Borner K., Koeppel P., Schaberg T., Lode H. Serum bactericidal activities and comparative pharmacokinetics of meropenem and imipenem-cilastatin. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:105-9.
- Norrby S. Carbapenems. *Med Clin North Am* 1995; 79:745-59.
- Wise R., Logan M., Cooper M., Ashby J.P., Andrews J.M. Meropenem pharmacokinetics and penetration into an inflammatory exudate. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34:1515-7.
- Colardyn F., Faulkner K.L. Intravenous meropenem versus imipenem/cilastatin in the treatment of serious bacterial infections in hospitalized patients. Meropenem Serious Infection Study Group. 1996; 38:523-37.
- Garau J., Blanquer J., Cobo L., et al. Prospective, randomized, multicentre study of meropenem versus imipenem/cilastatin as empiric monotherapy in severe nosocomial infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16:789-96.
- Verwaest C., Belgian Multicenter Study Group. Meropenem versus imipenem/cilastatin as empirical monotherapy for serious bacterial infections in the intensive care units. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 6:294-302.

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. Три 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.: АНСР282942008. 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).