

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

Учредитель:

Межрегиональная ассоциация
по клинической микробиологии
и антимикробной химиотерапии

Издатель:

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

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

Подписные индексы:

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

Адрес для корреспонденции:

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

Адрес электронной почты:
smac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
www.antibiotic.ru/smac
www.m-vesti.ru

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

Присланные в редакцию статьи проходят
рецензирование

Мнение редакции может не совпадать
с точкой зрения авторов публикуемых
материалов

Ответственность за достоверность
рекламных публикаций несут
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал
обязательна

Содержание

Рекомендации

Д. Л. Хвостов, В. В. Привольнев — Профилактика инфекционных
осложнений в травматологии и ортопедии. 168

Н. Н. Дехнич, Н. В. Захарова, М. И. Кузьмин-Крутецкий,
Т. Л. Лапина, С. С. Пирогов, О. А. Саблин, А. А. Самсонов,
В. И. Симаненков — Резолюция экспертного совещания
«Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*.
От простого к сложному» 176

Р. С. Козлов, Н. В. Иванчик, Н. Н. Дехнич — Рекомендации
по выделению, идентификации и определению чувствительности
Helicobacter pylori к антимикробным препаратам. 181

Болезни и возбудители

А. А. Биркун — Введение антибиотиков в дыхательные пути:
способы повышения эффективности при лечении
госпитальной пневмонии 185

В. С. Шилова, Т. Н. Рыбалкина, Т. А. Семенов, Н. В. Каражас,
Р. Е. Бошняк, С. О. Навольнев, С. Н. Кузин, А. М. Шибанов — Вирусный гепатит Е у лиц
со вторичными иммунодефицитами. 195

Антимикробные препараты

Н. Н. Смолянкин, А. И. Грекова, Л. П. Жаркова — Эффективность
азитромицина и цефиксима в терапии острых кишечных инфекций
с инвазивным типом диареи у детей 202

И. А. Эйдельштейн, Р. С. Козлов, А. Н. Чагарян — Чувствительность
клинических штаммов *Streptococcus pyogenes* к антисептическому
препарату гексэтидину и антимикробным препаратам
для системного применения. 212

В. В. Привольнев, Н. В. Даниленков — Мёд в лечении
инфицированных ран. 219

Опыт работы

Н. И. Колкова, О. И. Роздина, Е. А. Королева, Е. Д. Федина,
Л. А. Шабалина, Е. Ю. Моргунова, Н. А. Зигангирова — Разработка
модели хламидийного артрита на крысах 229

О. В. Орлова, В. А. Орлов, С. Н. Кочетков, С. Н. Белжеларская — Компьютерные модели
пространственной структуры мутантных белков оболочки
вируса гепатита С, влияющих на формирование
вирусных частиц 238

Информация

Список конференций 244

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

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

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

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

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

Peer reviewed

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

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

All rights reserved

Proper citation is required

Contents

Guidelines

- D.L. Khvostov, V.V. Privolnev* — Prophylaxis of Infections in Trauma and Orthopedic Patients 168
- N.N. Dekhnich, N. V. Zakharova, M. I. Kuzmin-Krutetcki, T. L. Lapina, S. S. Pirogov, O. A. Sablin, A. A. Samsonov, V. I. Simanenkov* — The Summary of Expert Meeting «Managing Patients with *Helicobacter pylori* Infection: From Simple to Complex» 176
- R.S. Kozlov, N.V. Ivanchik, N.N. Dekhnich* — Guidelines for the Isolation, Identification and Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori* 181

Diseases and Pathogens

- A.A. Birkun* — Administration of Antimicrobials into Respiratory Tract: Methods to Improve Efficacy in the Treatment of Hospital-Acquired Pneumonia 185
- V. S. Shilova, T. N. Rybalkina, T. A. Semenenko, N. V. Karazhas, R. E. Boshyan, S. O. Navolnev, S. N. Kuzin, A. M. Shibanov* — Viral Hepatitis E in Patients with Secondary Immunodeficiency 195

Antimicrobials

- N.N. Smolyankin, A.I. Grekova, L.P. Zharkova* — Comparative Efficacy of Azithromycin and Cefixime in the Treatment of Acute Infectious Invasive Diarrhea in Children 202
- I. A. Edelstein, R. S. Kozlov, A. N. Tchagaryan* — Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* Clinical Strains to Hexetidine and to Systemic Antimicrobials 212
- V. V. Privolnev, N. V. Danilenkov* — Honey in the Treatment of Infected Wounds 219

Personal Experience

- N.I. Kolkova, O.I. Rozdina, E.A. Korolyova, E.D. Fedina, L.A. Shabalina, E.Yu. Morgunova, N.A. Zigangirova* — Development of Chlamydial Arthritis Model in Rats 229
- O.V. Orlova, V.A. Orlov, S.N. Kochetkov, S.N. Beljelarskaya* — Computer Models of Spatial Pattern of Mutant HCV Envelope Proteins Involving in Viral Particles Formation 238

Information

- List of Conferences 244

Главный редактор:
А.И. Синопальников Москва

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

Исполнительный директор:
Г.Г. Пискунов Москва

Production Manager:
G.G. Piskunov Moscow

Зам. главного редактора:
А.В. Дехнич Смоленск

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

Ответственный секретарь:
А.В. Веселов Смоленск

Editorial Manager:
A.V. Veselov Smolensk

Редакционная коллегия:

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

Editorial Board:

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

Международный редакционный совет:

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

International Advisory Board:

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

Редактор номера:
С.М. Кузнецова Москва

Editor of Issue:
S.M. Kuznetsova Moscow

Профилактика инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии

Д. Л. Хвостов¹, В. В. Привольнев²

¹ Смоленская областная клиническая больница, Смоленск, Россия

² ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

Публикация содержит обзор рекомендаций по антибиотикопрофилактике в травматологии и ортопедии. Современная ортопедия включает использование разнообразных внутрикостных и внешних металлических конструкций, замену целых сегментов конечности и суставов и предполагает использование пациентом крупных имплантов в течение многих лет жизни. Всё это изменило характер послеоперационных инфекционных осложнений и повлекло за собой пересмотр рекомендаций по антибиотикопро-

филактике. Рост числа поздних инфекционных осложнений, изменение микробной этиологии инфекций области хирургического вмешательства, необходимость удаления или замещения металлических конструкций, значительная хирургическая агрессия при повторных вмешательствах связанная с этим, внесли существенные изменения в стратегию антибиотикопрофилактики в травматологии и ортопедии.

Ключевые слова: антибиотикопрофилактика, травматология, ортопедия, имплант.

Prophylaxis of Infections in Trauma and Orthopedic Patients

D. L. Khvostov¹, V. V. Privolnev²

¹ Smolensk Regional Clinical Hospital, Smolensk, Russia

² Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

The paper provides an overview of the current guidelines on antimicrobial prophylaxis in trauma and orthopedic patients. During last decades orthopedic involves the use of various implants for prolonged time. It changed the etiology of postoperative infectious complications and resulted in a revision of the guidelines for antimicrobial prophylaxis. The increase in the number of late infectious complications, changing the microbial etiology of surgi-

cal site infections, the need to remove or replace metal structures, considerable surgical aggression in repeated interventions associated with it, have made significant changes in the strategy of antibiotic prophylaxis in traumatology and orthopedics.

Key words: antimicrobial prophylaxis, trauma, orthopedics, implant.

Введение

В общехирургической практике *периоперационная антибиотикопрофилактика* (ПАП) показана только при выполнении условно чистых и условно грязных хирургических вмешательств. В то же

время в травматологии и ортопедии соблюдение лишь правил асептики недостаточно для защиты области хирургического вмешательства от инфекции не только при открытых переломах, но и после чистых плановых операций, таких как остеосинтез или эндопротезирование [1].

Особенностью многих хирургических вмешательств в травматологии и ортопедии является имплантация инородных тел: эндопротезов, пла-

Контактный адрес:

Денис Леонидович Хвостов

Эл. почта: deniskhvostov@gmail.com

стин, штифтов и других материалов. Впервые потенцирующее влияние инородных материалов на развитие инфекционных осложнений было описано S. Elek и P. Conen [2]. Они доказали, что наличие имплантатов приводит к повышению риска развития абсцесса в 10 тыс. раз. W. Zimmerli и соавт. подтвердили эти выводы в опытах на животных, объясняя этот феномен локальной недостаточностью гранулоцитов [3, 4]. Поверхность имплантатов (металл, полиэтилен, костный цемент) сама по себе приводит к появлению иммунной реакции на чужеродный материал [5]. Развивающаяся вокруг имплантата зона воспаления приводит к повышенной восприимчивости к инфекции за счет того, что на инертной поверхности имплантата микроорганизмы приобретают способность комплексной колонизации с образованием полисахаридного матрикса — так называемой биопленки. В свою очередь биопленка ингибирует фагоцитоз и значительно снижает эффективность антибиотиков [6]. Если микроорганизмы достигнут поверхности имплантата, то большинство из них сможет адгезироваться [7]. Адгезия микроорганизма зависит от свойств самой бактерии и физико-химических свойств поверхности имплантата (электромагнитная полярность, гладкая или шершавая поверхность).

Другой особенностью оперативной ортопедии с применением имплантатов является отсроченная манифестация инфекции в области хирургического вмешательства (ИОХВ), — месяцы и даже годы. Патогенез ранних ИОХВ (к ранним относят те случаи, которые диагностированы в течение первых 3 мес после хирургического вмешательства) хорошо изучен, в отличие от поздних ИОХВ (диагностированных позже 3-месячного срока). В большинстве случаев возбудителем ранних ИОХВ является эндогенная микрофлора, однако не стоит обходить вниманием и такие потенциальные причины ИОХВ, как контаминированные инструменты, попадание возбудителей с кожи и слизистых оболочек пациента и от персонала операционной. Одной из причин ИОХВ может быть бактериемия, однако на практике истинно гематогенные причины ИОХВ регистрируются чрезвычайно редко [8]. В настоящее время не установлено как долго поверхность имплантата непосредственно контактирует с циркулирующей кровью и как следствие является мишенью колонизации при бактериемии. Отсутствие ответа на этот вопрос во многом затрудняет исследование патогенеза поздних ИОХВ [9].

В США группой экспертов еще в 1994 г. принят качественный стандарт антибиотикопрофилактики [10]. В соответствии с этим документом антибиотикопрофилактика показана при всех ортопеди-

ческих операциях, сопровождающихся установкой металлоконструкций.

Риск ИОХВ зависит от типа перелома и характера операции. В случае выполнения эндопротезирования крупных суставов или при закрытых переломах ИОХВ варьирует от 0 до 5%. При открытых переломах 1-го типа риск превышает 5%, а при переломах типа 3 А-С превышает 50% [11]. При открытых переломах 3-го типа в подавляющем большинстве случаев имеет место массивное повреждение мягких тканей. В такой ситуации хирургическое вмешательство выполняют в условиях загрязненной раны. Таким образом, у таких пациентов выполняется эмпирическая антибиотикотерапия, а не профилактика.

Микробиология инфекционных осложнений, ассоциированных с металлоконструкциями

Бактериальная контаминация и, следовательно, инфекционные осложнения в подавляющем большинстве случаев происходят в результате попадания возбудителя с кожи пациента или из воздуха операционной [12, 13]. Наиболее часто возбудителем является *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативные стафилококки, такие как *Staphylococcus epidermidis* [14–16]. Во-первых, это обусловлено их присутствием как на поверхности кожи, так и в более глубоких слоях, при этом элиминация микроорганизмов, локализованных в более глубоких слоях, при обработке операционного поля малоэффективна. Во-вторых, фибрин и фибронектин способствуют адгезии стафилококков на поверхности имплантата [17]. J. Steckelberg и D. Osmon [18] при анализе 1033 случаев парапротезных инфекционных осложнений в клинике Мейо (США) выяснили: в 25% случаев они ассоциированы с коагулазонегативными стафилококками, в 23% — с *S. aureus*, в 11% — с грамотрицательной микрофлорой, в 8% — со стрептококками, в 6% — с анаэробами, в 3% — с энтерококками, в 2% — с другими микроорганизмами.

В 14% случаев инфекция была полимикробной, в 8% — возбудитель не выявлен.

При остеосинтезе переломов коагулазонегативные стафилококки реже приводят к развитию ИОХВ, чем при эндопротезировании [19]. Спектр микроорганизмов неодинаков в различных лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ). Следовательно, в каждом ЛПУ должен проводиться постоянный анализ частоты ИОХВ, возбудителей и резистентности, на основании которых должны приниматься протоколы профилактики.

Таблица 1. Критерии доказательности клинических рекомендаций

Критерий доказательности	Уровень доказательности	Описание
А	1	Доказано на основании крупных, отлично организованных, рандомизированных контролируемых клинических исследований или метаанализов
	2	Доказано на основании небольших, отлично организованных, рандомизированных контролируемых клинических исследований
	3	Доказано на основании отлично организованных когортных исследований
В	4	Доказано на основании отлично организованных исследований типа случай–контроль
	5	Доказано на основании неконтролируемых исследований
	6	Противоречивые доказательства, согласованные рекомендации
С	7	Экспертное мнение и прочее

Антибиотикопрофилактика при чистых операциях в травматологии и ортопедии

При проведении чистых ортопедических операций без имплантации каких-либо материалов вопрос необходимости антибиотикопрофилактики остается открытым [20–22]. В отношении некоторых типов процедур, например, диагностической и лечебной артроскопии, имеются противоречивые данные [23–27]. В целом риск инфекционных осложнений области хирургического вмешательства и отдаленных последствий для операций без использования имплантатов ниже, чем для вмешательств оставляющих после себя инородные материалы. Эффективность антибиотикопрофилактики при чистых ортопедических операциях начали изучать в середине XX века. Но огромное число этих исследований не являлись рандомизированными, не изучали продолжительность антибиотикопрофилактики и имели другие недостатки [28, 29]. В некоторых случаях антибиотик назначался после выполнения операции, что делает использование этих данных некорректным. Низкий уровень инфекционных осложнений и смертности при чистых ортопедических операциях не должен стать оправданием рутинному использованию антибиотикопрофилактики. Потенциальная токсичность последней, влияние на формирование резистентных штаммов, ассоциированные с ней риски, стоимость должны быть изучены и приняты во внимание.

Антибактериальная профилактика не рекомендуется для пациентов, подвергающихся чистым ортопедическим операциям, включая операции на кисти, стопе, коленном суставе и артроскопию без применения имплантатов, металлоконструкций и оставления инородных тел (Критерий доказательности С). В случае если до операции неясно — будет ли использован имплантат — следует провести антибиотикопрофилактику.

Антибиотикопрофилактика при остеосинтезе бедренной кости

Инфекции области хирургического вмешательства после остеосинтеза бедра могут привести к длительной госпитализации, хроническому болевому синдрому, сепсису, удалению металлоконструкции, ампутации и в целом являются жизнеугрожающими инфекциями [30–36]. Эффективность антибиотикопрофилактики в лечении переломов бедра проиллюстрирована в двух метаанализах [33, 34]. Первый метаанализ 15 исследований, изучавших результаты лечения закрытых проксимальных и чрезвертельных переломов, показал, что любой режим дозирования и длительности антибиотикопрофилактики превосходит результаты, полученные в группе пациентов без антибиотикопрофилактики. При этом были учтены как инфекции глубоких тканей бедра, так и поверхностные нагноения кожи [33]. Инфекции области хирургического вмешательства в контрольной группе встречались в 10,4%, а в группе с антибиотикопрофилактикой — в 5,39%.

Второй метаанализ 22 клинических исследований также указал на эффективность антимикробной профилактики при операциях по поводу перелома бедра [34]. В метаанализ были включены те же группы пациентов, что и в первом случае, плюс группы пациентов с закрытыми переломами длинных трубчатых костей других локализаций. Также всем пациентам выполнялся остеосинтез с использованием различных металлоконструкций. Оптимальным признано применение парентеральных цефалоспоринов I поколения [33, 34, 37]. Цефалоспорины II и III поколений не продемонстрировали значительного преимущества. Напротив, их более высокий потенциал в селекции антибиотикорезистентных возбудителей (включая *C. difficile*-ассоциированную диарею), а также более высокая цена делают их

Таблица 2. Рекомендации по антибиотикопрофилактике в травматологии и ортопедии

Вид оперативного вмешательства	Рекомендованный антибиотик	Альтернативный препарат для пациентов с аллергией на β -лактамы	Критерий доказательности
Чистые операции на верхних и нижних конечностях без оставления металлоконструкций и инородных материалов	Нет	Нет	C
Операции на позвоночнике, в том числе с использованием металлоконструкций	Цефазолин	Клиндамицин, ванкомицин	A
Операции по поводу перелома бедренной кости	Цефазолин	Клиндамицин, ванкомицин	A
Операции на костях с применением фиксирующих элементов (пластины, гвозди, винты, проволока)	Цефазолин	Клиндамицин, ванкомицин	C
Эндопротезирование	Цефазолин	Клиндамицин, ванкомицин	A

выбор «неоптимальным» [36, 38, 39]. Клиндамицин и ванкомицин в этой группе пациентов могут быть использованы при аллергии на β -лактамы. Ванкомицин следует применять для рутинной антибиотикопрофилактики у пациентов с доказанной колонизацией MRSA [23, 38, 41, 40].

При изучении кратности введения антибиотика в двух метаанализах показано, что при оперативном лечении переломов длинных трубчатых костей многократное введение препарата не имеет преимуществ перед однократным введением [33, 34]. В настоящее время для антибиотикопрофилактики при остеосинтезе бедра рекомендован цефазолин. Общая длительность профилактики ≤ 24 часов. В качестве альтернативной схемы рассматриваются клиндамицин и ванкомицин. В случае наличия локальных данных о роли грамотрицательной микрофлоры в развитии инфекций области хирургического вмешательства возможно применение комбинации клиндамицина или ванкомицина с фторхинолоном или гентамицином. Мупирицин назначается интраназально всем пациентам с документированными данными о носительстве *S. aureus*. (критерий доказательности A).

В нескольких исследованиях был изучен результат влияния местного применения мупирицина на эрадикацию MRSA при послеоперационных инфекциях в ортопедии [21, 42–48]. Местное применение мупирицина в сочетании с внутривенным профилактическим введением цефалоспоринов привело к снижению интраназального носительства MRSA и уменьшению числа инфекций области хирургического вмешательства у пациентов [42, 43, 45–47]. Периоперационная интраназальная деколонизация мупирицином может оказаться полезной для снижения инфекционных осложнений как у пациентов с выделенными штаммами MRSA, так и MSSA [21, 42–51].

Антибиотикопрофилактика при эндопротезировании

Каждый год около 1 млн человек обретают новые суставы в результате эндопротезирования. Зарегистрированы данные об инфекционных осложнениях области хирургического вмешательства при эндопротезировании тазобедренного, коленного, плечевого, локтевого и голеностопного суставов от 0,6 до 12% [32, 52–56]. В прошлом особенно высокой оказалась частота инфекционных осложнений при эндопротезировании тазобедренного (11%) и локтевого (12%) суставов [32, 56]. В целом для самых распространенных видов артропластики частота осложнений составила $\sim 2\%$ [57]. Введение в клиническую практику протоколов инфекционного контроля в стационаре, включающих строжайшие требования к отделениям эндопротезирования и операционным, привели к значительному снижению инфекционных осложнений в области хирургического вмешательства (менее 1%) [32, 55, 58–60]. Это лишний раз доказывает огромную роль организационных мероприятий, как эффективного способа борьбы с внутрибольничной инфекцией. К сожалению, именно в этом часто заключаются основные проблемы отечественных центров травматологии и ортопедии.

Послеоперационные инфекционные осложнения при эндопротезировании разделяются на ранние (до 3 мес), отсроченные (3–12 мес) и поздние (более 12 мес) [61]. Осложнение, развившееся в любой из этих периодов, может привести к длительной госпитализации, дорогостоящей терапии и к необходимости повторных операций, включая неоднократную замену эндопротеза [55, 62]. Основными факторами риска для инфекций при эндопротезировании являются: ожирение, сахарный диабет, сопутствующая терапия кортикостероидами, онкологическая патология, ревматоидный артрит, предшествующая неудачная артропластика

Таблица 3. Рекомендации по дозировке основных препаратов для антибиотикопрофилактики в травматологии и ортопедии

Препарат	Доза для взрослых	Доза для детей	Период полувыведения у взрослых без патологии почек, ч	Рекомендованный интервал перед повторным введением препарата, ч
Цефазолин	2 г 3 г для пациентов с массой >120 кг	30 мг/кг	1,2–2,2	4
Клиндамицин	900 мг	10 мг/кг	2–4	6
Ванкомицин	15 мг/кг	15 мг/кг	4–8	–
Азтреонам	2 г	30 мг/кг	1,3–2,4	4
Гентамицин	5 мг/кг	2,5 мг/кг	2–3	–

этого же сустава, эндопротезирование по поводу перелома, наличие прочих осложнений области хирургического вмешательства. Под последними понимают формирование гематомы и вынужденное длительное существование дренажной системы в ране. Осложнения возникают достоверно чаще при длительности операции более 3 ч и при отсутствии антимикробной профилактики. Пациенты, имеющие перечисленные выше факторы риска в комбинации, относятся к группе очень высокого риска по развитию инфекции области хирургического вмешательства.

Большинство исследований антимикробной профилактики посвящены группам пациентов с эндопротезами тазобедренного и коленного суставов [63]. Имеется дефицит информации по антимикробной профилактике при артропластике суставов других локализаций. Полагают, что в этих случаях могут быть приняты те же принципы, что и для тазобедренного и коленного суставов. В свете серьезности инфекционных осложнений необходимость профилактического назначения антибиотика при имплантации эндопротезов общепринята [38, 40, 76, 77]. В настоящее время нет данных о преимуществах конкретного класса антибиотиков над другими при профилактике инфекций после эндопротезирования. В исследованиях, например, не найдена разница между цефалоспоридами и тейкопланином, цефалоспоридами и пенициллинами, цефалоспоридами I и II поколений [63]. Выбор препарата должен быть основан на локальных данных чувствительности штаммов и доступности антибиотика. Цефазолин традиционно наиболее часто использовался для антибиотикопрофилактики при эндопротезировании. Как уже отмечалось выше, клиндамицин и ванкомицин могут быть использованы при аллергии на β -лактамы и как альтернативные препараты при высоком риске MRSA [23, 38, 40, 41, 78].

Использование цемента с антибиотиком во время эндопротезирования вместе с внутривен-

ной антибиотикопрофилактикой практикуется во многих странах, особенно часто при первичном эндопротезировании тазобедренного и коленного суставов [68]. Администрация по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (FDA) одобрила добавление к костному цементу аминогликозидов (гентамицина и тобрамицина) для ревизионного эндопротезирования [69]. Хотя для первичного эндопротезирования антибактериальный цемент не был одобрен, существуют данные, показывающие положительное действие комбинации цемента с антибиотиком и внутривенной антибиотикопрофилактики при различных артропластиках [70, 71]. В то же время недавние многоцентровые исследования не обнаружили снижения риска инфекции области хирургического вмешательства при применении комбинации во время первичного эндопротезирования тазобедренного сустава [79]. Также остаются дискуссионными вопросы рисков антимикробной резистентности, аллергических реакций и экономической эффективности таких комбинаций [41, 64–69, 72–75].

Длительность антибиотикопрофилактики при эндопротезировании в большинстве новых исследований утверждается как процедура длительностью не более 1 сут [23, 41, 80, 81]. В противоположность этому можно привести данные об эффективности схем длительностью от 12 ч до 14 сут [30, 82–86]. Например, в известном рандомизированном исследовании антибиотикопрофилактики у 358 пациентов при остеосинтезе бедра и эндопротезировании тазобедренного и коленного суставов не выявлено достоверного отличия в эффективности схемы длительностью 24 ч против 7 сут [86]. Рекомендации в настоящее время сводятся к следующему. Для внутривенной антибиотикопрофилактики при эндопротезировании тазобедренного, коленного, локтевого, голеностопного и плечевого суставов используется цефазолин. Клиндамицин и ванкоми-

цин остаются альтернативой, как это описано выше. Мупироцин рекомендован для интраназального введения пациентам с доказанным носительством *S. aureus* (Критерий доказательности А).

Заключение

В то время как доступность для врачей и пациентов подобных вмешательств в мире и в России быстро растет, число отдельных центров с опытом работы с инфекционными осложнениями не увеличивается ввиду относительно низкой частоты последних. Хирургическая стратегия лечения таких осложнений еще не представляет из себя стройной схемы и не имеет высокой степени доказательности ее эффективности. Поэтому все практикующие специалисты должны максимально тщательно выполнять рекомендации по антибиотикопрофилактике. Тем более, что для ортопедии и травматологии они относительно доступны для реализации. Прежде всего, ортопедические операции должны выполняться в строгих условиях асептики с дополнительными требованиями к операционной бригаде, оборудованию и помещениям, по сравнению с общей хирургией. В каждом центре ортопедии должны

быть отлажены инфекционный контроль, анализ локальных микробиологических данных, разделение пациентов по степени чистоты, экспресс-диагностика носительства золотистого стафилококка, в особенности его метициллинорезистентных штаммов (MRSA) у пациентов и персонала. При выявлении последнего рутинным мероприятием должно стать интраназальное применение мупироцина. При большинстве видов оперативных вмешательств для антибиотикопрофилактики используется цефазолин. Препарат отлично изучен и дешев. При непереносимости β -лактамов рекомендуется клиндамицин или ванкомицин. При локальных данных за большую роль MRSA в структуре инфекционных осложнений применяется ванкомицин. В принципе, ортопедические стационары, где основную роль играют такие возбудители, должны быть подвергнуты противоинфекционным мероприятиям и реорганизации. Длительность антибиотикопрофилактики менее 1 сут. Применение в комбинации антибиотикосодержащего костного цемента и внутривенной антибиотикопрофилактики является перспективным направлением для проведения новых клинических исследований.

Литература

1. Kaiser A.B. Antimicrobial prophylaxis in surgery. *N Engl J Med* 1986; 315:1129–38.
2. Elek S.D., Conen P.E. Triage-virulence of *Staphylococcus pyrogenes* for infection. *Br J Exp Pathol* 1957; 38:573-86.
3. Zimmerli W., Lew P.D., Waldvogel F.A. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. *J Clin Invest* 1994; 73:1191-1200.
4. Zimmerli W., Waldvogel F.A., Vaudaux P., et al. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. *J Infect Dis* 1995; 146:487-97.
5. Gristina A.G., Shibata Y., Giridhar G., et al. The glyco-calyx, biofilm, microbes, and resistant infection. *Semin Arthroplasty* 1994; 5:160-70.
6. Gristina A.G. Implant failure and the immuno-incompetent fibro-inflammatory zone. *Clin Orthop Relat Res* 1994; 298:106-18.
7. Gristina A.G., Costerton J.W. Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis. *J Bone Joint Surg Am* 1985; 67:264-73.
8. Ainscow D.A., Denham R.A. The risk of haematogenous infection in total joint replacements. *J Bone Joint Surg* 1984; 66:580-2.
9. Curry S., Phillips H. Joint arthroplasty, dental treatment, and antibiotics: a review. *J Arthroplasty* 2002; 17:111-3.
10. Dellinger E.P., Gross P.A., Barrett T.L., et al. Quality standard for antimicrobial prophylaxis in surgical procedures. *The Infectious Diseases Society of America. Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15:182-8.
11. Gustilo R.B., Mendoza R.M., Williams D.N. Problems in the management of type II (severe) open fractures: a new classification of type III open fractures. *J Trauma* 1994; 24:742-6.
12. Periti P., Mini E., Mosconi G. Antimicrobial prophylaxis in orthopaedic surgery: the role of teicoplanin. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41:329-40.
13. Strausbaugh L.J., Crossley K.B., Nurse B.A., Thrupp L.D. Antimicrobial resistance in long-term-care facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; 17:129-40.
14. Mauerhan D.R., Nelson C.L., Smith D.L., et al. Prophylaxis against infection in total joint arthroplasty. One day of cefuroxime compared with three days of cefazolin. *J Bone Joint Surg Am* 1994; 76:39-45.
15. Page C.P., Bohnen J.M., Fletcher J.R., et al. Antimicrobial prophylaxis for surgical wounds. Guidelines for clinical care. *Arch Surg* 1993; 128:79-88.
16. Patzakis M.J., Wilkins J., Kumar J., et al. Comparison of the results of bacterial cultures from multiple sites in chronic osteomyelitis of long bones. A prospective study. *J Bone Joint Surg Am* 1994; 76:664-6.
17. Greene C., McDevitt D., Francois P., et al. Adhesion properties of mutants of *Staphylococcus aureus* defective in fibronectin-binding proteins and studies on the expression of fnb genes. *Mol Microbiol* 1995; 17:1143-52.
18. Steckelberg J.M., Osmon D.R. Infections associated with indwelling medical devices. In: Bisno A.L.,

- Waldvogel F.A., editors. Prosthetic joint infections. Washington DC: ASM Press: 1994; 259-901.
19. Boxma H., Broekhuizen T., Patka P., et al. Randomised controlled trial of single-dose antibiotic prophylaxis in surgical treatment of closed fractures: the Dutch Trauma Trial. *Lancet* 1996; 347:133-7.
 20. Pavel A., Smith R.L., Ballard A., et al. Prophylactic antibiotics in clean orthopedic surgery. *J Bone Joint Surg* 1974; 56:777-82.
 21. Prokusi L. Prophylactic antibiotics in orthopaedic surgery. *J Am Acad Orthop Surg* 2008; 16:283-93.
 22. Zgonis T., Jolly G.P., Garbalosa J.C. The efficacy of prophylactic intravenous antibiotics in elective foot and ankle surgery. *J Foot Ankle Surg* 2004; 43:97-103.
 23. Antimicrobial prophylaxis for surgery. *Treat Guidel Med Lett* 2009; 7:47-52.
 24. Kurzweil P.R. Antibiotic prophylaxis for arthroscopic surgery. *Arthroscopy* 2006; 22:452-4.
 25. Wieck J.A., Jackson J.K., O'Brien T.J., et al. Efficacy of prophylactic antibiotics in arthroscopic surgery. *Orthopedics* 1997; 20:133-4.
 26. Bert J.M., Giannini D., Nace L. Antibiotic prophylaxis for arthroscopy of the knee: is it necessary? *Arthroscopy* 2007; 23:4-6.
 27. Babcock H.M., Carroll C., Matava M., et al. Surgical site infections after arthroscopy: outbreak investigation and case control study. *Arthroscopy* 2003; 19:172-81.
 28. Olix M.L., Klug T.J., Coleman C.R., et al. Prophylactic antibiotics in elective operations on bones, joints, and tendons. *Surg Forum* 1960; 10:818-9.
 29. Tachdjian M.O., Compere E.L. Postoperative wound infections in orthopedic surgery: evaluation and prophylactic antibiotics. *J Int Coll Surg* 1957; 28:797-805.
 30. Boyd R.J., Burke J.F., Colton T. A doubleblind clinical trial of prophylactic antibiotics in hip fractures. *J Bone Joint Surg* 1973; 55:1251-8.
 31. Boxma H., Broekhuizen T., Patka P., et al. Randomised controlled trial of single-dose antibiotic prophylaxis in surgical treatment of closed fractures: the Dutch Trauma Trial. *Lancet* 1996; 347:1133-7.
 32. Fitzgerald R.H. Infections of hip prosthesis and artificial joints. *Infect Dis Clin North Am* 1989; 3:329-38.
 33. Southwell-Keely J.P., Russo R.R., App B., et al. Antibiotic prophylaxis in hip fracture surgery: a meta-analysis. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 410:179-84.
 34. Gillespie W.J., Walenkamp G. Antibiotic prophylaxis for surgery for proximal femoral and other closed long bone fractures. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 1:CD000244.
 35. Hahnel J., Burdekin H., Anand S. Readmissions following hip fracture surgery. *Ann R Coll Surg Engl* 2009; 91:591-5.
 36. Gulihar A., Nixon M., Jenkins D., et al. Clostridium difficile in hip fracture patients: prevention, treatment and associated mortality. *Injury* 2009; 40:746-51.
 37. Cunha B.A., Gossling H.R., Pasternak H.S., et al. The penetration characteristics of cefazolin, cephalothin, and cephradine into bone in patients undergoing total hip replacement. *J Bone Joint Surg* 1977; 59:856-9.
 38. Mangram A.J., Horan T.C., Pearson M.L., et al. Guideline for prevention of surgical site infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:250-78.
 39. Starks I., Ayub G., Walley G., et al. Singledose cefuroxime with gentamicin reduces Clostridium difficile-associated disease in hip-fracture patients. *J Hosp Infect* 2008; 70:21-6.
 40. Barker F.G. Efficacy of prophylactic antibiotic therapy in spinal surgery: a meta-analysis. *Neurosurgery* 2002; 51:391-401.
 41. Bratzler D.W., Houck P.M., for the Surgical Infection Prevention Guidelines Writers Workgroup. Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the national surgical infection prevention project. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1706-15.
 42. Kalmeijer M.D., Coertjens H., Van Nieuwland-Bollen P.M., et al. Surgical site infections in orthopedic surgery: the effect of mupirocin nasal ointment in a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Clin Infect Dis* 2002; 35:353-8.
 43. Kallen A.J., Wilson C.T., Larson R.J. Perioperative intranasal mupirocin for the prevention of surgical-site infections: systematic review of the literature and meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005; 26:916-22.
 44. Trampuz A., Zimmerli W. Antimicrobial agents in orthopedic surgery: prophylaxis and treatment. *Drugs* 2006; 66:1089-105.
 45. Gernaat-Van Der Sluis A.J., Hoogenboom-Verdegaal A.M., Edixhoven P.J., et al. Prophylactic mupirocin could reduce orthopedic wound infections: 1044 patients treated with mupirocin compared with 1260 historical controls. *Acta Orthop Scand* 1998; 69:412-4.
 46. Wilcox M.H., Hall J., Pike H., et al. Use of perioperative mupirocin to prevent methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) orthopedic surgical site infections. *J Hosp Infect* 2003; 54:196-201.
 47. Coskun D., Aytac J. Decrease in *Staphylococcus aureus* surgical-site infection rates after orthopaedic surgery after intranasal mupirocin ointment. *J Hosp Infect* 2004; 58:90-1.
 48. Van Rijen M.M., Bonten M., Wenzel R.P., et al. Intranasal mupirocin for reduction of *Staphylococcus aureus* infections in surgical patients with nasal carriage: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:254-61.
 49. Hacek D.M., Robb W.J., Paule S.M., et al. *Staphylococcus aureus* nasal decolonization in joint replacement surgery reduces infection. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1349-55.
 50. Rao N., Cannella B., Crossett L.S., et al. A preoperative decolonization protocol for *Staphylococcus aureus* prevents orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1343-8.
 51. Kim D.H., Spencer M., Davidson S.M., et al. Institutional prescreening for detection and eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients undergoing elective orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Am* 2010; 92:1820-6.
 52. Bohsali K.I., Wirth M.A., Rockwood C.A. Complications of total shoulder arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88:2279-92.

53. Glazebrook M.A., Arsenault K., Dunbar M. Evidence-based classification of complications in total ankle arthroplasty. *Foot Ankle Int* 2009; 30:945-9.
54. Gougoulias N., Khanna A., Maffulli N. How successful are current ankle replacements? A systematic review of the literature. *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468:199-208.
55. Blom A.W., Brown J., Taylor A.H., et al. Infection after total knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 2004; 86:688-91.
56. Kasten M.D., Skinner H.B. Total elbow arthroplasty. An 18-year experience. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 290:177-88.
57. Edwards J.R., Peterson K.D., Mu Y., et al. National Healthcare Safety Network (NHSN) report: data summary for 2006 through 2008. *Am J Infect Control* 2009; 37:783-805.
58. Ericson C., Lidgren L., Lindberg L. Cloxacillin in the prophylaxis of postoperative infections of the hip. *J Bone Joint Surg* 1973; 55:808-13.
59. Periti P., Stringa G., Mini E., et al. Comparative multicenter trial of teicoplanin versus cefazolin for antimicrobial prophylaxis in prosthetic joint implant surgery. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:113-9.
60. Minnema B., Vearncombe M., Augustin A., et al. Risk factors for surgical-site infection following primary total knee arthroplasty. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25:477-80.
61. Matthews P.C., Berendt A.R., McNally M.A., et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection. *BMJ* 2009; 338:1378-83.
62. Blom A.W., Taylor A.H., Pattison G., et al. Infection after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85:956-9.
63. Albuhaireen B., Hind D., Hutchinson A. Antibiotic prophylaxis for wound infections in total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 2008; 90:915-9.
64. Fish D.N., Hoffman H.M., Danziger L.H. Antibiotic impregnated cement use in U.S. hospitals. *Am J Hosp Pharm* 1992; 49:2469-74.
65. Malik M.H., Gambhir A.K., Bale L., et al. Primary total hip replacement: a comparison of a nationally agreed guide to practice and current surgical technique as determined by the North West Regional Arthroplasty Registry. *Ann R Coll Surg Engl* 2004; 86:113-8.
66. Bourne R.B. Prophylactic use of antibiotic bone cement: an emerging standard - in the affirmative. *J Arthroplasty* 2004; 19(suppl 1):69-72.
67. Engesaeter L.B., Lie S.A., Espehaug B., et al. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0 to 14 years in the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop Scand* 2003; 74:644-51.
68. Espehaug B., Engesaeter L.B., Vollset S.E., et al. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty: review of 10,905 primary cemented total hip replacements reported to the Norwegian Arthroplasty Register, 1987 to 1995. *J Bone Joint Surg Br* 1997; 79:590-5.
69. Jiranek W.A., Hanssen A.D., Greenwald A.S. Antibiotic-loaded bone cement for infection prophylaxis in total joint replacement. *J Bone Joint Surg* 2006; 88:2487-500.
70. McQueen M.M., Hughes S.P., May P., et al. Cefuroxime in total joint arthroplasty. Intravenous or in bone cement. *J Arthroplasty* 1990; 5:169-72.
71. Josefsson G., Kolmert L. Prophylaxis with systematic antibiotics versus gentamicin bone cement in total hip arthroplasty. A ten-year survey of 1,688 hips. *Clin Orthop Relat Res* 1993; 292:210-4.
72. Hanssen A.D., Osmon D.R. The use of prophylactic antimicrobial agents during and after hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 369:124-38.
73. Jiranek W. Antibiotic-loaded cement in total hip replacement: current indications, efficacy, and complications. *Orthopedics* 2005; 28(suppl):s873-7.
74. Diefenbeck M., Mückley T., Hofman G.O. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by local application of antibiotics. *Injury* 2006; 37(suppl 2):S95-104.
75. Hanssen A.D. Prophylactic use of antibiotic bone cement: an emerging standard - in opposition. *J Arthroplasty* 2004; 19(suppl 1):73-7.
76. Korinek A.M., Golmard J.L., Elcheick A., et al. Risk factors for neurosurgical site infections after craniotomy: a critical reappraisal of antibiotic prophylaxis on 4578 patients. *Br J Neurosurg* 2005; 19:155-62.
77. Brown E.M., Path F.R., Pople I.K., et al. Prevention of postoperative infection in patients undergoing spinal surgery. *Spine* 2004; 29:938-45.
78. American Academy of Orthopaedic Surgeons. Information statement: the use of prophylactic antibiotics in orthopaedic medicine and the emergence of vancomycin-resistant bacteria. www.aaos.org/about/papers/advistmt/1016.asp (accessed 2008 May 13).
79. Van Kasteren M.E., Mannien J., Ott A., et al. Antibiotic prophylaxis and the risk of surgical site infections following total hip arthroplasty: timely administration is the most important factor. *Clin Infect Dis* 2007; 44:921-7.
80. American Academy of Orthopaedic Surgeons. Information statement: recommendations for the use of intravenous antibiotic prophylaxis in primary total joint arthroplasty. www.aaos.org/about/papers/advistmt/1027.asp (accessed 2008 May 13).
81. Jaeger M., Maier D., Kern W.V., et al. Antibiotics in trauma and orthopedic surgery - a primer of evidence-based recommendations. *Injury* 2006; 37:s74-80.
82. Ericson C., Lidgren L., Lindberg L. Cloxacillin in the prophylaxis of postoperative infections of the hip. *J Bone Joint Surg* 1973; 55:808-13.
83. Pollard J.P., Hughes S.P., Scott J.E., et al. Antibiotic prophylaxis in total hip replacement. *Br Med J* 1979; 1:707-9.
84. Burnett J.W., Gustilo R.B., Williams D.N., et al. Prophylactic antibiotics in hip fractures. *J Bone Joint Surg* 1980; 62:457-62.
85. Tengve B., Kjellander J. Antibiotic prophylaxis in operations on trochanteric femoral fractures. *J Bone Joint Surg* 1978; 60:97-9.
86. Nelson C.L., Green T.G., Porter R.A., et al. One day versus seven days of preventive antibiotic therapy in orthopedic surgery. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 176:258-63.

Резолюция экспертного совещания «Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*. От простого к сложному»¹

Н. Н. Дехнич¹, Н. В. Захарова², М. И. Кузьмин-Крутецкий², Т. Л. Лапина³,
С. С. Пирогов⁴, О. А. Саблин⁵, А. А. Самсонов⁶, В. И. Симаненков²

¹ ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

² ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва, Россия

⁵ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

The Summary of Expert Meeting «Managing Patients with *Helicobacter pylori* Infection: From Simple to Complex»¹

N. N. Dekhnich¹, N. V. Zakharova², M. I. Kuzmin-Krutetcki², T. L. Lapina³, S. S. Pirogov⁴,
O. A. Sablin⁵, A. A. Samsonov⁶, V. I. Simanenkova²

¹ Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

³ First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴ Moscow Research Institute for Oncology named after P.A. Hertsen, Moscow, Russia

⁵ Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint-Petersburg, Russia

⁶ Moscow State Medical and Dentistry University named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Введение

На сегодняшний день *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является одной из наиболее распространенных бактериальных инфекций человека. По данным ряда авторов, около 50% населения земного шара (более трех миллиардов человек) инфицировано этим микроорганизмом, при этом в развивающихся странах частота значительно выше [1, 2]. *H. pylori*-инфекция встречается у 80–90% жителей развивающихся стран Азии и Африки, 40–80% жителей Восточной Европы и 25–40% населения развитых стран Европы и Северной Америки [3, 4].

Частота инфекции *H. pylori* у взрослого населения Российской Федерации, по данным отечественных исследований, составляет более 80% [5].

Геликобактерная инфекция признана ключевым этиопатогенетическим фактором в развитии хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, некардиального рака желудка, MALT-лимфомы. Можно констатировать, что проблема перешагнула рамки патологии гастродуоденальной зоны [6–10]. Имеются данные о связи между инфекцией и рядом негастродуоденальных заболеваний, в частности железодефицитной анемией, идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, а также дефицитом витамина B₁₂ [11–14].

Контактный адрес:
Татьяна Львовна Лапина
Эл. почта: tatlapina@gmail.com

¹ Экспертное совещание «Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*. От простого к сложному» состоялось 27.06.2014 в Санкт-Петербурге.

Диагностика и контроль эффективности эрадикационной терапии *H. pylori*

Для диагностики *H. pylori* разработан ряд методов, которые можно разделить на неинвазивные и инвазивные [7, 15].

К **неинвазивным методам** относятся:

- определение антигена *H. pylori* в кале;
- изотопный дыхательный тест с мочевиной, меченой ^{13}C – считается эталонным и рекомендован как для первичной диагностики, так и для контроля успешности эрадикации;
- определение антител к *H. pylori* в сыворотке крови (серологический метод)

Инвазивные методы диагностики выполняются в рамках эндоскопического исследования. К ним относятся:

- быстрый уреазный тест с биоптатом, полученным при ЭГДС (биоптат помещается на индикаторный диск тест-системы);
- полимеразная цепная реакция с гастробиоптатами;
- гистологическое исследование (с окрашиванием биоптатов или мазков-отпечатков);
- микробиологическое исследование биоптатов (с возможностью определения чувствительности к антибиотикам).

Для повышения вероятности выявления *H. pylori* при применении инвазивных методов диагностики рекомендуется исследовать хотя бы два биоптата из тела желудка и один биоптат из антрального отдела [15].

Прием *ингибиторов протонной помпы* (ИПП) (а также препаратов висмута и антибактериальных средств) менее чем за 2 нед до исследования может привести к ложноотрицательным результатам всех методов диагностики, кроме серологических тестов. Поэтому прием этих лекарственных средств необходимо отменить не менее чем за 2 нед до проведения диагностических мероприятий.

В России на сегодняшний день диагностика инфекции затруднена, так как не все из имеющихся современных методов доступны в различных регионах страны. Руководствуясь последними российскими и зарубежными рекомендациями, предпочтение стоит отдавать дыхательному тесту с мочевиной, меченой ^{13}C (чувствительность составляет 88–95%, специфичность – 95–100%) и определению антигена *H. pylori* в кале (чувствительность – 94%, специфичность – 92%) [7, 15–17]. Однако при недоступности этих методов для первичной диагностики можно использовать любой из имеющихся в распоряжении валидизированных методов.

Контроль эффективности эрадикации должен осуществляться не ранее чем через 4 нед после окончания курса антигеликобактерной терапии или приема любых антибиотиков и не ранее чем через 2 нед после окончания приема ИПП [7, 15]. Необходимо учитывать, что не все методики подходят для контроля излеченности. Так, антитела к *H. pylori* могут сохраняться в течение многих лет. Косвенно об уничтожении инфекции будет свидетельствовать снижение титра антител, выявляющееся обычно к 6–12 месяцу [16]. В связи с этим серологические методы для контроля эрадикации использовать нецелесообразно.

Лечение больных с инфекцией *H. pylori*

«Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых» служат основным практическим руководством для врачей нашей страны [15].

Для лечения больных с инфекцией *H. pylori* назначают *эрадикационную терапию* (ЭТ), включающую 2–3 антибактериальных препарата вместе с ИПП. В схемы ЭТ входит ИПП, назначаемый 2 раза в сутки в стандартной дозе по 20 мг (оме-, эзо-, рабепразол), 40 мг (пантопразол) или 30 мг (лансопразол). Стандартом лечения для пациентов с впервые выявленной инфекцией на сегодняшний день является тройная терапия: ИПП в стандартной дозе + кларитромицин 500 мг + амоксициллин 1000 мг (или метронидазол 500 мг). Все препараты принимаются 2 раза в сутки, оптимальная длительность терапии 10–14 дней, минимальная допустимая длительность лечения – 7 дней [7, 15, 18, 19].

В последнее время отмечается снижение эффективности этой схемы из-за ряда факторов и, в первую очередь, из-за наличия резистентности бактерии к кларитромицину и метронидазолу [18–21]. С учетом этого, решением последнего консенсуса Маастрихт IV предложен дифференцированный подход к назначению схем ЭТ в зависимости от показателя резистентности *H. pylori* к кларитромицину в каждом конкретном регионе. Согласно положениям консенсуса, в регионах с высокой резистентностью (более 20%) в качестве ЭТ первой линии рекомендуется квадротерапия с препаратами висмута: ИПП в стандартной дозе 2 раза в сутки + тетрациклин 500 мг 4 раза в сутки + метронидазол 500 мг 3 раза в сутки + висмута трикалия дицитрат 120 мг 4 раза в сутки. При этом длительность терапии составляет 10 дней. Эта схема также является предпочтительной у пациентов с непереносимостью препаратов пенициллинового ряда [7, 15].

Необходимо отметить, что данные по резистентности значительно отличаются в различных странах и даже регионах одной и той же страны. Так, в южных регионах Европы показатель резистентности достигает 21,5%, в то время как в северных он не превышает порога 10%. В США эта цифра составляет 13%, а самая высокая отмечена в странах Африки — до 44,7% [23–25]. Что касается России, то этот показатель, судя по ограниченному числу локальных исследований, колеблется в пределах 5,4–7,6% [26–29].

Таким образом, если нет региональных данных о ситуации с резистентностью к кларитромицину, российским врачам в качестве терапии первой линии следует отдавать предпочтение тройной схеме с кларитромицином [15].

Правильное проведение первой схемы антигеликобактерной терапии очень важно, так как именно первая линия лечения может обеспечить наибольшую вероятность «искоренения» инфекции *H. pylori*. В случае соблюдения всех рекомендаций врача, вероятность успешности эрадикации составляет не менее 80% [7, 30]. Важное место в обеспечении эффективности ЭТ занимает выбор ИПП. Например, в метаанализе A.G. McNicholl и соавт. было показано, что у более современных ИПП (эзо- и рабепразол) вероятность эрадикации микроорганизма выше, чем у препаратов «первого поколения» (оме-, лансо-, пантопразол). Так, при анализе 20 исследований применение схемы эрадикации *H. pylori* на основе рабепразола (группа составила 1795 пациентов) привело к успешной эрадикации в 80,5% случаев, а при использовании схемы на основе оме-, лансо-, пантопразола (1969 пациентов) — в 76,2% случаев [31].

Небрежное или неправильное проведение ЭТ первой линии может привести к ее неудаче, что потребует назначения второй линии. К сожалению, последующие схемы лечения, особенно если используются те же антибактериальные препараты или пациент ранее принимал какой-либо из антибиотиков, содержащийся в схеме лечения, имеют меньше шансов достижения успешного результата. Таким образом, важно использовать только схемы лечения, для которых имеется достаточная доказательная база и данные о доказанной эффективности [15, 18, 28].

Учитывая важность именно первого курса антигеликобактерной терапии, следует более подробно остановиться на возможных причинах неудач [32, 33]. Условно их можно объединить в 3 основные группы причин:

- зависящие от свойств самой бактерии;
- зависящие от пациента;
- зависящие от врача.

К первой группе причин можно отнести резистентность *H. pylori* к антибактериальным препаратам, переход бактерии в кокковую форму и высокую бактериальную нагрузку (инокулюм-эффект), а также генотипические особенности геликобактера — вирулентность штамма бактерии (CagA-положительные штаммы более восприимчивы к антибиотикам по сравнению с CagA-негативными) [34–36].

К причинам неудач ЭТ, зависящим от пациента, относится низкий комплаенс (приверженность) — несоблюдение пациентом назначенной многокомпонентной схемы терапии либо преждевременная отмена препаратов в связи с развитием побочных эффектов на фоне проводимого лечения. В исследовании D. Y. Graham и соавт. показано, что эффективность эрадикации достигает 96% у тех пациентов, кто следовал схеме терапии и принял 60% и более лекарственных препаратов. У тех больных, которые приняли менее 60% курсовой дозы препаратов, эффективность составила 69% [37]. В таких ситуациях очень важна роль врача, который может мотивировать пациента полностью пройти «правильный» курс лечения. Специалист должен объяснить необходимость соблюдать кратность приема препаратов, причину назначения нескольких препаратов (в зависимости от схемы терапии пациенту может быть назначено от 6 до 29 таблеток в сутки). Доктор должен предупредить о развитии наиболее частых побочных эффектов (диарея, неприятный вкус во рту, тошнота), которые не всегда требуют отмены препаратов. Кроме низкого комплаенса, у ряда пациентов причиной низкой эффективности выбранной схемы может иметь полиморфизм гена CYP2C19 и связанный с этим ускоренный метаболизм ряда ИПП [38, 39]. Все эти особенности следует учитывать при выборе схемы терапии и конкретных препаратов в ней.

К последней группе причин, приводящих к неудачам антигеликобактерной терапии, можно отнести факторы, зависящие от лечащего врача. Как уже упоминалось ранее, очень важна мотивация пациента, и здесь большую роль имеет отношение самого врача и знание им проблемы. По данным зарубежных авторов, у части врачей имеется недостаток знаний относительно инфекции *H. pylori*. Особенно это касается знаний о риске развития рака желудка и MALT-лимфомы, связанных с наличием бактерии [40].

Таким образом, не всегда специалист может объяснить пациенту все риски, связанные с его заболеванием, и убедительно доказать необходимость лечения. Следует отметить, что несмотря на наличие и доступность российских и европейских

рекомендаций по рациональному лечению инфекции *H. pylori*, на практике применяются схемы, существенно отличающиеся от стандартов. В крупном исследовании, выполненном при поддержке Российской гастроэнтерологической ассоциации в 2005 г., было показано, что нерациональная ЭТ имеет место в 81% случаев (включая применение неправильных схем, неадекватных доз и препаратов с недоказанной эффективностью). Кроме этого, диагностика *H. pylori* до лечения проводится в 22,5% случаев, а контроль эффективности ЭТ — только в 6,7% [41]. Следует продолжить учебно-образовательные мероприятия среди врачей и просветительскую работу о значении инфекции *H. pylori* среди населения.

Если врач учел все вышеперечисленное, а эффекта от первого курса терапии достичь не удалось, пациенту необходимо назначить второй курс терапии, при этом врач должен избегать назначения антибиотиков, использовавшихся в предыдущих схемах лечения. Согласно современным рекомендациям, в регионах с низкой резистентностью к кларитромицину терапией второй линии является квадротерапия на основе препаратов висмута. Что же касается регионов с высокой резистентностью, то там терапией второй линии при неэффективности квадротерапии первой линии является тройная терапия с левофлоксацином: ИПП в стандартной дозе + левофлоксацин 500 мг + амоксициллин 1000 мг. Все препараты принимаются 2 раза в сутки, длительность терапии — 10 дней [7, 15, 18, 19].

Европейскими и российскими экспертами предложен ряд мер, позволяющий повысить эффективность ЭТ: увеличить длительность ЭТ с 7 до 10–14 дней, использовать высокие (двойные, по отношению к принятым в схемах ЭТ) дозы ИПП (эзо- и рабепразола 40 мг два раза в сутки), добавить препараты висмута трикалия дицитрата (120 мг 4 раза в сутки) и пробиотики с доказанной эффективностью в отношении геликобактерной инфекции [7, 15]. Необходимо отметить, что применение высоких доз ИПП для ЭТ является off-label (офф-лейбл — использование препарата в дозе, не утвержденной государственными регулирующими

органами). Однако анализ научных данных позволяет обосновать целесообразность такого подхода, учитывая увеличение эффективности ЭТ на 12% [7]. Кроме того, ИПП обладают широким терапевтическим диапазоном. Так, для лечения больных с синдромом Золлингера–Элисона разрешен длительный прием дозы 120 мг рабепразола и 160 мг эзомерпразола [42].

К сожалению, как уже упоминалось выше, каждый следующий курс терапии может иметь меньшую вероятность успеха и в дальнейшем врач может столкнуться с проблемой подбора эффективных антибактериальных препаратов для эрадикации. Поэтому, в случае неудачи двух курсов эрадикационной терапии лечение должно основываться на определении индивидуальной чувствительности микроорганизма к антибиотикам [7, 15]. В такой ситуации очень важно правильно провести микробиологическое исследование с определением чувствительности бактерии к конкретным антимикробным препаратам и назначить курс терапии, опираясь на полученные данные. Подробные **рекомендации по выделению, идентификации и определению чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам изложены в приложении к данному документу.**

Заключение

К настоящему времени разработка и внедрение в практику современных диагностических методов, адекватных схем ЭТ позволили добиться значительных успехов в борьбе с инфекцией *H. pylori* и ее последствиями. Тем не менее, сохраняющийся высокий уровень инфицированности населения большинства развитых стран, появление резистентных штаммов бактерии, высокая частота ассоциированных с *H. pylori* заболеваний, в том числе рака желудка, определяют актуальность данной проблемы. Только индивидуальный врачебный подход, детальный расспрос пациента с учетом особенностей его состояния и назначение рекомендованных схем терапии с последующим контролем излеченности позволит сделать лечение геликобактерной инфекции максимально эффективным.

Литература

1. Go M.F. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(Suppl1):3-15.
2. Salih B.A. *Helicobacter pylori* infection in developing countries: The burden for how long? *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15(3):201-7.
3. Tonkic A., Tonkic M., Lehours P., Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2012; 17(Suppl.1):1-8.
4. Ford A.C., Axon A.T. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter* 2010; 15(Suppl.1):1-6.
5. Гастроэнтерология: национальное руководство. Под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. - М.: ГЭОТАР-

- Медиа, 2008. - 704 с. - (Серия «Национальные руководства»).
6. Маев И.В. Современные представления о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *Helicobacter pylori*. Терапевтический архив 2006; 78(2):10-5.
 7. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., et al. Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV / Florence Consensus Report. Gut 2012 ;61(5):646-64.
 8. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med 2001; 345:784-9.
 9. Leung W.K., Lin S.R., Ching J.Y., et al. Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: Results of a randomised trial on *Helicobacter pylori* eradication. Gut 2004; 53:1244-9.
 10. Farinha P., Gascoyne R.D. *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. Gastroenterology 2005; 128:1579-605.
 11. Muhsen K., Cohen D. *Helicobacter pylori* infection and iron stores: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2008; 13(5):323-40.
 12. Qu X.H., Huang X.L., Xiong P., et al. Does *Helicobacter pylori* infection play a role in iron deficiency anemia? A meta-analysis. World J Gastroenterol 2010; 16(7):886-96.
 13. Arnold D.M., Bernotas A., Nazi I., et al. Platelet count response to *H.pylori* treatment in patients with immune thrombocytopenic purpura with and without *H.pylori* infection: a systematic review. Haematologica 2009; 94(6):850-6.
 14. Vitale G., Barbaro F., Ianiro G., et al. Nutritional aspects of *Helicobacter pylori* infection. Minerva Gastroenterol. Dietol 2011; 57(4):369-77.
 15. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А. и комитет экспертов. Рекомендации Российской Гастроэнтерологической Ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. Рос журн гастроэнт гепатол колопроктол 2012; 22(1):87-9
 16. Sablin O., Yurin M., Zakharova N., Simanenkov V. Efficiency of eradication therapy in patients with autoimmune gastritis associated with *Helicobacter pylori*: a prospective study. Gastroenterology 2014; 146(Suppl. 1):S-399.
 17. Vaira D., Malfertheiner P., Megraud F., et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. Lancet 1999; 354:30-3.
 18. Chey W.D., Wong B.C. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 2007; 102(8):1808-25.
 19. Fock K.M., Katelaris P., Sugano K., et al. Second Asia-Pacific consensus guidelines for *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol Hepatol 2009; 24(10):1587-600.
 20. Fischbach L.A., Goodman K.J., Feldman M., et al. Sources of variation of *Helicobacter pylori* treatment success in adults worldwide: a meta-analysis. Int J Epidemiol 2002; 31(1):128-39.
 21. Vakil N., Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 2007; 133(3):985-1001.
 22. Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut 2004; 53(9):1374-84.
 23. De Francesco V., Giorgio F., Hassan C., et al. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. J Gastrointest Liver Dis 2010; 19(4):409-14.
 24. Megraud F., Coenen S., Versporten A., et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. Gut 2013; 62(1):34-42.
 25. Duck W.M., Sobel J., Pruckler J.M., et al. Antimicrobial resistance incidence and risk factors among *Helicobacter pylori*-infected persons, United States. Emerg Infect Dis 2004; 10(6):1088-94.
 26. Бокарев А.А., Перфилова К.М. и соавторы. Устойчивость *Helicobacter pylori* к макролидам у больных с *H.pylori*-позитивной гастродуоденальной патологией. Материалы II Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва, 29-31 марта 2010 г.
 27. Дехнич Н.Н., Костякова Е.А., Пунин А.А., Алимов А.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность *H.pylori*: результаты микробиологического регионального исследования. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2011; 21(2):37-42.
 28. Саблин О.А. Факторы, определяющие эффективность эрадикационной терапии *Helicobacter pylori*-ассоциированных заболеваний. Консилиум Медикум. Гастроэнтерология 2011; 2:34-8.
 29. Осипенко М.Ф., Бикбулатова Е.А., Шакалите Ю.Д. и соавт. Резистентность *Helicobacter pylori* к кларитромицину в Новосибирске. Рос журн гастроэнт гепатол колопроктол 2012; 22(5), Приложение № 40:36
 30. Cardenas V.M., Graham D.Y., el-Zimaity H.M., et al. Rabeprazole containing triple therapy to eradicate *Helicobacter pylori* infection on the Texas-Mexican border. Aliment Pharmacol Ther 2006; 23(2):295-301.
 31. McNicholl A.G., Linares P.M., Nyssen O.P., Calvet X., Gisbert J.P. Meta-analysis: esomeprazole or rabeprazole vs. first-generation pump inhibitors in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. Alimentary Pharmacology and Therapeutics; 2012; 36:414-25.
 32. Graham D.Y., Fischbach L. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. Gut 2010; 59(8):1143-53.
 33. Маев И.В., Кучерявый Ю.А., Андреев Д.Н. Причины неэффективности антигеликобактерной терапии. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2013; 23(6):62-72.
 34. De Francesco V., Ierardi E., Hassan C., Zullo A. *Helicobacter pylori* therapy: present and future. World J Gastrointest Pharmacol Ther 2012; 3(4):68-73.
 35. Perri F., Clemente R., Festa V., et al. Relationship between the results of pre-treatment urea breath test and efficacy of eradication of *Helicobacter pylori* infection. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998; 30(2):146-50.
 36. Van Doorn L.J., Schneeberger P.M., Nouhan N., et al. Importance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA sta-

- tus for the efficacy of antibiotic treatment. *Gut* 2000; 46(3):321-6.
37. Graham D.Y., Lew G.M., Malaty H.M. et al. Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Gastroenterology* 1992; 102(2):493-4.
38. McColl K. E., Kennerley P. Proton pump inhibitors - differences emerge in hepatic metabolism *Dig Liver Dis* 2002; 34(7):461-7.
39. Ishizaki T., Horai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors - emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13(Suppl 3):27-36.
40. Niv Y., Abuksis G. Survey of the opinions, knowledge and practices of surgeons and internists regarding *Helicobacter pylori* test-and-treat policy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36(2):139-43.
41. Страчунский Л.С., Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. и др. Ведение больных язвенной болезнью в амбулаторно-поликлинических условиях: результаты многоцентрового российского фармакоэпидемиологического исследования. *Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол* 2005; 15 (6):16-21.
42. grls.rosminzdrav.ru (Парият рег. №: П N011880/01, Онтайм рег. №: ЛП 000831, Зульбекс рег. №: ЛП-000944, Нексиум рег. №: П N013775/01).

Приложение

Рекомендации по выделению, идентификации и определению чувствительности *Helicobacter pylori* к антимикробным препаратам

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии
ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России

Р.С. Козлов¹, Н.В. Иванчик¹, Н.Н. Дехнич²

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

² Кафедра факультетской терапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

Guidelines for the Isolation, Identification and Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori*

Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC)
Institute of Antimicrobial Chemotherapy (IAC)

R.S. Kozlov¹, N.V. Ivanchik¹, N.N. Dekhnich²

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

² Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

Получение биопсийного материала для бактериологического исследования

Биопсийный материал для выделения *H. pylori* необходимо получать до начала антибиотикотерапии либо, при неэффективности предшествующего лечения, до назначения нового режима анти-

биотикотерапии. Перед получением биопсийного материала для посева рекомендовано за 14 дней прекратить прием ингибиторов протонной помпы, препаратов висмута и антибиотиков.

Взятие биопсийного материала слизистой оболочки желудка для бактериологического исследования на *H. pylori* не исключает других методов диагностики (например, проведение быстрого уреазного теста или гистологического исследования).

Отрицательный результат быстрого уреазного теста или других методов диагностики *H. pylori* не

Контактный адрес:
Наталья Николаевна Дехнич
Эл. почта: n.dekhnich@antibiotic.ru

исключает возможности выделения данного возбудителя бактериологическим методом, в связи с чем в ходе эндоскопического исследования осуществляется взятие двух биопсийных образцов из антрального отдела желудка (на 2–3 см от привратника на передней и задней стенке) и двух из тела желудка (10 см от кардии по большой кривизне).

Хранение и транспортировка материала до первичного посева

Четыре биоптата немедленно помещаются в транспортную пробирку. В случае если предполагаемое время от взятия материала до доставки в микробиологическую лабораторию не превышает 6 ч, используется стерильная плотно закрывающаяся пробирка с 0,1 мл фосфатно-солевого буфера.

Если доставка образцов будет осуществляться в течение 6–48 ч, в качестве транспортной среды используется Portagerm pylori (BioMerieux, Франция). Хранение и транспортировка образцов осуществляется при температуре +4°C в защищенном от света месте.

При необходимости длительного хранения (до 6 мес), биоптаты могут храниться в 20–25% глицериновом бульоне при температуре –70 °С, однако в этом случае жизнеспособность *H. pylori* и вероятность положительного результата бактериологического исследования снижаются.

Первичный посев

Перед посевом биопсийный материал помещается в 0,5 мл стерильного физиологического раствора и гомогенизируется в пробирке типа эппендорф при помощи стерильной микробиологической петли в течение 1 мин или электрическим гомогенизатором при 10 тыс. об/мин в течение 10–20 с. Затем по 2 капли гомогенизированного раствора помещают на поверхность чашек с неселективной (кровяной агар: основа агар Мюллера–Хинтон с добавлением 5% бараньей или лошадиной крови) и селективной (Pylori agar, BioMerieux, Франция) питательными средами. Посев производится сплошным газоном с помощью шпателя Дригальского или бактериологической петли.

Чашки с посевами немедленно помещают в анаэроб-контейнер (GENbox, BioMerieux,

Франция), где с помощью коммерческих газогенерирующих пакетов (GENbox microaer, BioMerieux, Франция, или Campy Pak, Becton Dickinson, США) создается микроаэрофильная атмосфера (O₂ – 11%, CO₂ – 9%, N₂ – 80%). Также для создания микроаэрофильной атмосферы может применяться прибор «Аноксомат» (Advanced Instruments, Великобритания).

Посевы инкубируются в термостате при температуре 35–37°C и влажности 95%. Учет результатов посева проводится через 4 сут. На кровяном и Pylori агаре на 3–5-е сутки при первичном посеве, а так же на 2–3-и сутки при пересевах чистой культуры, *H. pylori* формирует мелкие, круглые, гладкие, прозрачные, похожие на «капли росы» колонии диаметром 1–3 мм. В случае отсутствия признаков роста, инкубация продляется до 10 суток.

Идентификация *H. pylori*

Идентификация на основе фенотипических и биохимических свойств. При получении роста колоний по морфологии сходных с *H. pylori* проводится их предварительная идентификация, которая включает в себя окраску мазка по Граму и 3 биохимических теста – уреазный, каталазный и оксидазный (табл. 1).

Идентификация с применением время-пролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS). Для идентификации *H. pylori* может использоваться профилирование рибосомальных белков с использованием метода MALDI-TOF MS (при этом необходима специфическая пробоподготовка исследуемой культуры в соответствии с рекомендациями производителя).

Идентификация с применением молекулярно-генетических методов. Существуют коммерческие тест-системы на основе технологии амплификации нуклеиновых кислот, прежде всего – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Данный метод является особенно перспективным для прямого выявления ДНК/РНК *H. pylori*, а также отдельных генетических детерминант вирулентности и резистентности не только в выделенной культуре микроорганизма, но и непосредственно в клиническом материале.

Таблица 1. Идентификация *H. pylori*

Окраска по Граму	Характер роста на селективной среде	Уреаза	Каталаза	Оксидаза
Грамотрицательные извитые S-образные палочки	При культивировании в микроаэрофильной атмосфере, повышенной влажности при 35–37 °С на Pylori agar через 3–5 сут образуются мелкие, круглые, гладкие, прозрачные как «капли росы» колонии диаметром 1–3 мм	+++	+	+

Таблица 2. Методы определения чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам

	Микроразведения в бульоне	Разведения в агаре	Etest® (bioMérieux, Франция)	MIC Test Strip (Liofilchem, Италия)
Среда	Катионсбалансированный бульон Мюллера–Хинтон + 5% лизированная лошадиная кровь и 20 мг/л β -NAD	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон + 5% дефибрированная лошадиная кровь и 20 мг/л β -NAD	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон ¹ + 5% лошадиная или баранья кровь (≥ 2 нед.)	Катионсбалансированный агар Мюллера–Хинтон + 5% баранья кровь
Инокулом	≥ 48 -часовую культуру, разведенную в 3–5 мл стерильного физиологического раствора до достижения плотности, эквивалентной стандарту мутности 2 по МакФарланду с непосредственной последующей инокуляцией	≥ 48 -часовую культуру, разведенную в 3–5 мл стерильного физиологического раствора до достижения плотности, эквивалентной стандарту мутности 2 по МакФарланду с непосредственной последующей инокуляцией	≥ 72 -часовую культуру суспендировать в бульоне (Мюллера–Хинтон или др.) с добавлением 5% сыворотки крови. Довести до мутности 3 по МакФарланду. На 1 чашку диаметром 90 мм поместить 1 полоску Etest.	≥ 72 -часовую культуру суспендировать в бульоне (Мюллера–Хинтон или др.) с добавлением 5% сыворотки крови. Довести до мутности 3 по МакФарланду. На 1 чашку диаметром 90 мм поместить 1 полоску MIC Test Strip.
Инкубация	Температура 35–37 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого роста)	Температура 35–37 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого роста)	Температура 35 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого эллипса вокруг полоски Etest).	Температура 35 \pm 2 °С. Атмосфера микроаэрофильная ² . Длительность ≥ 72 ч (до появления хорошо видимого эллипса вокруг полоски MIC Test Strip).
Учет результата	За значение МПК принимается наименьшая концентрация антибиотика, при которой наблюдается значимое снижение мутности	Колонии <i>H. pylori</i> мелкие, прозрачные и трудноразличимые. Поэтому при определении значения МПК используйте увеличительное стекло или смотрите на поверхность чашки под углом. Для бактерицидных препаратов (амоксциллин, левофлоксацин, метронидазол, рифампицин) значение МПК соответствует полному отсутствию роста микроорганизма, включая микроколонии, «пылевидный» рост и отдельные колонии. Для бактериостатических препаратов (кларитромицин, тетрациклин) при «размытой» зоне подавления роста учитывайте 80% от края зоны ингибирования роста.		

¹ Рекомендован агар Мюллера–Хинтон производства «Becton Dickinson» (США) ввиду наиболее высокой стабильности качества между различными партиями среды.

² Для метронидазола первые 24 ч инкубации в анаэробных условиях, затем ≥ 48 ч – в микроаэрофильных условиях.

Таблица 3. Критерии оценки чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам, (EUCAST, v.4.0).

Препарат	Референсные значения МПК (мг/л) для контрольного штамма <i>H. pylori</i> ATCC 43504 (NCTC 11637)	МПК, мг/л	
		Чувствительный ¹ , \leq	Резистентный ¹ , $>$
Амоксициллин	0,015–0,12	0,12	0,12
Кларитромицин	0,015–0,12	0,25	0,5
Левофлоксацин	– ²	1,0	1,0
Тетрациклин	0,12–1	1,0	1
Метронидазол	64–256	8,	8,0
Рифампицин	– ²	1,0	1,0

¹ данные критерии не являются клиническими, а представляют собой эпидемиологические пограничные значения, разделяющие штаммы с природной чувствительностью и штаммы со сниженной чувствительностью.

² референсные значения МПК для данного контрольного штамма отсутствуют.

Хранение штаммов

Выделенные штаммы хранятся в пробирках с триптиказо-соевым бульоном с добавлением 30% стерильного глицерина при температуре -70°C .

Определение чувствительности

В соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing – EUCAST) исследование чувствительности *H. pylori* проводится путем определением *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) либо методами разведения в бульоне или агаре, либо с использованием коммер-

ческих тестов (в соответствии с рекомендациями производителя). Методы определения МПК антимикробных препаратов для *H. pylori* приведены в табл. 2.

Рекомендуется определять чувствительность *H. pylori* к амоксицилину, кларитромицину, тетрациклину, метронидазолу, а также, при необходимости, к левофлоксацину и рифампицину. При тестировании используются двойные серийные разведения химически чистых субстанций антибиотиков.

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *H. pylori* к антимикробным препаратам, а также референсные значения МПК для контрольного штамма представлены в табл. 3.

Введение антибиотиков в дыхательные пути: способы повышения эффективности при лечении госпитальной пневмонии

А.А. Биркун

Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского, Симферополь, Россия

При наличии весомых теоретических преимуществ, методика введения антибактериальных препаратов в дыхательные пути с целью лечения острой пневмонии все еще не нашла широкого применения в клинической практике. Ограничением на пути внедрения методики служит не только недостаток достоверных клинических данных, подтверждающих результативность такой терапии, но и сомнения относительно эффективности доставки антибиотика в очаг инфекции. В статье представлен обзор

способов повышения эффективности противомикробной терапии при введении антибиотиков в дыхательные пути. В частности, обсуждается использование экзогенного легочного сурфактанта как перспективного средства доставки эндотрахеально введенных противомикробных препаратов.

Ключевые слова: пневмония, антибактериальная терапия, легочный сурфактант, ингаляция, инстилляционная, *Pseudomonas aeruginosa*, heliox, перфторуглерод, сухой порошок.

Administration of Antimicrobials into Respiratory Tract: Methods to Improve Efficacy in the Treatment of Hospital-Acquired Pneumonia

A.A. Birkun

Crimean State Medical University named after S.I. Georgievskiy, Simferopol, Russia

Despite the availability of substantial theoretical benefits, the method of antibacterial administration via the respiratory tract to treat acute pneumonia has yet to be widely implemented in clinical practice. The introduction of the method is restricted both by deficit of reliable clinical data to prove the effectiveness of such therapy, and by doubts as for efficacy of antibiotic delivery into the focus of pulmonary infection. The article presents a review of

methods for enhancement of antibacterial therapy when administered via respiratory pathways. In particular, use of exogenous pulmonary surfactant as a promising agent for delivery of intratracheally administered antibiotics is discussed.

Key words: pneumonia, antimicrobial therapy, pulmonary surfactant, inhalation, instillation, *Pseudomonas aeruginosa*, heliox, perfluorocarbon, dry powder.

Контактный адрес:
Алексей Алексеевич Биркун
Эл. почта: birkunalexei@gmail.com

Тогда как эффективность антибактериальной терапии *нозокомальной пневмонии* (НП) зависит от накопления достаточного количества антибиотика в очаге инфекции, способность внутривенно или внутримышечно введенных антибиотиков проникать в легочную ткань может быть существенно ограничена [1, 2]. Острая пневмония, кроме того, сопровождается легочной вазоконстрикцией и региональным тромбозом, что приводит к нарушениям перфузии и дополнительному ухудшению проникновения антибиотиков в паренхиму легких из кровотока [3]. Как следствие, даже при правильном первоначальном выборе антибиотика эффективность лечения бывает недостаточной, что может потребовать увеличения доз и приводит к повышению риска развития системных токсических эффектов. Формирование недостаточной концентрации антибиотика в очаге инфекции также является фактором, который в значительной мере предрасполагает к селекции полирезистентных штаммов микроорганизмов [3].

Введение антибактериальных препаратов в дыхательные пути может обеспечивать высокую концентрацию антибиотика в очаге легочной инфекции при низком уровне проникновения препарата в системный кровоток и, следовательно, низком уровне системной токсичности [2, 4].

В настоящее время ведущие научные сообщества, разрабатывающие рекомендации по лечению респираторных инфекций, не поддерживают использование ингаляций или инстилляций антибиотиков в качестве стандартного лечения, ссылаясь на недостаток достоверных клинических данных, подтверждающих эффективность такой терапии [5, 6]. Так, в рекомендациях по лечению НП Американского торакального общества [5] ингаляционное введение антибиотиков рассматривается лишь как вспомогательный метод лечения пневмонии, вызванной полирезистентными грамотрицательными микроорганизмами, при отсутствии эффекта от системной антибактериальной терапии.

Одним из ограничений для широкого применения аэрозольной и инстилляционной антибактериальной терапии при НП является отсутствие уверенности в целевой доставке раствора антибиотика в очаг воспаления [2]. Создание недостаточной концентрации антибиотика в пневмоническом очаге может быть обусловлено как несовершенством технологии введения препарата, так и структурно-функциональными особенностями воспалительного процесса.

Эффективность аэрозольной терапии зависит, в частности, от типа небулайзера, размера частиц аэрозоля, режима ИВЛ, структуры дыхательного

контура [2, 7, 8]. Известно, что большое количество частиц, генерируемых традиционно применяемыми небулайзерами, при механической вентиляции оседает в дыхательном контуре и трахеобронхиальном дереве, не достигая альвеолярного отдела легких, тогда как небулайзеры нового поколения (так называемые меш-небулайзеры; англ. *vibrating-mesh nebulisers*) способны существенно повысить эффективность аэрозольной терапии [9]. Оптимизированная техника ингаляции позволяет доставлять в дистальные отделы легких от 40 до 60% дозы антибиотика, введенной в небулайзер [3].

Однако даже наиболее совершенные аппараты и методы ингаляции или инстилляций, с помощью которых достигается высокая концентрация антибиотика в трахее и бронхах, не гарантируют высокого содержания препарата в очаге инфекции [2]. Как у экспериментальных животных, так и у человека развитие острой пневмонии (в том числе НП) может сопровождаться множественной обструкцией бронхиол вязким гнойным секретом, который препятствует проникновению введенного в дыхательные пути антибиотика в инфицированную легочную паренхиму [7]. Чем тяжелее протекает пневмония, тем хуже происходит распределение ингалированного антибиотика в инфицированных отделах легких [10]. Кроме того, при легочной инфекции возрастает проницаемость альвеолокапиллярного барьера, что приводит к усиленному проникновению введенных в дыхательные пути антибиотиков в кровоток, увеличению риска системного токсического воздействия и снижению концентрации антибиотика в легочной ткани [7].

В связи с описанными ограничениями противомикробной терапии при введении антибиотиков в дыхательные пути, представляется целесообразной разработка способов повышения ее эффективности, которые бы учитывали особенности патогенеза острого воспалительного процесса в легких.

Использование смеси гелия с кислородом (*Heliox*[®]) может улучшать распределение частиц аэрозоля в дыхательных путях как при спонтанном дыхании, так и при заполнении дыхательного контура во время ИВЛ [2]. Гелиево-кислородная смесь в основном изучается как средство доставки аэрозоля бронхолитиков при лечении бронхиальной астмы и обструктивной болезни легких [11–14]. Эффективность применения смесей гелия с кислородом и азота с кислородом в качестве носителей аэрозольных частиц антибиотика (цефтазидима) при экспериментальной пневмонии была изучена М. Tonnelier и соавт. [15]. По сравнению с внутривенным введением, аэрозольная терапия сопровождалась увеличением внутрилегочной кон-

центрации цефтазидима в 5–30 раз. Использование гелиево-кислородной смеси способствовало существенному дополнительному увеличению концентрации цефтазидима в легочной ткани здоровых поросят, однако у животных с пневмонией подобного эффекта не наблюдалось [15]. Роль гелиево-кислородной смеси при ингаляции антибиотиков больным с острым воспалением легких требует дальнейшего изучения.

Перфторуглеродные соединения при введении в дыхательные пути способны распространяться в периферических отделах легких и раскрывать ателектазированные участки, что приводит к улучшению газообмена и оказывает положительное влияние на течение острого легочного повреждения [16–19]. Учитывая эту особенность перфторуглеродов, предложено использовать их в качестве средств, улучшающих доставку антибиотиков в пневмонический очаг при проведении жидкостной вентиляции легких. А. R. Franz и соавт. [20] применяли интратрахеальное введение смеси эмульсий перфторуглерода и антибиотиков (гентамицина и ванкомицина) кроликам с нормальным или пониженным содержанием сурфактанта. При инстиляции комплекса перфторуглерод–антибиотик внутрилегочная концентрация гентамицина и ванкомицина была выше, чем при внутривенном введении антибактериальных препаратов в терапевтической дозе. Высказано предположение, что инстиляционное введение антибактериальных препаратов на фоне жидкостной вентиляции легких может оказывать положительное влияние при лечении тяжелых форм пневмонии [20]. Другая группа исследователей подтвердила эффективность введения комбинации антибиотика и перфторуглерода с целью профилактики вентилятор-ассоциированной пневмонии у крыс [21]. M. J. Jeng и соавт. [22] продемонстрировали лучшее накопление меропенема в легочной ткани поросят с экспериментальным острым повреждением легких при интратрахеальном введении в сочетании с перфторуглеродом по сравнению с инстиляцией антибиотика с физраствором.

В качестве альтернативы стандартной аэрозольной антибактериальной терапии в некоторых случаях могут применяться ингаляции антибиотиков в форме сухого порошка [23, 24, 25]. Такие ингаляции легко выполняются при помощи портативных устройств, не требуют больших затрат времени и сложного дорогостоящего оборудования [26]. В исследовании с участием здоровых добровольцев показано, что при ингаляции сухого порошка тобрамицина, изготовленного с применением технологии Pulmosphere™, антибиотик распределялся

в легких в 9 раз эффективнее, чем при обычной небулайзерной терапии [27], а последующие клинические исследования у больных муковисцидозом подтвердили эффективность и безопасность этого метода при лечении хронической инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* [28, 29]. В настоящее время разрабатываются и проходят испытания новые препараты антибиотиков для ингаляций в форме сухого порошка, которые возможно позволят использовать этот метод для лечения других форм легочной инфекции [30, 31, 32].

Использование липосомальных частиц в качестве средств доставки лекарственных препаратов было предложено более 40 лет назад. Липосомальные препараты производятся в промышленных масштабах и успешно применяются в различных областях клинической медицины [33, 34, 35, 36]. Липосомы представляют собой сферические частицы размером от нескольких нанометров до микрометров, мембрана которых образована естественными или синтетическими фосфолипидами (как правило, фосфатидилхолином) [37, 38]. Благодаря наличию одного или нескольких бимолекулярных липидных слоев, окружающих водную сердцевину, липосомы способны заключать в себе как гидрофобные, так и гидрофильные препараты [39]. В составе липосом лекарственные вещества защищены от быстрого разрушения и разведения в организме, что способствует повышению эффективности лечения и снижению токсичности [40]. Естественные или близкие к натуральным компоненты липосом нетоксичны, обладают свойствами биodeградации и биосовместимости, не вызывают антигенных или пирогенных реакций [34]. Фармакокинетические и фармакодинамические свойства липосом поддаются модификации путем изменения липидного состава, размера или заряда. Например, обработка поверхности липосом полиэтиленгликолем увеличивает продолжительность их существования за счет уменьшения захвата макрофагами [34].

Активно изучаются возможности включения специальных лигандов в состав фосфолипидных мембран липосом для улучшения целенаправленной доставки липосомальных препаратов [41–43]. Помимо перечисленных преимуществ липосомальных систем, применительно к антибактериальной терапии важно отметить, что липосомы, благодаря сходству билипидного слоя с клеточной мембраной, способны сливаться с бактериальными клетками, обеспечивая немедленное и непосредственное воздействие высокой дозы антибиотика на возбудителя инфекции [38]. Наряду с результатами доклинических испытаний экспериментальных препаратов [44–50], об эффективности и приемлемом про-

филе безопасности липосомальных антибиотиков при введении в дыхательные пути свидетельствует ряд клинических исследований [51–53]. В частности, продемонстрировано благоприятное влияние аэрозольного введения липосомальной формы амикацина (Amikase, Inamed, США) на микробиологические показатели и функцию легких при лечении инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, у пациентов с муковисцидозом [53]. На завершающей стадии клинической разработки находится липосомальная форма цiproфлоксацина для ингаляционного применения (Pulmaquin™, Aradigm Corp., США) [54]. У пациентов с бронхоэктазами этот препарат показал высокую эффективность в отношении *P. aeruginosa* при благоприятном профиле переносимости [55]. Недостатки применения липосомальных частиц в качестве системы доставки антибиотиков включают высокую стоимость сырья и оборудования для производства, сложность стерилизации (липосомы чувствительны к высокой температуре и некоторым видам излучения) и быстрое поглощение липосом клетками ретикулоэндотелиальной системы [34].

Экзогенный легочный сурфактант (англ. *surfactant, surface active agent*) обладает уникальными поверхностно-активными свойствами, благодаря которым он может использоваться в лечении воспалительных заболеваний легких не только с целью заместительной коррекции нарушений сурфактантной системы, но и в качестве средства доставки лекарственных препаратов в легочную паренхиму [56].

Легочный сурфактант представляет собой липопротеиновый комплекс, который синтезируется альвеолоцитами II типа в легких человека и обеспечивает ряд важнейших физиологических функций. Приблизительно на 90% сурфактант представлен липидами, 80–85% из которых — фосфолипиды, на 10% — белками сурфактанта [57, 58]. Основной фракцией (70–85%) фосфолипидов сурфактанта, обладающей выраженными поверхностно-активными свойствами, является дипальмитоилфосфатидилхолин [59]. Белки сурфактанта подразделяются на две основные группы — гидрофильные белки SP-A и SP-D и гидрофобные белки SP-B и SP-C [60, 61]. После выхода компонентов сурфактанта из альвеолоцитов, гидрофобные белки SP-B и SP-C способствуют адсорбции и распределению фосфолипидов сурфактанта на поверхности альвеолярного эпителия с образованием мономолекулярного слоя [57, 58]. Снижая поверхностное натяжение на границе фаз воздух–жидкость, слой сурфактанта обеспечивает нормальную альвеолярную вентиляцию и газообмен, а также предупреждает коллапсирование альвеол и развитие ателектаза [62]. В то же

время, дефицит или дисфункция компонентов сурфактантной системы при морфофункциональной незрелости легких и воспалительных процессах, включая острую пневмонию, приводят к тяжелой дыхательной недостаточности [59, 63–66].

Чем меньше диаметр периферических дыхательных путей, тем большее давление требуется жидкостям с высоким поверхностным натяжением (например, физиологическому раствору) для проникновения в дистальные отделы легких [60]. В отличие от физраствора, экзогенный сурфактант после интратрахеального введения быстро распространяется в периферических дыхательных путях, благодаря движущей силе, обусловленной градиентом поверхностного натяжения между инстиллированным сурфактантом и жидкостью, выстилающей бронхиолы (эффект Марангони) [67]. Тем самым экзогенный сурфактант может улучшать распространение жидкостей с высоким поверхностным натяжением (включая растворы лекарственных средств) в дистальных дыхательных путях, выступая в роли поверхностно-активного проводника [68].

Положительное влияние экзогенного сурфактанта на распределение раствора в дистальных дыхательных путях, а также тот факт, что сурфактант способствует расправлению коллабированных участков легких, где нередко локализуется воспалительный процесс [61], послужили основой для проведения исследований в области потенциального применения экзогенного сурфактанта или его компонентов в качестве системы, улучшающей доставку лекарственных препаратов в паренхиму легких [69].

J.P. Katkin и соавт. [70] установили, что при использовании бычьего сурфактанта в качестве носителя аденовирусного вектора, последний распределялся в легких крыс более однородно и накапливался в легочной ткани в большем количестве, чем при введении с физраствором. Положительные эффекты применения свиного сурфактанта в качестве средства, улучшающего внутрилегочное распределение ингибитора 5-липоксигеназы, были продемонстрированы у поросят с экспериментальным острым легочным повреждением [71]. Улучшением абсорбции инсулина и уменьшением легочного повреждения характеризовалось интратрахеальное введение здоровым крысам комбинации инсулина и синтетического сурфактанта [72].

Наиболее активно в настоящее время изучается использование сурфактанта для повышения эффективности эндотрахеальной терапии глюкокортикоидами [67, 73–78]. A. J. Nimmo и соавт. [73] при введении дексаметазона в сочетании с сур-

фактантом в трахею здоровых крыс продемонстрировали равномерное периферическое распределение меченого радиоактивным изотопом глюкокортикоида во всех долях легких. Позже, в рамках проспективного рандомизированного исследования установлено, что у недоношенных детей с тяжелым *респираторным дистресс-синдромом* (РДС) комбинация будесонида и экзогенного сурфактанта обладает существенными преимуществами по сравнению с монотерапией сурфактантом по показателям летальности и распространенности заболевания легких [67]. С помощью модели РДС, вызванного у новорожденных поросят многократным промыванием легких раствором натрия хлорида, С. F. Yang и соавт. [78] показали, что в сравнении с интратрахеальным введением чистого сурфактанта комбинированное применение будесонида и сурфактанта характеризуется значительно лучшими показателями оксигенации, существенно менее выраженным повреждением ткани легких, а также тенденцией к уменьшению активности провоспалительных цитокинов. Кроме того, преимущества сочетанного интратрахеального введения будесонида и свиного сурфактанта показаны у животных с экспериментальной моделью синдрома аспирации мекония [77].

V. S. Kharasch и соавт. [68] впервые *in vivo* продемонстрировали эффект применения экзогенного сурфактанта в качестве средства, улучшающего доставку антибиотика в дистальные отделы легкого. В сравнении с раствором натрия хлорида эндотрахеально введенный экзогенный сурфактант обеспечивал значительно более эффективное (однородное и периферическое) распределение меченого радиоактивным изотопом коллоида в смеси с пентамидином в легких здоровых хомяков [68].

Дальнейшие исследования в этой области проводились группой голландских ученых под руководством А. van 't Veen [79–82]. Ими проведены эксперименты, которые позволили оценить возможное взаимное влияние экзогенного сурфактанта и нескольких антибиотиков *in vitro*. При смешивании в одном объеме бычий сурфактант не оказывал негативного влияния на бактерицидную активность амоксициллина и цефтазида, но снижал антибактериальный эффект тобрамицина, а четырехкратное увеличение концентрации последнего ликвидировало этот негативный эффект [79]. На следующем этапе было изучено влияние антибиотиков (амоксициллина, цефтазида, тобрамицина, амфотерицина В и пентамидина) на поверхностно-активные свойства сурфактанта [80]. *In vitro* показатели минимальной поверхностной активности смесей антибиотиков с сурфактантом

были аналогичны активности чистого сурфактанта. В то же время *in vivo*, у крыс с экспериментальным дефицитом сурфактанта, амоксициллин, тобрамицин и амфотерицин В существенно снижали активность экзогенного сурфактанта, о чем свидетельствовали показатели парциального давления кислорода в артериальной крови. Цефтазидим и пентамидин не оказывали подобного влияния, а негативный эффект тобрамицина устранялся благодаря использованию в качестве растворителя буфера 0,2М NaHCO₃ вместо физраствора [80]. Подчеркнув целесообразность предварительного изучения возможных взаимных эффектов антибиотиков и сурфактанта, van 't Veen и соавт. [81] оценили влияние интратрахеальной инстилляцией тобрамицина в сочетании с экзогенным сурфактантом на выживаемость крыс с респираторной инфекцией, вызванной *Klebsiella pneumoniae*. Результаты исследования свидетельствовали о существенных преимуществах комбинированной сурфактант-антибактериальной терапии по сравнению с монотерапией сурфактантом или антибиотиком [81].

Е. Herting и соавт. [83] использовали экзогенный сурфактант в качестве средства доставки антибактериальных поликлональных антител в легкие новорожденных кроликов с пневмонией, вызванной стрептококком группы В. Установлено, что комбинированный режим подавлял размножение бактерий более эффективно по сравнению с изолированным введением антител или сурфактанта [83].

Применение интратрахеальных инстилляций смеси модифицированного свиного сурфактанта и полимиксина В с целью превентивного лечения пневмонии, вызванной *Escherichia coli* у новорожденных кроликов, изучено G. Stichtenoth и соавт. [84]. Комбинированная терапия способствовала существенному угнетению пролиферации бактерий в ткани легких и предупреждала развитие бактериального сепсиса при отсутствии отрицательного влияния на функцию легких [84].

В настоящее время также проводятся исследования в области разработки дипальмитоилфосфатидилхолинсодержащих липосом для ингаляционного введения противотуберкулезных препаратов [85,86], моксифлоксацина и офлоксацина [87].

Исследования комбинированной сурфактант-антибактериальной терапии острой пневмонии проведены в Крымском государственном медицинском университете им. С. И. Георгиевского [88–91]. В рамках первого этапа, проведенного *in vitro*, было изучено взаимное влияние антибиотиков (амикацина, цефепима и колистиметата натрия) и препарата натурального свиного легочного сурфактанта (Сузакрин, Докфарм, Республика

Крым) на поверхностную активность и антибактериальные свойства [91]. Этот этап позволил определить оптимальный антибиотик для сочетания с сурфактантом — амикацин. Смешивание амикацина с сурфактантом в одном объеме не оказывало существенного влияния на поверхностно-активные свойства сурфактанта и не приводило к снижению противомикробной активности амикацина, тогда как сочетания сурфактанта с цефепимом или колестиметатом натрия характеризовались негативным влиянием на поверхностную и (или) антибактериальную активность [91]. Последующая комплексная оценка эффективности комбинированной сурфактант-антибактериальной пневмонии осуществлялась с использованием модели острой пневмонии, вызванной эндотрахеальным введением суспензии *P. aeruginosa* лабораторным животным [88–90]. В популяции крыс с острой бактериальной пневмонией интратрахеальная инстилляционная смеси сурфактант-амикацин приводила к явному снижению бактериальной контаминации дыхательных путей, ограничению бактериемии, подавлению гранулоцитарного ответа, а также уменьшению результирующего воспалительного повреждения легочной ткани. Комбинация сурфактант-амикацин характеризовалась большей выраженностью этих эффектов по сравнению с чистым амикацином. Кроме того, комбинированная терапия сдерживала снижение поверхностной активности проб бронхоальвеолярного смыва. Учитывая, что *in vitro* при смешивании в одном объеме поверхностная активность и антибактериальные свойства сурфактанта и амикацина оставались без изменений, создается впечатление, что вышеописанные положительные эффекты комбинированной терапии у крыс с пневмонией скорее обусловлены более эффективной доставкой антибиотика в респираторный отдел легких, чем прямым взаимным влиянием ингредиентов экспериментальной комбинации [88–91].

При использовании экзогенного сурфактанта в качестве средства для повышения эффективности антибактериального лечения воспалительных заболеваний легких большую роль могут сыграть его известные терапевтические эффекты, связанные с заместительной коррекцией нарушений сурфактантной системы. Патогенные бактерии, инфицирующие нижние дыхательные пути, воздействуют на систему сурфактанта различными путями, снижая внутриальвеолярное содержание белковых и липидных компонентов, угнетая биосинтез сурфактанта или подавляя его секрецию [58, 92]. Протеаза IV *P. aeruginosa* не только способствует деградации белков сурфактанта SP-A и SP-D, участвующих в защите организма от бактериальной инфекции [93], но

и воздействует на SP-B, ответственный за поддержание альвеол в открытом состоянии [94]. Некоторые штаммы *P. aeruginosa* снижают уровень фосфолипидов сурфактанта путем угнетения транскрипции гена цитидилтрансферазы, необходимой для синтеза фосфатидилхолина [95]. В сочетании с подавлением транскрипции генов SP-B и SP-C это приводит к нарушению стабильности сурфактантной пленки. Ингибирующим влиянием на синтез и секрецию фосфолипидов сурфактанта также обладают компоненты клеток *P. aeruginosa*, такие как липополисахариды. Кроме того, угнетение выработки сурфактанта при бактериальной инфекции может происходить в результате высвобождения цитокинов клетками иммунной системы [95]. Сопутствующая протеолитическая активность бактериальных и иммунных клеток приводит к повреждению альвеолярно-капиллярного барьера и повышению его проницаемости для белков крови, усугубляющих нарушения поверхностной активности сурфактанта [96].

В настоящее время терапия экзогенным сурфактантом является стандартом профилактики и лечения РДС новорожденных [62, 97]. Это обосновывается результатами более чем 400 клинических исследований, свидетельствующих, что введение сурфактанта уменьшает потребность в кислороде и вентиляционной поддержке, а также снижает показатели смертности новорожденных с РДС [61, 98]. Известно о благоприятных эффектах сурфактантной терапии при лечении детей с синдромом аспирации мекония, вирусной и бактериальной пневмонией [62, 97]. Хотя положительное влияние сурфактантной терапии на показатели выживаемости взрослых пациентов с острым легочным повреждением достоверно не подтверждено, результаты некоторых исследований свидетельствуют, что инстилляционная экзогенного сурфактанта улучшают показатели газообмена [61, 96, 99].

Учитывая описанные патогенетические аспекты дисфункции сурфактантной системы при бактериальной инфекции легких, а также положительные эффекты заместительной сурфактантной терапии при различных формах легочного повреждения, резонно предположить, что интратрахеальное введение терапевтических доз сурфактанта с целью оптимизации антибактериальной терапии острой легочной инфекции окажет вспомогательный терапевтический эффект, благодаря качественной и количественной коррекции эндогенного сурфактантного пула.

Заключение

Залогом успеха в лечении НП и преодолении проблемы полирезистентности является правиль-

ный и своевременный выбор антибиотика для эмпирической антибактериальной терапии, а также обеспечение эффективной концентрации этого антибиотика в очаге легочной инфекции. Введение антибиотиков непосредственно в дыхательные пути может существенно повысить результативность лечения НП, благодаря локальному воздействию на возбудителя инфекции в паренхиме легкого, а также уменьшить неблагоприятное системное воздействие антибактериальных препаратов.

В целом данные современной литературы свидетельствуют, что при наличии очевидных теоретических преимуществ и положительных результатов некоторых экспериментальных и клинических исследований, существуют сомнения относительно способности аэрозольных ингаляций и эндотрахеальных инстилляций обеспечивать эффективное распространение раствора антибиотика из дыхательных путей крупного калибра в паренхиму легких у пациентов с НП. В связи с этим в настоящее время осуществляется поиск методов повышения эффективности противомикробной

терапии при введении антибиотиков в дыхательные пути.

Использование экзогенного сурфактанта в качестве средства доставки антибиотиков в очаг легочной инфекции теоретически обладает существенными преимуществами в сравнении с другими предложенными методами. Благодаря своим уникальным поверхностно-активным свойствам, сурфактант при интратрахеальном введении способен перемещать раствор антибиотика в периферические дыхательные пути по градиенту поверхностного натяжения. Расправляя ателектазированные участки легочной ткани, экзогенный сурфактант должен обеспечивать прямое взаимодействие антибиотика с возбудителем в инфицированных отделах. Кроме того, учитывая патогенетические особенности дисфункции собственной сурфактантной системы легких, при НП заместительный эффект инстилляций экзогенного сурфактанта может оказать положительное влияние на газообмен, а также уменьшить дополнительное повреждение легочной ткани.

Список литературы

1. Torres A., Ewig S., Lode H., Carlet J., European HAP working group. Defining, treating and preventing hospital acquired pneumonia: European perspective. *Intensive Care Med* 2009; 35:9-29.
2. Luyt C.E., Combes A., Nieszkowska A., Trouillet J.L., Chastre J. Nosocomial and Ventilator-Associated Pneumonia: Aerosolised treatment for VAP. *Eur Respir Mon* 2011; 53:54-65.
3. Rouby J.J., Bouhemad B., Monsel A., Brisson H., Arbelot C., Lu Q. et al. Aerosolized antibiotics for ventilator-associated pneumonia: lessons from experimental studies. *Anesthesiology* 2012; 117:1364-80.
4. Luyt C.E., Bréchet N., Combes A., Trouillet J.L., Chastre J. Delivering antibiotics to the lungs of patients with ventilator-associated pneumonia: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11:511-21.
5. American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and health care-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:388-416.
6. Masterton R.G., Galloway A., French G., Street M., Armstrong J., Brown E., et al. Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia in the UK: report of the working party on hospital-acquired pneumonia of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:5-34.
7. Chastre J., Luyt C.E. Other therapeutic modalities and practices: Implications for clinical trials of hospital-acquired or ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis* 2010; 51:S54-S58.
8. Abu-Salah T., Dhand R. Inhaled antibiotic therapy for ventilator-associated tracheobronchitis and ventilator-associated pneumonia: an update. *Adv Ther* 2011; 28:728-47.
9. Kollef M.H., Hamilton C.W., Montgomery A.B. Aerosolized antibiotics: do they add to the treatment of pneumonia? *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26:538-44.
10. Lu Q., Girardi C., Zhang M., Bouhemad B., Louchahi K., Petitjean O. et al. Nebulized and intravenous colistin in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive Care Med* 2010; 36:1147-55.
11. Bigham M.T., Jacobs B.R., Monaco M.A., Brill R.J., Wells D., Conway E.M. Helium/oxygen-driven albuterol nebulization in the management of children with status asthmaticus: a randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Crit Care Med* 2010; 11:356-61.
12. Braun Filho L.R., Amantéa S.L., Becker A., Vitola L., Marta V.F., Krümenauer R. Use of helium-oxygen mixture (Heliox®) in the treatment of obstructive lower airway disease in a pediatric emergency department. *J Pediatr (Rio J)* 2010; 86:424-8.
13. Brandão D.C., Britto M.C., Pessoa M.F., de Sá R.B., Alcoforado L., Matos L.O. Heliox and forward-leaning posture improve the efficacy of nebulized bronchodilator in acute asthma: a randomized trial. *Respir Care* 2011; 56:947-52.
14. Alcoforado L., Brandão S., Rattes C., et al. Evaluation of lung function and deposition of aerosolized bronchodilators carried by heliox associated with positive expiratory pressure in stable asthmatics: a randomized clinical trial. *Respir Med* 2013; 107:1178-85.
15. Tonnellier M., Ferrari F., Goldstein I., Sartorius A., Marquette C., Rouby J. Intravenous versus nebulized

- ceftazidime in ventilated piglets with and without experimental bronchopneumonia: comparative effects of helium and nitrogen. *Anesthesiology* 2005; 102:995-1000.
16. Tawfic Q. A., Kausalya R. Liquid ventilation. *Oman Med J* 2011; 26:4-9.
 17. Burkhardt W., Kraft S., Ochs M., Proquitté H., Mense L., Rüdiger M. Persurf, a new method to improve surfactant delivery: a study in surfactant depleted rats. *PLoS One* 2012; 7: e47923. doi:10.1371/journal.pone.0047923.
 18. Murgia X., Mielgo V., Valls-i-Soler A., Ruiz-del-Yerro E., Rey-Santano C. Aerosolized perfluorocarbon improves gas exchange and pulmonary mechanics in preterm lambs with severe respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 2012; 72:393-9.
 19. Rey-Santano C., Mielgo V.E., Gastiasoro E., Alvarez-Diaz F.J., Lafuente H., Valls-i-Soler A. et al. Comparative effects of bronchoalveolar lavage with saline, surfactant, or perfluorocarbon in experimental meconium aspiration syndrome. *Pediatr Crit Care Med* 2012; 13:187-94.
 20. Franz A.R., Röhlke W., Franke R.P., Ebsen M., Pohlandt F., Hummler H.D. Pulmonary administration of perfluorodecaline-gentamicin and perfluorodecaline-vancomycin emulsions. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1595-600.
 21. Dickson E.W., Doern G.V., Trevino L., Mazzoni M., Heard S.O. Prevention of descending pneumonia in rats with perflubron-delivered tobramycin. *Acad Emerg Med* 2003; 10:1019-23.
 22. Jeng M.J., Soong W.J., Chiou S.Y., Wu Y.T., Tsai T.H., Lin C.C. et al. Efficacy of intratracheal instillation of a meropenem/perfluorochemical suspension in acute lung injury. *Pediatr Pulmonol* 2012; 47:189-98.
 23. Schuster A., Haliburn C., D ring G., Goldman M.H.; Freedom Study Group. Safety, efficacy and convenience of colistimethate sodium dry powder for inhalation (Colobreathe DPI) in patients with cystic fibrosis: a randomised study. *Thorax* 2013; 68:344-50.
 24. Stass H., Nagelschmitz J., Willmann S., Delesen H., Gupta A., Baumann S. Inhalation of a dry powder ciprofloxacin formulation in healthy subjects: a phase I study. *Clin Drug Investig* 2013; 33:419-27.
 25. Wahjudi M., Murugappan S., van Merkerk R., Eissens A.C., Visser M.R., Hinrichs W.L. et al. Development of a dry, stable and inhalable acyl-homoserine-lactone-acylase powder formulation for the treatment of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Eur J Pharm Sci* 2013; 48:637-43.
 26. Geller D.E., Weers J., Heuerding S. Development of an inhaled dry-powder formulation of tobramycin using PulmoSphere™ technology. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2011; 24:175-82.
 27. Newhouse M.T., Hirst P.H., Duddu S.P., Walter Y.H., Tarara T.E., Clark A.R. et al. Inhalation of a dry powder tobramycin PulmoSphere formulation in healthy volunteers. *Chest* 2003; 124:360-6.
 28. Konstan M.W., Flume P.A., Kappler M., Chiron R., Higgins M., Brockhaus F. et al. Safety, efficacy and convenience of tobramycin inhalation powder in cystic fibrosis patients: The EAGER trial. *J Cyst Fibros* 2011; 10:54-61.
 29. Konstan M.W., Geller D.E., Minić P., Brockhaus F., Zhang J., Angyalosi G. Tobramycin inhalation powder for *P. aeruginosa* infection in cystic fibrosis: The EVOLVE trial. *Pediatr Pulmonol* 2011; 46:230-8.
 30. Lee S.H., Teo J., Heng D., Ng W.K., Chan H.K., Tan R.B. Synergistic combination dry powders for inhaled antimicrobial therapy: Formulation, characterization and in vitro evaluation. *Eur J Pharm Biopharm* 2012; pii: S0939-6411(12)00285-8. doi:10.1016/j.ejpb.2012.09.002.
 31. Dharmadhikari A.S., Kabadi M., Gerety B., Hickey A.J., Fourie P.B., Nardell E. Phase I, single-dose, dose-escalating study of inhaled dry powder capreomycin: a new approach to therapy of drug-resistant tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:2613-9.
 32. Russo P., Stigliani M., Prota L., Auriemma G., Crescenzi C., Porta A. et al. Gentamicin and leucine inhalable powder: what about antipseudomonal activity and permeation through cystic fibrosis mucus? *Int J Pharm* 2013; 440:250-5.
 33. Hagemester F., Rodriguez M.A., Deitcher S.R., Younes A., Fayad L., Goy A. et al. Long term results of a phase 2 study of vincristine sulfate liposome injection (Marqibo®) substituted for non-liposomal vincristine in cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone with or without rituximab for patients with untreated aggressive non-Hodgkin lymphomas. *Br J Haematol* 2013; 162:631-8.
 34. Hua S., Wu S.Y. The use of lipid-based nanocarriers for targeted pain therapies. *Front Pharmacol* 2013; 21:1-7.
 35. Dicheva B.M., Koning G.A. Targeted thermosensitive liposomes: an attractive novel approach for increased drug delivery to solid tumors. *Expert Opin Drug Deliv* 2014; 11:83-100.
 36. Kraft J.C., Freeling J.P., Wang Z., Ho R.J. Emerging research and clinical development trends of liposome and lipid nanoparticle drug delivery systems. *J Pharm Sci* 2014; 103:29-52.
 37. Alipour M., Suntres Z.E., Halwani M., Azghani A.O., Omri A. Activity and interactions of liposomal antibiotics in presence of polyanions and sputum of patients with cystic fibrosis. *PLoS One* 2009; 28: e5724. doi:10.1371/journal.pone.0005724.
 38. Zhang L., Pornpattananangku D., Hu C.M., Huang C.M. Development of nanoparticles for antimicrobial drug delivery. *Curr Med Chem* 2010; 17:585-94.
 39. Kulkarni P.R., Yadav J.D., Vaidya K.A. Liposomes: a novel drug delivery system. *Int J Curr Pharm Res* 2011; 3:10-8.
 40. Drulis-Kawa Z., Dorotkiewicz-Jach A. Liposomes as delivery systems for antibiotics. *Int J Pharm* 2010; 387:187-98.
 41. Sawant R.R., Torchilin V.P. Challenges in development of targeted liposomal therapeutics. *AAPS J* 2012; 14:303-15.
 42. Allen T.M., Cullis P.R. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Adv Drug Del Rev* 2013; 65:36-48.
 43. Koshkaryev A., Sawant R., Deshpande M., Torchilin V. Immunoconjugates and long circulating systems: origins, current state of the art and future directions. *Adv Drug Del Rev* 2013; 65:24-35.

44. Zhang X., Sun P., Bi R., Wang J., Zhang N., Huang G. Targeted delivery of levofloxacin-liposomes for the treatment of pulmonary inflammation. *J Drug Target* 2009; 17:399-407.
45. Chono S., Suzuki H., Togami K., Morimoto K.. Efficient drug delivery to lung epithelial lining fluid by aerosolization of ciprofloxacin incorporated into PEGylated liposomes for treatment of respiratory infections. *Drug Dev Ind Pharm* 2011; 37:367-72.
46. Sun Q., Shi M., Shao W., Shi Y., Xi Y., Huang G. Tissue distribution and pulmonary targeting studies of cefpiramide sodium-loaded liposomes. *J Drug Target* 2011; 19:49-55.
47. Alhajlan M., Alhariri M., Omri A. Efficacy and safety of liposomal clarithromycin and its effect on *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:2694-704.
48. Alhariri M., Omri A. Efficacy of liposomal bismuth-ethanedithiol-loaded tobramycin after intratracheal administration in rats with pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:569-78.
49. de Jesús Valle M.J., González J. G., López F. G., Navarro A. S. Pulmonary disposition of vancomycin nebulized as lipid vesicles in rats. *J Antibiot (Tokyo)* 2013; 66:447-51.
50. Lewis R. E., Albert N. P., Liao G., Wang W., Prince R. A., Kontoyiannis D. P. High-dose induction liposomal amphotericin B followed by de-escalation is effective in experimental *Aspergillus terreus* pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68:1148-51.
51. Clancy J. P. Clinical trials of lipid-associated aerosolized amikacin: the Arikace™ story. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44:109-212.
52. Weers J., Metzheiser B., Taylor G., Warren S., Meers P., Perkins W.R. A gamma scintigraphy study to investigate lung deposition and clearance of inhaled amikacin-loaded liposomes in healthy male volunteers. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2009; 22:131-8.
53. Clancy J. P., Dupont L., Konstan M. W., Billings J., Fustik S., Goss C. H. Phase II studies of nebulised Arikace in CF patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Thorax* 2013; 68:818-25.
54. Cipolla D., Gonda I., Chan H. K. Liposomal formulations for inhalation. *Ther Deliv* 2013; 4:1047-72.
55. Serisier D. J., Bilton D., De Soyza A., Thompson P. J., Kolbe J., Greville H. W. et al. Inhaled, dual release liposomal ciprofloxacin in non-cystic fibrosis bronchiectasis (ORBIT-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Thorax* 2013; 68:812-7.
56. Sweet D. G., Halliday H. L. The use of surfactants in 2009. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2009; 94:78-83.
57. Gower W. A., Nogee L. M. Surfactant dysfunction. *Paediatr Respir Rev* 2011; 12:223-9.
58. Glasser J. R., Mallampalli R. K. Surfactant and its role in the pathobiology of pulmonary infection. *Microbes Infect* 2012; 14:17-25.
59. Загорулько А. К., Биркун А. А., Новиков Н. Ю. Сурфактантная система легких и заместительная сурфактантная терапия. Симферополь; 1995.
60. Haitsma J. J., Lachmann U., Lachmann B. Exogenous surfactant as a drug delivery agent. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 47:197-207.
61. Moreira L. M., Lyon J. P., Santos F. V., Albertini R., Aimbire F. Endogenous and exogenous pulmonary surfactants: biochemical mechanisms of alveolar actions. *J Med Med Sc* 2010; 1:199-212.
62. Willson D. F., Notter R. H. The future of exogenous surfactant therapy. *Respir Care* 2011; 56:1369-86.
63. Tan K., Lai N. M., Sharma A. Surfactant for bacterial pneumonia in late preterm and term infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 2: CD008155. doi:10.1002/14651858.CD008155.pub2.
64. El-Gendy N., Kaviratna A., Berkland C., Dhar P. Delivery and performance of surfactant replacement therapies to treat pulmonary disorders. *Ther Deliv* 2013; 4:951-80.
65. Lopez E., Gascoin G., Flamant C., Merhi M., Tourneux P., Baud O. et al. Exogenous surfactant therapy in 2013: what is next? Who, when and how should we treat newborn infants in the future? *BMC Pediatr* 2013; 13:165. doi:10.1186/1471-2431-13-165.
66. Polin R. A., Carlo W. A. Surfactant replacement therapy for preterm and term neonates with respiratory distress. *Pediatrics* 2014; 133:156-63.
67. Yeh T. F., Lin H. C., Chang C. H., Wu T. S., Su B. H., L. T. C. et al. Early intratracheal instillation of budesonide using surfactant as a vehicle to prevent chronic lung disease in preterm infants: a pilot study. *Pediatrics* 2008; 121: e1310- e1318. doi:10.1542/peds.2007-1973.
68. Kharasch V. S., Sweeney T. D., Fredberg J., Lehr J., Damokosh A. I., Avery M. E. et al. Pulmonary surfactant as a vehicle for intratracheal delivery of technetium sulfur colloid and pentamidine in hamster lungs. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:909-13.
69. Bernhard W., Pynn C. J. Therapeutic lung surfactants as carriers for other therapeutics -- a matter of vision, courage and determination. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44:1157-58. doi:10.1002/ppul.21123.
70. Katkin J. P., Husser R. C., Langston C., Welty S. E. Exogenous surfactant enhances the delivery of recombinant adenoviral vectors to the lung. *Hum Gene Ther* 1997; 8:171-6.
71. Ankermann T., Reisner A., Wiemann T., Koehler H., Krams M., Krause M. F. Intrapulmonary application of a 5-lipoxygenase inhibitor using surfactant as a carrier reduces lung edema in a piglet model of airway lavage. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41:452-62.
72. Ji Y., Liu C., Pei Y. Y. Artificial pulmonary surfactant as a carrier for intratracheally instilled insulin. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28:744-50.
73. Nimmo A. J., Carstairs J. R., Patole S. K., Whitehall J., Davidson K., Vink R. Intratracheal administration of glucocorticoids using surfactant as a vehicle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29:661-5.
74. Dani C., Corsini I., Burchielli S., Cangiamila V., Longini M., Paternostro F. et al. Natural surfactant combined with beclomethasone decreases oxidative lung injury in the preterm lamb. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44:1159-67.

75. Yang C.F., Jeng M.J., Soong W.J., Lee Y.S., Tsao P.C., Tang R.B. Acute pathophysiological effects of intratracheal instillation of budesonide and exogenous surfactant in a neonatal surfactant-depleted piglet model. *Pediatr Neonatol* 2010; 51:219-26.
76. Wang Y.E., Zhang H., Fan Q., Neale C.R., Zuo Y.Y. Biophysical interaction between corticosteroids and natural surfactant preparation: implications for pulmonary drug delivery using surfactant as a carrier. *Soft Matter* 2012; 8:504-11.
77. Mikolka P., Mokrá D., Kopincová J., Tomčíková-Mikušáková L., Calkovská A. Budesonide added to modified porcine surfactant Curosurf may additionally improve the lung functions in meconium aspiration syndrome. *Physiol Res* 2013; 62: S191-200.
78. Yang C.F., Lin C.H., Chiou S.Y. Intratracheal budesonide supplementation in addition to surfactant improves pulmonary outcome in surfactant-depleted newborn piglets. *Pediatr Pulmonol* 2013; 48:151-9.
79. van 't Veen A., Mouton J. W., Gommers D. Influence of pulmonary surfactant on in vitro bactericidal activities of amoxicillin, ceftazidime, and tobramycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:329-33.
80. van 't Veen A., Gommers D., Mouton J. W., Kluytmans J.A., Krijt E. J., Lachmann B. Exogenous pulmonary surfactant as a drug delivering agent: influence of antibiotics on surfactant activity. *Br J Pharmacol* 1996; 118:593-8.
81. van't Veen A., Mouton J. W., Gommers D., Lachmann B. Pulmonary surfactant as vehicle for intratracheally instilled tobramycin in mice infected with *Klebsiella pneumoniae*. *Br J Pharmacol* 1996; 119:1145-8.
82. van't Veen A., Gommers D., Verbrugge S. J. Lung clearance of intratracheally instilled ^{99m}Tc-tobramycin using pulmonary surfactant as vehicle. *Br J Pharmacol* 1999; 126:1091-6.
83. Herting E., Gan X., Rauprich P., Jarstrand C., Robertson B. Combined treatment with surfactant and specific immunoglobulin reduces bacterial proliferation in experimental neonatal group B streptococcal pneumonia. *Am J Resp Crit Care Med* 1999; 159:1862-7.
84. Stichtenoth G., Linderholm B., Björkman M.H., Walter G., Curstedt T., Herting E. Prophylactic intratracheal polymyxin B/surfactant prevents bacterial growth in neonatal *Escherichia coli* pneumonia of rabbits. *Pediatr Res* 2010; 67:369-74.
85. Chimote G., Banerjee R. Evaluation of antitubercular drug-loaded surfactants as inhalable drug-delivery systems for pulmonary tuberculosis. *J Biomed Mater Res A* 2009; 89:281-92.
86. Chimote G., Banerjee R. *In vitro* evaluation of inhalable isoniazid-loaded surfactant liposomes as an adjunct therapy in pulmonary tuberculosis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010; 94:1-10.
87. Duan J., Vogt F.G., Li X., Hayes D.Jr, Mansour H.M. Design, characterization, and aerosolization of organic solution advanced spray-dried moxifloxacin and ofloxacin dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) microparticulate/nanoparticulate powders for pulmonary inhalation aerosol delivery. *Int J Nanomedicine* 2013; 8:3489-505.
88. Birkun A.A. Surfactant-enforced treatment of *Pseudomonas*-induced pneumonia. Proceedings of the European Respiratory Society Annual Congress; 2013 Sep 7-11; Barcelona, Spain; 2013. p. 137s.
89. Birkun A.A. III, Krivorutchenko Y. L., Postnikova O. N., Babanin A. A., Novikov N. Y., Fedosov M. I. et al. Efficacy of combined surfactant-amikacin therapy in experimental pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Abstracts from The Aerosol Society Drug Delivery to the Lungs 23 Edinburgh International Conference Centre Edinburgh, Scotland, UK December 5-7, 2012. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2013; 26: A-5.
90. Биркун А. А., Криворутченко Ю. Л., Постникова О. Н., Бабанин А. А., Новиков Н. Ю., Федосов М. И. и др. Микробиологическая и физико-химическая оценка эффективности комбинированной терапии препаратом экзогенного сурфактанта и амикацином при экспериментальной пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*. *Экспериментальна і клінічна медицина* 2013; 58:71-7.
91. Birkun A.A. Exogenous pulmonary surfactant as a vehicle for antimicrobials: assessment of surfactant-antibacterial interactions in vitro. *Scientifica* 2014; 2014, Article ID 930318, 6 pages, 2014. doi:10.1155/2014/930318.
92. Kuang Z., Hao Y., Hwang S., Zhang S., Kim E., Akinbi H. T. et al. The *Pseudomonas aeruginosa* flagellum confers resistance to pulmonary surfactant protein-A by impacting the production of exoproteases through quorum-sensing. *Mol Microbiol* 2011; 79:1220-35.
93. Orgeig S., Hiemstra P.S., Veldhuizen E.J., Casals C., Clark H.W., Haczku A. et al. Recent advances in alveolar biology: evolution and function of alveolar proteins. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 173: S43-S54.
94. Malloy J.L., Veldhuizen R.A., Thibodeaux B.A., O'Callaghan R.J., Wright J.R. *Pseudomonas aeruginosa* protease IV degrades surfactant proteins and inhibits surfactant host defense and biophysical functions. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L409-L418.
95. Wu Y., Xu Z., Henderson F.C., Ryan A.J., Yahr T.L., Mallampalli R.K. Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection reduces surfactant levels by inhibiting its biosynthesis. *Cell Microbiol* 2007; 9:1062-72.
96. Raghavendran K., Willson D., Notter R. H. Surfactant Therapy of ALI and ARDS. *Crit Care Clin* 2011; 27:525-59.
97. Walsh B.K., Daigle B., DiBlasi R.M., Restrepo R.D., American Association for Respiratory Care. AAR Clinical Practice Guideline. Surfactant replacement therapy: 2013. *Respir Care* 2013; 58:367-75.
98. Jobe A.H. Lung maturation: the survival miracle of very low birth weight infants. *Pediatr Neonatol* 2010; 51:7-13.
99. Zhang L.N., Sun J.P., Xue X.Y., Wang J.X. Exogenous pulmonary surfactant for acute respiratory distress syndrome in adults: A systematic review and meta-analysis. *Exp Ther Med* 2013; 5:237-42.

Вирусный гепатит Е у лиц со вторичными иммунодефицитами

В. С. Шилова¹, Т. Н. Рыбалкина¹, Т. А. Семенов¹, Н. В. Каражас¹, Р. Е. Бошнян¹,
С. О. Навольнев¹, С. Н. Кузин², А. М. Шибанов³

¹ ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

² Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

³ Туберкулезная клиническая больница №3 им. Г.А. Захарьина, Москва, Россия

В представленной работе дан сравнительный анализ распространенности гепатитов А, В, С и Е, а также оппортунистических инфекций среди пациентов с иммуносупрессией и среди условно здорового населения. Показана роль гепатита Е как СПИД-ассоциированной инфекции. Установлена наибольшая частота сочетанного выявления антител к вирусу гепатита Е и

гепатита А во всех исследуемых группах. Среди лиц, входивших в группы риска, а также условно здорового населения показано значение вируса гепатита Е как ко-фактора активации или реактивации оппортунистических инфекций.

Ключевые слова: вирусный гепатит Е, серологические маркеры, ВИЧ.

Viral Hepatitis E in Patients with Secondary Immunodeficiency

V. S. Shilova¹, T. N. Rybalkina¹, T. A. Semenenko¹, N. V. Karazhas¹, R. E. Boshyan¹,
S. O. Navolnev¹, S. N. Kuzin², A. M. Shibano³

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

² Moscow Regional Clinical Research Institute named after M.F. Vladimirsky, Moscow, Russia

³ Tuberculosis Clinical Hospital No 3, Moscow, Russia

This paper presents a comparative analysis of distribution of hepatitis A, B, C and E as well as opportunistic infections among immunosuppressed patients and healthy people. Results of this epidemiological study suggest hepatitis E as an AIDS-associated infection. Combination of anti-HEV and anti-HAV antibodies was

the most prevalent in all groups studied. Hepatitis E virus was shown to be a cofactor of activation and reactivation of opportunistic infections among at risk populations and healthy people.

Key words: viral hepatitis E, serological markers, HIV infection.

Введение

В настоящее время проблема *гепатита Е* (ГЕ) привлекает пристальное внимание, как исследователей, так и специалистов практической медицины. На сегодняшний день ГЕ известен как зооантропоноз, так как источниками инфекции, помимо людей, являются все теплокровные животные и птицы [1].

До недавнего времени считалось, что ГЕ относится к энтеральным гепатитам с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя, но в настоящее время уже установлено, что для РНК-содержащего *вируса гепатита Е* (ВГЕ) характерны практически все известные пути передачи. По некоторым данным, заболевание ежегодно поражает до 1 млн человек [2]. Из-за отсутствия вакцины против ГЕ на территории РФ специфическая профилактика не проводится, а заболевание, вызванное ВГЕ, можно отнести к неуправляемым инфекциям.

Контактный адрес:
Наталья Владимировна Каражас
Эл. почта: karazhas@inbox.ru

Диагностирование ГЕ затруднено и основывается только на определении *антител к ВГЕ* (анти-ВГЕ) класса IgM и IgG. Отечественных коммерческих тест-систем для детекции РНК-ВГЕ на настоящий момент не разработано. На территории РФ официальная регистрация ГЕ, в отличие от других вирусных гепатитов, отсутствует. Установлено, что этот вирусный агент способен вызвать высокую летальность (до 30%) среди беременных женщин, для которых характерна физиологическая иммуносупрессия [2]. В последнее время проведенные исследования выявили от 0,8 до 9,3% серопозитивных лиц среди пациентов с заболеваниями печени в эндемичных районах Европы [3] и от 1,8 до 14,3% в России [4]. В научной литературе появились также сведения о том, что у 4% больных с ВИЧ-инфекцией поражение печени обусловлено ВГЕ. Данные по выявлению анти-ВГЕ у ВИЧ инфицированных лиц колеблются от 5 до 21% [5]. Эта категория пациентов имеет высокий риск хронизации ГЕ, в результате иммуносупрессии на фоне основного заболевания ВГЕ способен надолго задерживаться в организме человека (по данным научной литературы, маркеры ГЕ могут выявляться на протяжении 14 лет) [6, 7].

Ассоциация ВИЧ-инфекции с целым рядом других заболеваний, в первую очередь инфекционных, вызванных возбудителями *оппортунистических инфекций* (ОИ), давно аргументированно подтверждена [8]. Вместе с тем, место ГЕ в структуре ВИЧ-ассоциированных инфекций до конца не изучено. Учитывая то обстоятельство, что из ныне известных инфекционных агентов ВИЧ не имеет себе равных по воздействию на иммунную систему, представляется необходимым изучение как можно более широкого спектра возбудителей, способных вызывать у пациента заболевание на фоне развития ВИЧ-инфекции. Также совершенно отсутствуют данные о смешанных с ГЕ инфекциях, так называемых микст-инфекциях.

Цель настоящего исследования — определить распространенность ГЕ в группах риска и сопоставить эти данные с результатами, полученными при обследовании группы сравнения. В состав изучаемых инфекционных заболеваний вошли гепатиты: А, В, С и Е, а также туберкулез, ВИЧ-инфекция, *инфекции*, вызванные *вирусом простого герпеса 1 и 2 типа* (ВПГ1), *вирусом Эпштейна-Барр* (ВЭБИ), *цитомегаловирусом* (ЦМВИ), *вирусом герпеса человека шестого типа* (ВГЧИ-6), а также пневмоцистоз. В качестве группы сравнения были обследованы на наличие маркеров инфекционных заболеваний безвозмездные доноры крови, которые составили группу условно здорового населения без каких-либо заболеваний.

Материал и методы

Основным материалом для исследований стала сыворотка крови, полученная от пациентов с вторичным иммунодефицитом. Были сформированы три исследуемые группы. В первую группу вошли ВИЧ-инфицированные лица ($n=90$), прошедшие скрининговое обследование в МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского. Вторую и третью группы сформировали пациенты, находившиеся на лечении в туберкулезной клинической больнице № 3 им. Г. А. Захарьина: в одну из них вошли больные с различными формами туберкулеза легких ($n=70$), в другую — больные СПИД (в ИБ стадии), у которых ВИЧ-инфекция осложнена развитием активной формы туберкулеза ($n=70$).

«Открытая популяция» доноров численностью 540 человек была выбрана как группа сравнения.

Всего исследовано 770 сывороток крови методом твердофазного иммуноферментного анализа на наличие маркеров гепатитов А, В, С, Е и ОИ: ВПГ-, ВЭБ-, ЦМВ-, ВГЧ-6 инфекций и пневмоцистоза (табл. 1).

Все сыворотки были исследованы с использованием наборов реагентов производства «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) за исключением маркеров пневмоцистоза, которые определяли с помощью набора реагентов «ПневмоцистоСтрип» производства ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, филиал «Медгамал» (Москва). Статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы, рассчитывающей достоверность различия долей признака в двух группах по критерию Стьюдента (t) [9].

Результаты и обсуждение

Первой задачей исследования было определение распространенности анти-ВГЕ среди пациентов с ослабленным иммунитетом, получавших иммуносупрессивную терапию, и сопоставление этих данных с результатами, полученными в группе сравнения (табл. 2).

Как видно из табл. 2, частота обнаружения анти-ВГЕ была наибольшей среди больных СПИД, у которых ВИЧ-инфекция осложнена активной формой туберкулеза (59,9%). В группе ВИЧ-инфицированных и в группе больных туберкулезом достоверных отличий не выявлено ($t=0,06$ и $p=0,05$). Частота обнаружения анти-ВГЕ была на высоком уровне и в среднем достигала 33%, в то время как в группе сравнения она составляла всего 5,7%. Маркеры острой ВГЕ-инфекции (анти-ВГЕ IgM и суммарные антитела IgM и IgG), наоборот, наиболее часто выявлялись у лиц с ВИЧ-

Таблица 1. Инфекционные заболевания и их серологические маркеры, представленные в работе

Инфекционное заболевание	Маркеры инфекционного заболевания
Гепатит Е	Иммуноглобулины IgM и IgG
Гепатит А	Иммуноглобулины IgG
Гепатит В	HBsAg
Гепатит С	Иммуноглобулины IgM и IgG
Инфекция вируса простого герпеса 1-го типа	Иммуноглобулины IgM и IgG
Инфекция вируса простого герпеса 2-го типа	Иммуноглобулины IgM и IgG
Эпштейна-Барр вирусная инфекция	1) иммуноглобулины класса М к капсидному антигену VCA 2) иммуноглобулины класса G к раннему антигену EA 3) иммуноглобулины класса G к ядерному антигену NA
Цитомегаловирусная инфекция	Иммуноглобулины IgM и IgG
Инфекция вируса герпеса человека 6-го типа	Иммуноглобулины IgG
Пневмоцистоз	Иммуноглобулины IgM и IgG

Таблица 2. Частота обнаружения анти-ВГЕ среди обследуемых групп риска и в группе сравнения

Контингент	Число обследованных	Маркеры гепатита Е									
		анти-ВГЕ-IgG		маркеры острой инфекции				итого с анти-ВГЕ-IgM		итого с антителами	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ВИЧ-инфицированные	90	12	13,3	6	6,6	12	13,3	18	19,9	30	33,2
Больные туберкулезом	70	18	25,7	4	5,7	1	1,4	5	7,1	23	32,8
Больные ВИЧ+туберкулез	70	30	42,8	7	10,0	5	7,1	12	17,1	42	59,9
Доноры	540	20	3,7	7	1,3	4	0,7	11	2,0	31	5,7

инфекцией (19,9%) и несколько реже у больных ВИЧ-инфекцией в сочетании с туберкулезом (17,1%). Сравнительный анализ полученных результатов всех исследуемых групп показал, что у больных с ВИЧ-инфекцией чаще (в 13,3% случаев) выявляли анти-ВГЕ IgM в сочетании с анти-ВГЕ IgG, а у пациентов, ВИЧ-инфекция у которых отягощена туберкулезом, наиболее часто определялись только анти-ВГЕ IgM (у 10,0%). Значительно реже, почти в три раза (у 7,1%) были обнаружены маркеры острой ВГЕ-инфекции у больных туберкулезом. В этой группе в 5,7% случаев обнаружены только анти-ВГЕ IgM и в 1,4% случаев анти-ВГЕ IgM определялись одновременно с анти-ВГЕ IgG. В группе сравнения среди доноров этот показатель не превышал 2%. Из них 1,3% обследованных имели анти-ВГЕ IgM, а у 0,7% доноров анти-ВГЕ IgM сочетались с антителами IgG.

Таким образом, результаты нашего исследования показывают, что у больных с выраженным иммунодефицитом значительно чаще выявляются все маркеры вирусного гепатита Е, включая и мар-

керы, свидетельствующие об острой форме заболевания. Учитывая недавно установленную возможность передачи ВГЕ парентеральным путем [10], следует обследовать донорскую кровь на наличие в ней маркеров ГЕ.

Известно, что ОИ, гепатиты В и С являются СПИД-ассоциированными инфекциями, что полностью нашло подтверждение в нашей работе. Обнаружение маркеров острого ГЕ у пациентов с иммунодефицитными состояниями (ВИЧ-инфицированных лиц, больных с ВИЧ-инфекцией, осложненной туберкулезом) позволило ГЕ также отнести к СПИД-ассоциированной инфекции (табл. 2 и 3). В то же время остается открытым вопрос: можно ли ГЕ как герпесвирусные инфекции и пневмоцистоз отнести к ОИ [11, 12].

В научной литературе [13] появились данные о том, что ВГЕ, так же как и другие оппортунисты, может вызвать манифестную инфекцию у больных с подтвержденным гепатитом В. Эта точка зрения в нашем исследовании не нашла подтверждения (см. табл. 3). Маркеры ГВ (HBsAg) были обнару-

Таблица 3. Обнаружение маркеров вирусных гепатитов и оппортунистических инфекций в исследуемых группах

Маркеры инфекционного заболевания	Доноры (n=540)		ВИЧ-инфицированные (n=90)		ВИЧ-инфицированные + туберкулез (n=70)		Больные туберкулезом (n=70)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Анти-ВГЕ-IgM и IgG	31	5,7	30	33,2	42	59,9	23	32,8
Анти-ВГА-IgG	132	24,4	43	47,7	61	87,1	59	85,5
ВГВ (HBsAg)	2	0,4	7	7,7	2	2,8	0	0
Анти-ВГС-IgM и IgG	0	0	38	42,2	24	34,2	0	0
Анти-ВПГ-IgM и IgG	429	79,4	88	97,7	52	74,2	60	86,9
Анти-ВЭБ, IgM, IgG _{EA} и IgG _{NA}	451	83,5	89	98,8	51	72,8	50	72,4
Анти-ЦМВ-IgM и IgG	381	70,6	86	95,5	53	75,7	55	79,7
Анти-ВГЧ-6-IgG	342	63,3	68	75,5	61	87,1	14	20,3
Анти- <i>P. jiroveci</i> -IgM и IgG	128	23,8	44	48,9	43	61,4	31	44,9

жены у небольшого количества обследованных: в группе ВИЧ-инфицированных – в 7,7% случаев, в три раза реже (в 2,8%) HBsAg определяли у больных ВИЧ-инфекцией, которая осложнена туберкулезом. У больных туберкулезом маркеры ВГВ-инфекции не выявлены. В группе сравнения HBsAg был обнаружен в 0,4% случаев. Это может быть обусловлено тем, что в последние десятилетия в нашей стране активно проводится вакцинопрофилактика вирусного гепатита В, что приводит к снижению интенсивности циркуляции ВГВ. А также нельзя не принимать во внимание тот факт, что в данном исследовании маркером определения гепатита В являлся HBsAg, а не антитела к ВГВ. Таким образом, мы не смогли получить полноценных данных, отражающих истинную картину распространенности маркеров ВГВ, как среди лиц с иммунодефицитными состояниями, так и у условно здорового населения. В то же время в отношении *гепатита С* (ГС), где маркерами поиска были антитела IgM и IgG, полученные результаты были иного характера. Антитела к вирусу ГС часто выявляли в группе ВИЧ-инфицированных лиц (42,2%) и в группе больных, ВИЧ-инфекция у которых осложнена туберкулезом (34,2%), при этом маркеры ГС полностью отсутствовали у больных туберкулезом, а также у доноров.

Во всех исследуемых группах, по сравнению с частотой выявления анти-ВГЕ и анти-ВГС, наиболее часто определяли антитела к вирусу *гепатита А* (ВГА). Известно, что большое число людей старше 18 лет уже имеют антитела класса IgG к ВГА. Прежде всего, это обусловлено фекально-оральным путем передачи ВГА, который легко реализуется уже в дошкольной и школьной среде,

а также тем, что после перенесенного ГА вырабатывается стойкий пожизненный иммунитет, что и является объяснением высокого уровня антител (24,4%) даже среди условно здорового населения группы сравнения. В группах риска этот показатель был значительно выше (в 2–4 раза), в группе ВИЧ-инфицированных лиц 42,2% имели анти-ВГА IgG, а в группе больных, ВИЧ-инфекция у которых сочетается с туберкулезом, и больных туберкулезом анти-ВГА IgG были обнаружены более чем в 85% случаев. Похожая картина наблюдалась при выявлении маркеров пневмоцистной инфекции. Антитела к *P. jiroveci* в группе сравнения составили 23,8%, в группах риска этот показатель был превышен в 2–3 раза. У ВИЧ-инфицированных лиц, больных ВИЧ-инфекцией, отягощенной туберкулезом, и у больных туберкулезом он составил 48,9, 61,4 и 44,9% соответственно.

Обращает на себя внимание тот факт, что большое число лиц во всех группах, включая и условно здоровое население, серопозитивны в отношении герпесвирусов (от 74,2 до 97,7% к ВПГ; от 72,4 до 98,8% к ВЭБ; от 70,6 до 95,5% к ЦМВ и от 20,3 до 87,1% к ВГЧ-6). Это вполне согласуется с данными научной литературы, в которых показано, что 60–90% взрослого населения имеет антитела к этим возбудителям, в то время как анализ данных по выявлению маркеров острых инфекций показал иную картину, типичную для ОИ (табл. 4).

В группе сравнения показатель обнаружения антител IgM был очень низким и колебался от 1,3% к ВЭБ до 2,9% к ЦМВ, тогда как в группе ВИЧ-инфицированных лиц этот показатель был значительно выше и составил 32,2% к ВЭБ и 8,8% к ЦМВ. Несколько реже выявляли маркеры острых

Таблица 4. Выявление маркеров острых оппортунистических инфекций (антитела IgM и сочетание антител IgM и IgG) в исследуемых группах

Инфекционное заболевание	Доноры (n=540)		ВИЧ-инфицированные (n=90)		t	ВИЧ-инфицированные + туберкулез (n=70)		t	Больные туберкулезом (n=70)		t
	абс.	%	абс.	%		абс.	%		абс.	%	
ВПГИ	9	1,7	17	18,8	7,6	1	1,4	0,1	0	0	0
ВЭБИ	7	1,3	29	32,2	11,7	5	7,1	3,3	3	4,2	1,9
ЦМВИ	16	2,9	8	8,8	2,7	4	5,7	1,2	4	5,7	1,2
Пневмоцистоз	15	2,7	19	21,1	7,1	16	22,8	7,2	19	27,1	8,4

герпесвирусных инфекций в группе лиц, у которых ВИЧ-инфекция осложнена туберкулезом, и у больных туберкулезом. Это можно объяснить тем, что у этих пациентов чаще отмечалась реактивация инфекции, а не первичное инфицирование, которое часто сопровождается многократным нарастанием антител IgG при отсутствии антител IgM [14]. Маркеры острой пневмоцистной инфекции определяли в 9 раз чаще у лиц из групп риска (от 21,1 до 27,1%), чем у доноров (2,7%).

Следующей задачей нашего исследования была попытка определить частоту сочетанного выявления GE с другими инфекционными заболеваниями на основании обнаружения антител IgM и IgG, для GB маркером поиска был HBsAg. Эти исследования проводили во всех группах, включая и условно здоровое население, поделив их всех, в свою очередь, на две подгруппы. В первую подгруппу вошли лица, у которых были обнаружены маркеры ВГЕ (анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG), во вторую – те, у кого маркеры этой инфекции выявлены не были.

Анализ данных по сочетанному выявлению анти-ВГЕ IgM и IgG с маркерами других вирусных гепатитов показал, что во всех исследуемых группах наиболее часто анти-ВГЕ определяли одновременно с анти-ВГА IgG (рисунок). Эти показатели колебались от 25,8% у доноров до 78,5% у больных ВИЧ-инфекцией, осложненной туберкулезом.

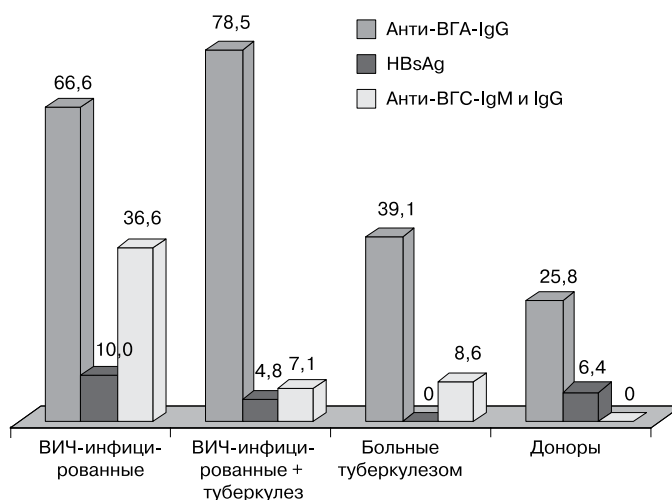
Сочетанное обнаружение маркеров GE и GC наблюдали только в группах риска. Максимальный показатель выявлен у ВИЧ-инфицированных лиц и составил 36,6%. Также в этой группе пациентов отмечено, что наиболее часто (в 10,0% случаев) одновременно с анти-ВГЕ определяли HBsAg. Среди больных с ВИЧ-инфекцией, отягощенной туберкулезом, этот показатель был почти в 2 раза меньше и составил 4,8%. В группе риска – больных туберкулезом маркеры гепатита E и B одновременно не выявляли, тогда как в группе сравнения сочетанное обнаружение

маркеров GE и GB достигало 6,4%. При этом среди доноров, у которых маркеры гепатита E отсутствовали, ни в одном случае HBsAg обнаружен не был.

Таким образом, в наших исследованиях показано, что наиболее часто анти-ВГЕ сочетались с анти-ВГА во всех исследуемых группах, включая и группу условно здорового населения, что в значительной мере обусловлено общими путями и механизмами передачи возбудителей этих инфекций.

В данной работе при исследовании крови, полученных как в группах риска, так и в группе сравнения, была определена частота выявления маркеров острых оппортунистических инфекций (изолированные антитела IgM или сочетание антител IgM и IgG). При исследовании этих сывороток на маркеры ВЭБИ также определяли антитела IgG к раннему антигену (EA).

Известно, что первичное инфицирование возбудителями ОИ происходит уже в раннем возрасте, и у большинства людей заболевание протекает бессимптомно. Затем, вследствие эмоционального стресса, переохлаждения, на фоне других заболеваний, что характерно для ОИ, могут повторяться



Сочетанное выявление антител IgM и IgG к ВГЕ с маркерами других вирусных гепатитов, %.

Таблица 5. Выявление маркеров острых оппортунистических инфекций в исследуемых группах у лиц с маркерами и без маркеров ГЕ

Маркеры ГЕ (IgM и IgG)	Острые ОИ	Доноры			ВИЧ-инфицированные			ВИЧ+туберкулез			Туберкулез		
		всего	абс.	%	всего	абс.	%	всего	абс.	%	всего	абс.	%
Обнаружены	ВПГИ		3	9,7		8	26,6		0	0		0	0
	ВЭБИ	31	1	3,2	30	15	48,8	42	1	2,3	23	3	13,1
	ЦМВИ		7	22,5		6	20,0		4	9,5		1	4,3
	Пневмоцистоз		10	32,2		5	16,6		16	38,1		5	21,7
Не обнаружены	ВПГИ			6		1,2			9	15,0			0
Не обнаружены	ВЭБИ	509	6	1,2	60	14	23,3	28	4	14,3	47	0	0
	ЦМВИ		9	1,8		2	3,3		0	0		2	7,1
	Пневмоцистоз		5	1,0		14	23,3		0	0		14	50,0

эпизоды заболеваний, проявляющиеся уже клиническими симптомами. У лиц с иммунодефицитом она протекает манифестно с тяжелым течением заболевания. Вместе с тем, инфекция, вызванная респираторными вирусами или другими вирусными агентами, может быть кофактором активации ОИ [15, 16]. Это полностью нашло подтверждение при сравнительном анализе данных, полученных во всех исследуемых группах, разделенных на подгруппы: лица, у которых были обнаружены анти-ВГЕ IgM и анти-ВГЕ IgG, и лица, у которых маркеры этой инфекции отсутствовали (табл. 5).

Среди условно здорового населения, у которого были обнаружены маркеры ГЕ, значительно чаще диагностировали острые ОИ, чем у тех, у кого маркеры ГЕ выявлены не были: ВПГИ – в 8 раз ($t=3,6$), ЦМВИ – в 13 раз ($t=6,6$) и пневмоцистоз – в 32 раза ($t=10,37$). Наименьшее различие в показателях установлено в отношении острой ВЭБИ (различие статистически не достоверно, $t=0,97$). Это связано с тем, что ВЭБ-инфекция, как правило, реализуется уже в раннем возрасте, и у взрослого населения случаи первичного

инфицирования встречаются реже. Выявленная особенность позволяет считать ВГЕ ко-фактором активации оппортунистических инфекций. Эта тенденция прослеживается и в группе ВИЧ-инфицированных. Однако в группе у больных с ВИЧ-инфекцией, отягощенной туберкулезом, а также у больных туберкулезом можно считать ВГЕ ко-фактором реактивации ОИ, так как маркеры острых инфекций (IgM и IgM+IgG) выявляли реже, значительно чаще диагностировали антитела IgG и, как правило, в высоких титрах.

Выводы

1. Определена высокая распространенность маркеров ГЕ у пациентов со сниженным иммунитетом, включая и маркеры острой инфекции.
2. Показана ассоциированность ГЕ с синдромом приобретенного иммунодефицита.
3. Выявлен высокий процент сочетания анти-ВГЕ с анти-ВГА, причиной которого в значительной мере является наличие общих путей и механизмов передачи возбудителей этих инфекций.

Литература

1. Ruggeri F., Di Bartolo I., Ponterio E., Angeloni G., et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus in industrialized countries. *New Microbiol* 2013; 36:331-44.
2. Yasmeen T., Hashmi H., Taj A. Fetomaternal outcome with hepatitis E in pregnancy. *J Coll Physicians surg Pak* 2013; 23:711-4.
3. Bouamra Y., Gerolami R., Arzouni J.P., Grimaund J.C., et al. Emergence of autochthonous infection with hepatitis E virus of genotype 4 in Europe. *Intervirology* 2014; 57(1):43-8.
4. Семенов Т. А., Борисова В. Н., Зубкин М. Л., Шилова В. С. Оценка интенсивности циркуляции гепатита Е на территории России. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* 2013; (13):15-22.
5. Riveiro-Barciela M., Rodriguez-Frias F., Buti M. Hepatitis E virus: new face of old infection. *Ann hepatol* 2013; 12:861-70.
6. Hajji H., Gerolami R., Solaris C., Moreau J., Colson P. Chronic hepatitis E resolution in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patient treated with ribavirin. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41:595-7.

7. Mateos-Lindemann M.L., Diez-Aguilar M., Galdamiz A.L., et al. Patients infected with HIV are at high-risk for hepatitis E virus infection in Spain. *J Med Virol* 2013; 86:71-4.
8. Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Токмалев А.К., Ермак Т.Н., Самитова Э.Р. Пневмоцистная пневмония у больных ВИЧ-инфекцией: клинические и диагностические аспекты. *Вестн Росс ун-та дружбы народов* 2007; (2):58-61.
9. Кремер Н.Ш. Теория вероятностей и математическая статистика. Проверка гипотез о равенстве долей признака в двух и более совокупностях. 2004, 2-е изд. 360 с.
10. Kimura Y., Gotoh A., Katagiri S., et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in patient with myelodysplastic syndromes. *Blood transfuse* 2014; 12:103-6.
11. Балабанова Р.М., Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., и соавт. Герпетические инфекции у больных с иммунодефицитным состоянием. *ЖМЭИ* 2009; (1):78-80.
12. Каражас Н.В. Пневмоцистная пневмония, туберкулез легких и их сочетание у больных ВИЧ-инфекцией. *Эпидемиология и инфекционные болезни* 2008; (3):34-8.
13. Cheng S.H., Mai L., Zhu F.Q., Pan X.F., et al. Influence of chronic HBV infection on superimposed acute hepatitis E. *World J Gastroenterol* 2013; 19:5904-9.
14. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н., Калугина М.Ю. и др. Современные аспекты герпесвирусной инфекции. Методические рекомендации. Правительство Москвы. Департамент здравоохранения 2012; (23):127 с.
15. Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Калугина М.Ю., и др. Роль возбудителей оппортунистических инфекций в этиологии обструктивного бронхита и длительного субфебрилитета у детей. *ЖМЭИ* 2012; (4):121-5.
16. Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Калугина М.Ю., и др. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций при длительных субфебрилитетах и обструктивных бронхитах у детей при микст-инфекциях. *Детские инфекции* 2013; 12(3):40-3.

Эффективность азитромицина и цефиксима в терапии острых кишечных инфекций с инвазивным типом диареи у детей

Н. Н. Смолянкин, А. И. Грекова, Л. П. Жаркова

ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия»
Минздрава России, Смоленск, Россия

Проведено сравнительное рандомизированное многоцентровое исследование клинической, микробиологической эффективности и безопасности азитромицина (Сумамед[®], Teva) и цефиксима (Супракс[®], Gedeon-Richter) при терапии острых кишечных инфекций (ОКИ) с инвазивным типом диарейного синдрома у детей. В большинстве случаев (85,4%) ОКИ были представлены сальмонеллезом, протекающим с высокой лихорадкой и наличием примеси крови в кале. Клиническая эффективность азитромицина составила 86,2%, цефиксима — 87,2% при сходной динамике основных клинических симптомов

заболевания. Микробиологическая эффективность азитромицина при всех ОКИ с инвазивным типом диареи у детей оказалась достоверно выше (83,3%), чем цефиксима — 58,3% ($p < 0,001$). Микробиологическая эффективность азитромицина при сальмонеллезе составила 81,8%, цефиксима — 52,6%. Проведенное КИ подтвердило высокую безопасность применяемых антибиотиков.

Ключевые слова: инвазивная диарея, дети, шигеллез, сальмонеллез, азитромицин, цефиксим.

Comparative Efficacy of Azithromycin and Cefixime in the Treatment of Acute Infectious Invasive Diarrhea in Children

N.N. Smolyankin, A.I. Grekova, L.P. Zharkova

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

This paper describes a multicenter, randomized study to compare clinical and microbiological efficacy, and safety of azithromycin (Sumamed[®], Teva) and cefixime (Suprax[®], Gedeon-Richter) in the treatment of acute infectious invasive diarrhea in children. In most patients (85.4%), the etiology of acute invasive diarrhea was salmonellosis, presenting with fever and blood in stool. Clinical efficacy of azithromycin was 86.2% compared to 87.2% for cefixime, with the similar clinical resolution

of signs and symptoms. Overall microbiological efficacy of azithromycin in children with acute infectious invasive diarrhea was significantly higher than that of cefixime (83.3% vs. 58.3%; $p < 0.001$). Microbiological efficacy in the treatment of salmonellosis was 81.8% and 52.6% for azithromycin and cefixime, respectively. Both antimicrobial agents have demonstrated a favorable safety profile.

Key words: invasive diarrhea, children, shigellosis, salmonellosis, azithromycin, cefixime.

Контактный адрес:
Николай Николаевич Смолянкин
Эл. почта: smolankin@mail.ru

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают ведущее место в инфекционной патологии детского возраста, уступая по массовости и экономическому ущербу только острым респираторным инфекциям. И хотя в последнее время в этиологической структуре ОКИ преобладают вирусные заболевания [1], тем не менее остаются актуальными заболевания, вызванные грамотрицательными патогенными бактериями (*Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia* spp., *Vibrio cholerae*), протекающие, как правило, в наиболее тяжелых формах [1, 2].

Согласно официальным данным, в РФ в 2012 г. заболеваемость сальмонеллезами составила 36,6 на 100 тыс. населения, в ряде случаев регистрировались летальные исходы, в том числе и среди детей [3]. В этом же году были зарегистрированы 102 очага групповой заболеваемости сальмонеллезом с общим числом пострадавших 1975 человек, что составило 3,5% в структуре всех очагов. Среди заболевших преобладало городское население (>85%), что связывают с интенсификацией производства продуктов питания, расширением производства различных полуфабрикатов и готовых блюд, реализуемых через торговую сеть, развитием сети общественного питания и т. д. [3]. Причем в этиологической структуре преобладали сальмонеллы группы D (*S. enteritidis*), составляя в среднем 83% всех диагностированных случаев. Кроме того, в последние годы отмечается рост удельного веса сальмонелл группы C (*S. infantis*), выделяемых из внешней среды и пищевых продуктов [3]. В порядке сравнения: уровень заболеваемости бактериальной дизентерией в последние годы снизился до наиболее низких цифр за весь период наблюдения. Так, заболеваемость шигеллезами в 2012 г. составила 9,38 случаев на 100 тыс. населения [4], причем среди детей до 14 лет — 31,42 на 100 тыс. детского населения [4]. При этом сохраняется неравномерное распределение заболеваемости по субъектам РФ, что в значительной степени зависит от социально-экономических условий. В 2012 г. наиболее неблагополучными были признаны: Сибирский (20,34 на 100 тыс. населения) и Северо-Кавказский (18,06 на 100 тыс. населения) федеральные округа. Однако на общем фоне снижения заболеваемости дизентерией в РФ ежегодно регистрируется 40–60 вспышек, реализуемых преимущественно пищевым и водным путями [3]. В этиологической структуре в 2012 г. было зарегистрировано 50% бактериологически подтвержденных случаев дизентерии Флекснера и 47% — дизентерии Зонне [3].

Этиотропная терапия ОКИ у детей представляет определенные сложности в связи с повсемест-

ным распространением полирезистентных штаммов возбудителей ОКИ и их биологической особенностью — активно формировать устойчивость к антибактериальным препаратам. Широко применяемые ранее у детей такие *антимикробные препараты* (АМП), как фуразолидон, гентамицин и хлорамфеникол, сегодня не используются в связи с фармакокинетическими особенностями и токсичностью. Появились данные о высокой эффективности при инвазивных типах диареи фторхинолонов, что обусловлено особенностями их фармакокинетики, биодоступностью и высокой чувствительностью к ним сальмонелл и шигелл [1, 5–7], но возрастные ограничения в отношении фторхинолонов в России до сих пор не сняты, несмотря на их практически доказанную безопасность для детей.

Перспективным является использование азитромицина и цефалоспоринов III поколения, которые характеризуются наличием значимой *in vitro* активности в отношении сальмонелл и шигелл [6, 7].

В настоящее время использование у детей традиционных пероральных антибиотиков ограничено их низкой активностью в отношении циркулирующих возбудителей ОКИ, возможностью развития серьезных нежелательных эффектов, возрастными пределами, что обуславливает активную разработку детских форм эффективных АМП. Поэтому поиск и внедрение высокоэффективных антибиотиков для лечения инвазивных диарей бактериальной этиологии остается актуальным и приоритетным направлением в детской инфекционной патологии.

Целью исследования явилось определение роли шигелл и сальмонелл в этиологической структуре ОКИ с инвазивным типом диареи у детей, изучение клинической и микробиологической эффективности, а также безопасности азитромицина и цефиксима при терапии ОКИ с инвазивным типом диарейного синдрома у детей.

Материал и методы

Проведено многоцентровое проспективное открытое сравнительное рандомизированное *клиническое исследование* (КИ) на базе детских инфекционных стационаров в городах Смоленск, Рославль, Вязьма, Сафоново, Ярцево и Брянск. В соответствии с протоколом КИ в исследование включались дети в возрасте от 1 года до 14 лет, госпитализированные в профильные стационары с симптоматикой ОКИ с инвазивным типом диарейного синдрома. Пациентам, включенным в исследование, в качестве этиотропной терапии назначали: азитромицин (Сумамед[®], Teva) внутрь в дозе 10 мг/кг/сутки — в 1-й день и 5 мг/кг/сут —

Таблица 1. Распределение детей с ОКИ с инвазивным типом диареи по степени тяжести, возрасту и месту проживания

Степень тяжести течения ОКИ	Центры (абс./%)						Всего
	1	2	3	4	5	6	
Возраст 1–3 года							
	64/61,5	7/58,3	7/87,5	11/78,5	19/65,5	14/77,8	122/65,9
Тяжелая	22/34,3	4/57	2/28,5	4/36,3	3/15,8	2/14,2	37/30,3
Среднетяжелая	42/65,6	3/43	5/71,5	7/63,7	16/81,2	12/85,8	85/69,7
Возраст 4–6 лет							
	20/19,3	1/8,4	1/12,5	2/14,3	7/24,2	2/11,1	33/17,8
Тяжелая	6/30	0	0	0	2/28,6	0	8/24,2
Среднетяжелая	14/70	1/100	1/100	2/100	5/71,4	2/100	25/75,8
Возраст > 6 лет							
	20/19,3	4/33,3	0	1/7,2	3/10,3	2/11,1	30/16,3
Тяжелая	5/25	2/50	0	0	2/66,7	0	9/30
Среднетяжелая	15/75	2/50	0	1/100	1/33,3	2/100	21/70

Примечание. 1 – Смоленск, 2 – Рославль, 3 – Вязьма, 4 – Сафоново, 5 – Ярцево, 6 – Брянск.

со 2-го по 5-й дни терапии один раз в день (группа АЗ) или цефиксим (Супракс®, Gedeon Richter) внутрь в дозе 8 мг/кг/сутки один раз в день курсом 5 дней (группа ЦМ). Распределение АМП осуществлялось с использованием рандомизационного кода (метод случайных чисел), разработанного для каждого центра.

Критериями включения в исследование были: наличие ОКИ с инвазивным типом диарейного синдрома (повышение температуры тела >37,5 °С, жидкий стул с наличием патологических примесей в виде слизи, зелени, крови), возраст от 1 года до 14 лет, госпитализация в профильные стационары, подписание информированного согласия родителей на участие в КИ, отсутствие в лечении системной антимикробной терапии (АМТ) в течение 72 часов до госпитализации и взятие материала для бактериологического исследования до начала фармакотерапии. Обязательным условием являлось отсутствие в анамнезе гиперчувствительности к макролидным и бета-лактамам антибиотикам, тяжелые заболевания печени и почек в анамнезе, наличие сопутствующей острой инфекции другой локализации.

В процессе КИ анализировались следующие показатели: возраст пациентов, тяжесть заболевания, диагностика ОКИ (клиническая, бактериологическая), ежедневная оценка общего состояния и симптомов заболевания, безопасность лечения, использование других медикаментозных средств и исходы заболевания.

Полученные данные обрабатывались с использованием компьютерной программы LRTI Treatment

Evaluation, разработанной на основе базы управления данными Microsoft Access для Windows 2000. Статистический анализ выполнялся в системе SAS (программный пакет SAS Institute, США, версия 8.2). Описательная статистика, включающая количество наблюдений, частоту и долю (%) от общего числа случаев, была выполнена для всех анализируемых показателей.

Результаты исследования

Всего в КИ было включено 185 пациентов: в Смоленске – 104, Рославле – 12, Вязьме – 8, Сафоново – 14, Ярцево – 18, Брянске – 18. Закончили исследование 181 ребенок (97,8%). Среди заболевших преобладали дети в возрасте от 1 до 3 лет (61,5%), в 2 раза реже госпитализировались дети в возрасте 4–6 лет (19,3%) и дети старше 6 лет (19,3%). Распределение детей по тяжести заболевания показало, что среди включенных в исследование преобладали дети со средней степенью тяжести ОКИ – 131 (70,9%), а тяжелые формы диагностировались у 54 (29,1%) пациентов (табл. 1).

Анализ распределения пациентов с ОКИ показал, что в целом детей, получающих азитромицин (АЗ), оказалось меньше, чем детей, получающих цефиксим (ЦМ) (p=0,1). Однако в центрах 1 и 2 количество пациентов, получающих АЗ, оказалось достоверно меньше, чем в группе ЦМ (p<0,05), а в центрах 3, 4 и 6 – больше (табл. 2). Распределение пациентов по полу показало, что мальчиков, включенных в исследование, оказалось больше, чем девочек (p=0,01).

Таблица 2. Распределение пациентов с ОКИ с инвазивным типом диареей по группам лечения и полу (n/%)

Показатель	Центры						Всего
	1	2	3	4	5	6	
АЗ	40/38,4	5/41,6	7/87,5*	8/57,1*	14/48,2	13/72,2*	87/47
ЦМ	64/61,6*	7/58,4*	1/12,5	6/42,9	15/51,8	5/27,8	98/53
Мальчики	58/55,8	7/58,3	5/62,5**	7/50	17/58,6	12/66,7**	106/57,3
Девочки	46/44,2	5/41,7	3/37,5	7/50	12/41,4	6/33,3	79/42,7

Примечание. * p < 0,05; ** p = 0,01

В большинстве случаев диагноз ОКИ устанавливался по клинической симптоматике заболевания. У детей при поступлении имелись: повышение температуры тела, болевой синдром (92,3%), рвота (44,1%), диарейный синдром (100%), примесь слизи в кале (98,8%), «зелень» (97,0%) и «кровь» в кале (26,2%). Кроме того, у большинства (84,5%) детей выявлялся метеоризм, а у трети (26,8%) пациентов — «тенезмы» (эквиваленты тенезмов) и признаки эксикоза (10,1%). При первичном осмотре детей, без микробиологического исследования, симптоматика ОКИ была сходной как при сальмонеллезе, так и при шигеллезе.

Клинические проявления ОКИ

Все дети, включенные в КИ, имели повышение температуры тела в среднем до $38,7 \pm 0,53$ °С, в группе детей, получавших АЗ — $38,6 \pm 0,48$ °С, ЦМ — $38,7 \pm 0,56$ °С.

Боль в животе. Болевой синдром оценивался как «выраженный», «умеренный», «слабый» и «отсутствует». Наиболее частым оказался болевой синдром «слабой» интенсивности, который регистрировался у 102 (60,7%) детей, «умеренную» интенсивность имели 48 (28,6%) детей, «выраженную» — 5 (3%), а у 15 (7,7%) пациентов болевой синдром отсутствовал. В группе детей с ОКИ, получавших АЗ, «слабый» болевой синдром имели 48 (60,8%) пациентов, «умеренный» — 17 (21,5%), «тяжелый» — 4 (5,1%) и «отсутствовал» у 10 (2,7%). В группе детей, получавших ЦМ, «слабый» болевой синдром имели 54 (60,7%) пациентов, «умеренный» — 31 (34,8%), «тяжелый» — 1 (1,1%) и «отсутствовал» у 3 (3,4%).

Все дети на момент поступления в стационар имели **диарейный синдром** различной степени выраженности. У большинства (64,3%) пациентов диарея расценивалась как «частая», у трети (33,9%) — «умеренная» и у 1,8% детей — «профузная» диарея.

Распределение детей в группах лечения показало, что обе группы не имели достоверных разли-

чий по выраженности диарейного синдрома. Так, в группе АЗ «умеренную» диарею имели 34,2% пациентов, «частую» — 64,6% и «профузную» — 1,3%, а в группе ЦМ «умеренная» диарея диагностировалась у 33,7% пациентов, «частая» — у 64,0% и «профузная» — у 2,3%.

Среди характерных симптомов ОКИ с инвазивным типом диареи у трети (26,8%) детей диагностировались **тенезмы**. В случаях слабой степени выраженности в группе детей, принимавших АЗ, таких детей оказалось больше (26,6%), чем в группе ЦМ (18%) (p < 0,001). Тенезмы умеренной интенсивности отмечались у 4,8% детей, из них в группе АЗ — у 3,8%, а ЦМ — у 5,6% (p < 0,05) детей.

Патологические примеси в стуле

Слизь в стуле присутствовала у 98,8% детей, включенных в КИ, при этом в группе АЗ — у 98,7%, в группе ЦМ — у 98,9% детей. **Кровь** в стуле определялась у 26,2% детей, из них у 33,3% пациентов, принимавших АЗ и у 23,2% — ЦМ (p < 0,001). **Зеленую** окраску стула имели 97,02% детей, в группе терапии АЗ — 94,9%, в группе ЦМ — 97,02% детей.

Помимо характерной симптоматики ОКИ с инвазивным типом диареи у 84,5% детей имелись проявления **метеоризма**, в большинстве случаев (76,8%) со слабой степенью выраженности и лишь у некоторых (7,7%) пациентов — умеренной степени выраженности.

В группе детей, получающих АЗ, слабо выраженный метеоризм имели 72,2% и умеренно выраженный — 6,3%, а в группе принимавших ЦМ — 80,9% и 9,0% соответственно.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика проводилась, по возможности, у всех детей, включенных в КИ, составив в целом 98,4%.

В группе детей, получавших АЗ, микробиологическая диагностика была проведена у 98,9%. В группе детей, принимавших ЦМ — у 97,9%.

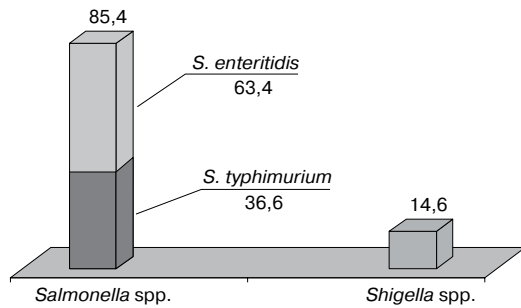


Рис. 1. Этиологическая структура возбудителей ОКИ с инвазивным типом диареи (в %).

Идентификация возбудителей ОКИ с инвазивным типом диареи осуществлялась в бактериологических лабораториях по месту госпитализации пациентов, а определение чувствительности к антибиотикам проводилось в бактериологической лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск).

Лабораторное бактериологическое подтверждение диагноза было получено у 48 пациентов (26,4%), отрицательный результат имели 134 (73,6%) ребенка.

При микробиологическом исследовании оказалось, что ОКИ с выявленной симптоматикой инвазивного типа диареи в 85,4% случаев были представлены сальмонеллезом. Было выделено 48 штаммов патогенных микроорганизмов (рис. 1), среди них сальмонеллы — 41 штамм (85,4%), в том числе группы В (*S. typhimurium*) — 15 (36,6%) и группы D (*S. enteritidis*) — 26 (63,4%), Нехарактерными симптомами для сальмонеллеза были высокий уровень лихорадки, что, как правило, наблюдается при септических формах заболевания, и наличие патологических примесей в виде «крови».

Шигеллы были выделены только у 7 (14,6%) госпитализированных пациентов, из них *S. sonnei* — 3 (42,9%), *S. flexneri* — 3 (42,9%) и *S. boydii* — 1 (14,2%). Только у части детей присутствовали характерные симптомы шигеллезов, такие как тенезмы — у 26,8% и «кровь» в стуле — у 26,2%.

Все выделенные штаммы микроорганизмов оказались чувствительными к АЗ и ЦМ.

Распределение возбудителей ОКИ в зависимости от терапии было следующим. Так, в группе пациентов, получавших АЗ, было выделено 24 микроорганизма (27,9%), из них сальмонеллы — 22 штамма (25,6%) и шигеллы — 2 штамма (2,3%); в группе детей, принимавших ЦМ — 24 микроорганизма (25,0%), из которых сальмонеллы — 19 штаммов (19,8%) и шигеллы — 5 штаммов (5,2%).

Идентификация возбудителей ОКИ в группе детей, принимавших АЗ, показала, что среди сальмонелл оказалось 10 штаммов *S. enteritidis* (45,5%) и 12 (54,5%) *S. typhimurium*, а среди шигелл (*S. sonnei* + *S. flexneri*) — 2 штамма (8,3%). В группе пациентов, получавших ЦМ, *S. enteritidis* составили 16 штаммов (84,2%), *S. typhimurium* — 3 штамма (15,8%), а шигеллы (*S. sonnei* + *S. flexneri*) — 5 штаммов (20,8%).

Согласно современным рекомендациям, АМП показаны при инвазивных и секреторных диареях у детей раннего возраста, а также пациентам всех возрастных групп при тяжелых формах ОКИ [8–10].

Вопрос этиотропной терапии острых бактериальных кишечных инфекций в детской практике достаточно сложен: с одной стороны, использование антибиотиков при легких и среднетяжелых формах инвазивных диарей ряд исследователей считает нецелесообразным, с другой — есть указания на то, что применение данной группы препаратов уменьшает длительность лихорадочного периода и выраженность диарейного синдрома, при этом сокращается период бактериовыделения и снижается риск формирования бактерионосительства [8–10].

Основными критериями для назначения АМТ при КИ являлись первичный осмотр пациента и визуальное исследование фекалий (оценка наличия крови и слизи), которые позволяют со значительной долей вероятности судить о возможной инвазивной этиологии диареи до получения результатов бактериологического исследования [5].

Учитывая сходную клиническую симптоматику ОКИ, распределение детей в группы лечения оказалось сопоставимым. Так, в группы детей, принимавших АЗ и ЦМ, в большинстве случаев вошли пациенты с бактериологически подтвержденным сальмонеллезом (25,3 и 24,5% соответственно), а количество детей с шигеллезом оказалось достоверно больше в группе терапии ЦМ.

Клиническая эффективность терапии ОКИ

Завершили участие в КИ 181 (97,8%) пациент, а 4 (2,2%) пациента были выведены из исследования в связи с возникновением *нежелательных явлений* (НЯ).

В соответствии с протоколом КИ клиническая эффективность оценивалась на 3-й и 6-й дни лечения. Оценка клинической эффективности на 3-й день терапии позволила оценить её только у части детей: так, в группе АЗ положительная динамика наблюдалась у 35 (40,7%) детей, и в группе ЦМ — у 42 (43,8%) детей. Клиническая неэффективность

отмечена, соответственно, у 9 (10,5%) и 14 (14,6%) пациентов, а у 42 (48,8%) и 39 (41,6%) пациентов оценить эффективность оказалось невозможным (состояние без значимой динамики).

Изучение динамики основных клинических проявлений ОКИ с инвазивным типом диареи при завершении курса АМТ показало, что снижение температуры тела до нормальных значений произошло на 4-й день терапии в среднем до $36,8 \pm 0,53$ °C ($p < 0,001$), в том числе в группе АЗ — до $36,9 \pm 0,57$ °C ($p < 0,001$) и в группе ЦМ — $36,8 \pm 0,5$ °C ($p < 0,001$). У 165 (98,2%) детей болевой синдром отсутствовал. При сравнении результатов купирования болевого синдрома в группах детей, получавших АЗ и ЦМ, различий не было выявлено (98,7 и 97,8% соответственно). При этом «выраженный» болевой синдром купировался ко 2 дню терапии в обеих группах, «умеренный» — к 5 дню в группе ЦМ, а в группе АЗ — к 4 дню ($p < 0,001$). «Слабый» болевой синдром в целом купировался к 6–7 дням терапии и сохранялся у 3 пациентов после лечения, из них у 1 ребенка, принимавшего АЗ, и у 2 детей, получавших ЦМ.

Динамика разрешения диарейного синдрома показала, что в целом нормализацию стула к визиту 6 (5-й день лечения) имели 89,3% детей, среди них в группе АЗ — 93,7% и в группе ЦМ — 85,4% ($p < 0,05$). При выписке детей из стационара (визит 7) данный показатель составлял 98,8% в целом, в том числе в группах лечения: АЗ — 98,7% и ЦМ — 98,9%.

Оценка разрешения диарейного синдрома в зависимости от степени его выраженности показала, что «профузная» диарея нормализовалась в обеих группах терапии на 2-й день приема препарата, «частая» — на 5-й день, а при «умеренной» симптоматика диареи сохранялась в последний день приема АМП у 10,7% детей, из них у 6,3% пациентов, принимавших АЗ, и у 14,6%, получавших ЦМ ($p < 0,001$).

На фоне проводимой АМТ у всех детей с умеренно выраженными тенезмами данный симптом разрешился на 2-й день лечения, а со слабой степенью их выраженности — на 3-й день.

К окончанию курса АМТ в обеих группах патологические примеси в виде слизи отмечалась у 29,2% детей, из них в группе АЗ — 22,3% и группе ЦМ — 34,8% ($p < 0,05$). К моменту выписки из стационара слизь в стуле сохранялась у 17,3% пациентов (АЗ — у 15,2% и ЦМ — у 19,1%).

К 3-му дню терапии у всех детей на фоне проводимой АМТ «кровь» в стуле отсутствовала. При завершении курса антибактериальной терапии «зеленая» окраска стула сохранялась в целом

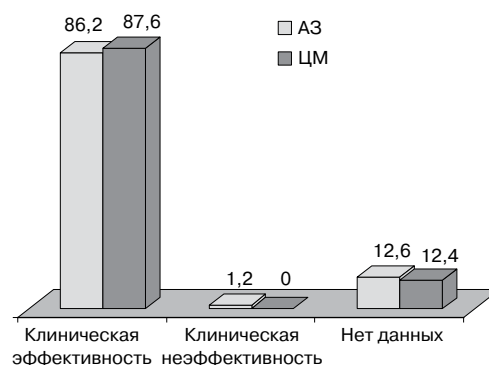


Рис. 2. Оценка клинической эффективности азитромицина и цеффиксима в терапии ОКИ с инвазивным типом диареи (в %).

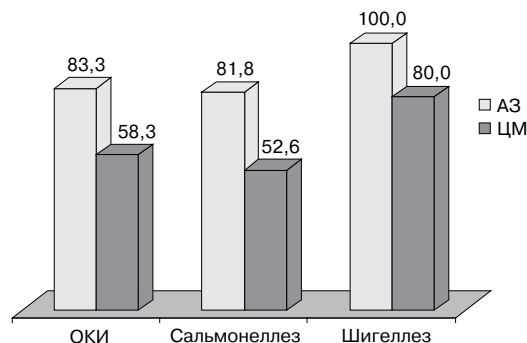


Рис. 3. Микробиологическая эффективность азитромицина и цеффиксима в терапии ОКИ с инвазивным типом диареи (в %).

у 22,02% пациентов, из них в группе АЗ — у 16,5% и в группе ЦМ — у 22,02% детей. При выписке из стационара изменение окраски стула сохранялось у 6,6% детей (АЗ — у 5,1% и ЦМ — у 6,6%).

Проявления метеоризма в группе детей, получающих АЗ, разрешились к 2-му дню терапии и в группе ЦМ — к 3-му дню.

Клиническая эффективность АЗ при выписке в целом составила 86,2%, ЦМ — 87,6%, эффективность не удалось оценить у 11 (12,6%) детей, принимавших АЗ, и у 12 (12,4%) детей, принимавших ЦМ, из-за отсутствия данных (рис. 2).

Клиническая неэффективность выявлена только у одного ребенка, принимавшего АЗ. Все дети были выписаны на 6-е сутки госпитализации, ни одному ребенку не потребовалась дополнительная антибактериальная терапия.

Микробиологическая эффективность ОКИ

Контрольное микробиологическое исследование при завершении курса антибактериальной терапии было проведено лишь у 94 детей, что составило 51,8%. В группе детей, принимавших

Таблица 3. Сопутствующая медикаментозная терапия при ОКИ с инвазивным типом диареи (в %)

Медикаментозные ЛС	Группа АЗ	Группа ЦМ	Всего
Регидрон	83,9	88,7	86,4
0,9% раствор NaCl	2,3	12,2	7,6
Энтеросорбенты	94,2	92,8	93,5
Антипиретики	68,9	63,3	64,8
Спазмолитики	6,9	7,1	7
Прокинетики	0	1	0,5
Гемостатики	5,7	10,2	8,6
Ферментные препараты	6,9	2	4,3
Пробиотики	9,1	22,4	18,9
КИП	3,4	3,1	3,2
Антигистаминные ЛС	0	3	1,6
Глюкокортикоиды	3,4	1	0,5

АЗ, микробиологическое исследование было проведено у 40 (46,5%), в группе ЦМ — у 54 (56,3%) детей.

При этом было выделено у всех детей 14 (7,6%) микроорганизмов, из них сальмонелл — 13 (7,03%) и шигелл — 1 (0,5%). Среди сальмонелл *S. enteritidis* составили 10 штаммов (76,9%), *S. typhimurium* — 3 штамма (23,1%), а шигеллы (*S. sonnei*) — 1 штамм (7,7%).

В группе АЗ было выделено 4 (16,7%) штамма сальмонелл, из них *S. enteritidis* — 2 штамма (50%), *S. typhimurium* — 2 штамма (50%), в группе ЦМ — 10 штаммов (41,7%), из них сальмонеллы — 9 штаммов (90%), среди которых *S. enteritidis* — 8 штаммов (88,9%), *S. typhimurium* — 1 штамм (11,1%), а шигеллы (*S. sonnei*) — 1 штамм (10%).

Таким образом, микробиологическая эффективность терапии ОКИ с инвазивным типом диареи составила в группе АЗ — 83,3%, а в группе ЦМ — 58,3% ($p < 0,001$). При этом в группе детей, принимавших АЗ, с подтвержденным диагнозом сальмонеллеза микробиологическая эффективность составила 81,8%, а с подтверждением шигеллеза — 100% (рис. 3). В группе детей, пролеченных ЦМ, микробиологическая эффективность в группе с подтвержденным сальмонеллезом составила 52,6% ($p < 0,001$), а в группе шигеллеза — 80% ($p < 0,001$). Это, по-видимому, можно объяснить способностью макролидных антибиотиков, в частности АЗ, проникать в лимфоидные образования слизистого слоя тонкого кишечника (пейеровы бляшки, солитарные фолликулы), где собственно и размножаются сальмонеллы (внутриклеточное паразитирование) [11, 12].

Микробиологическая неэффективность при сальмонеллезе у детей, принимавших АЗ, соста-

вила 16,7%, в группе ЦМ — 47,4% ($p < 0,001$), в то время как при шигеллезе — 0 и 20% соответственно.

Безопасность терапии

Проведенное КИ подтвердило высокую безопасность как азитромицина, так и цефиксима. *Нежелательные лекарственные реакции* (НЛР) в виде пятнисто-папулезной сыпи, появившейся на второй день АМТ, были выявлены у 4 детей, из них у одного, принимавшего АЗ, и у 3, принимавших ЦМ. НЛР были зафиксированы в центрах 1, 5 и 6, протекали без повышения температуры тела, были расценены как средней тяжести, что потребовало отмены препарата и дополнительной медикаментозной терапии (антигистаминные препараты внутрь и глюкокортикоиды парентерально). Все пациенты с НЛР были выведены из исследования.

Сопутствующая медикаментозная терапия

Помимо антимикробной химиотерапии всем детям назначались: регидратационная терапия, преимущественно оральная (регидрон) — у 86,4%, и лишь в тяжелых случаях парентеральная — у 7,6% детей. В связи с наличием метеоризма большинству детей назначались внутрь энтеросорбенты (в 93,5% случаев). Кроме того, по показаниям использовались жаропонижающие препараты (64,8%), спазмолитики (7%), прокинетики (0,5%), гемостатики (8,6%), ферментные препараты (4,3%), пробиотики (18,9%), КИП — в 3,2% случаев.

При появлении симптомов НЛР применялись антигистаминные ЛС (клемастин, кларитин) — у 1,6% и глюкокортикоиды (дексаметазон) — у 0,5% больных (табл. 3).

Обсуждение результатов

В проведенном клиническом исследовании первоначальный диагноз ОКИ устанавливался по клинической симптоматике заболевания. В настоящее время имеются сведения, что первичный осмотр пациента и визуальное исследование фекалий (оценка наличия крови и слизи) позволяют со значительной долей вероятности судить о возможной инвазивной этиологии диареи до получения результатов бактериологического исследования [5].

Выбор АМП для терапии ОКИ с инвазивным типом диареи был основан на результатах опубликованных исследований. Так, в «двойном слепом» рандомизированном исследовании, проводимом W. A. Khan, C. Seas, U. Dhar с соавторами в 1996 г. в Бангладеш, была доказана эффективность азитромицина в терапии шигеллезов у взрослых. Сравнивались клиническая и микробиологическая эффективность *азитромицина* (АЗ) и *ципрофлоксацина* (ЦФ), назначаемых в течение 5 дней. Клиническая и бактериологическая эффективность АЗ и ЦФ были сопоставимыми (82% vs 89% и 94% vs 100% соответственно). При изучении чувствительности оказалось, что все штаммы шигелл ($n=70$) были чувствительны к АЗ и ЦФ [13]. Позднее (в 1997 г.) в Индии было проведено многоцентровое рандомизированное исследование эффективности АЗ в сравнении с *хлорамфениколом* (ХФ) при тифозной лихорадке у взрослых, вызванной *S. typhi* и *S. paratyphi*. Целью этого КИ было сравнение клинической и микробиологической эффективности АЗ и ХФ. Препараты назначались внутрь: АЗ — 500 мг/сутки в течение 7 дней и ХФ — 2–3 г/сутки в 4 приема в течение 14 дней. Клиническое выздоровление/улучшение отмечалось на 8-й день у 86% пациентов, получавших АЗ, и у 88% пациентов, получавших ХФ. Эрадикация сальмонелл из крови в 100% случаев отмечалась на 8-й день в группе АЗ и только на 14-й день в группе ХФ [14].

В педиатрической практике клиническая и микробиологическая эффективность АЗ в сравнении с налидиксовой кислотой изучалась врачами Израиля (в 2004 г.) при шигеллезах у детей. Авторы исследования продемонстрировали превосходство терапии АЗ при терапии шигеллезов у детей и подходящую альтернативу налидиксовой кислоте. По мнению авторов, темпы клинического улучшения и эрадикация шигелл наиболее вероятно связаны с высокими внутриклеточными концентрациями АЗ [15].

Изучение бактериологической и клинической эффективности *цефиксима* (ЦМ) и инъекционных

ЦС III поколения в лечении ОКИ у детей было проведено в 2007 г. на Украине. В ходе проведенного исследования авторами была показана равная клиническая эффективность ЦМ и парентеральных ЦС III поколения, а также высокая чувствительность к ЦМ шигелл, эшерихий и сальмонелл [16, 17].

За рубежом были проведены открытые клинические исследования ЦМ при брюшном тифе у детей. Препарат назначался в дозе 20 мг/кг в 2 приема в течение 12 дней. Авторы КИ подтвердили высокую эффективность терапии ЦМ с быстрой положительной клинической динамикой и хорошую переносимость [18]. В Институте тропической медицины (г. Асунсьон, Парагвай) было проведено КИ по оценке эффективности ЦМ и АЗ у детей с шигеллезом. Клиническая эффективность ЦМ составила 93%, а АЗ — 78% ($p=0,1$). Продолжительность диареи с момента начала лечения составила $2,5\pm 2,3$ дней в группе ЦМ и $3,9\pm 1,9$ дней в группе АЗ ($p<0,1$). НЛР в виде рвоты и пятнисто-папулезной сыпи были выявлены у 2 пациентов в группе АЗ и у 3 в группе ЦМ. В этом КИ наиболее часто выделяемым возбудителем была *S. flexneri* (в 73 и 87% случаев в группах АЗ и ЦМ соответственно). Эрадикация возбудителя на 3-й день терапии была достигнута у 59% пациентов из группы ЦМ и у 93% пациентов из группы АЗ ($p<0,01$) [19].

В России проведено исследование эффективности ЦМ у 25 детей в возрасте от 8 месяцев до 6 лет. Препарат назначался в виде монотерапии 15 пациентам и в режиме ступенчатой терапии (цефотаксим в/м 2 дня, с последующим переходом на ЦМ) — 10 детям. ЦМ назначался в виде суспензии в дозе 8 мг/кг однократно или в 2 приема, курсом 7 дней. Эффективность этиотропной терапии оценивалась по улучшению клинической картины заболевания (длительности лихорадки, интоксикации, диарейного синдрома, регистрации патологических примесей в испражнениях) и динамики лабораторных показателей: гемограммы, копроцитограммы, сроков и частоты бактериологической санации организма. Кроме того, учитывалась переносимость препарата и развитие возможных нежелательных эффектов. Была установлена высокая чувствительность циркулирующих штаммов возбудителей ОКИ к ЦМ. Доказана клиническая эффективность ЦМ, заключающаяся в быстром купировании общеинфекционного и диарейного синдромов и нормализации копроцитологических показателей. Микробиологическая санация была достигнута у 88% детей с установленной этиологией ОКИ [20].

Проведенное нами КИ по оценке клинической и микробиологической эффективности, а также безопасности азитромицина и цефиксима при терапии ОКИ с инвазивным типом диарейного синдрома у детей показало следующее. Учитывая сходную клиническую симптоматику ОКИ с инвазивным типом диареи, распределение детей в группы лечения оказалось сопоставимым. Так, в группы детей, принимавших АЗ и ЦМ, в большинстве случаев вошли пациенты с бактериологически подтвержденным сальмонеллезом (25,3 и 24,5% соответственно), а количество детей с шигеллезом оказалось достоверно больше в группе терапии ЦМ (5,1%).

По нашим данным, среди детей с инвазивными формами ОКИ, включенных в КИ, преобладали дети раннего возраста (65,9%) со среднетяжелым течением (69,7%) заболевания. У части (10,1%) детей данной группы присутствовали симптомы эксикоза, что расценивалось нами как отягощающий фактор течения заболевания. Тяжелое течение ОКИ, при котором показано назначение АМТ, было выявлено у 30,3% детей раннего возраста и у 24,2% пациентов в возрасте 4–6 лет. Тем не менее, всем детям, имеющим симптомы инвазивных форм ОКИ, назначалась АМТ.

Проведенное сравнительное исследование АЗ и ЦМ при ОКИ с инвазивным типом диареи продемонстрировало высокую клиническую эффективность, которая составила в группе АЗ – 86,2%, в группе ЦМ – 87,2% (см. рис. 2). Статистически значимых различий в динамике клинических симптомов ОКИ не было выявлено.

Микробиологическая эффективность терапии ОКИ с инвазивным типом диареи оказалась достоверно выше у детей из группы АЗ, которая составила 83,3%, а в группе ЦМ – 58,3% ($p < 0,001$). При этом

в группе детей с подтвержденным сальмонеллезом, принимавших АЗ, микробиологическая эффективность составила 81,8%, а пролеченных ЦМ – 52,6% ($p < 0,001$). Полученные результаты можно объяснить способностью макролидных антибиотиков, в частности АЗ, проникать в лимфоидные образования слизистого слоя тонкого кишечника (пейеровы бляшки, солитарные фолликулы), где собственно и размножаются сальмонеллы (внутриклеточное паразитирование) [11, 12].

Проведенное КИ подтвердило высокую безопасность азитромицина и цефиксима, применяемых в АМТ.

Заключение

Результаты проведенного проспективного клинического исследования показали, что в настоящее время диагностика острых кишечных инфекций с инвазивным типом диареи по выраженности клинических симптомов без проведения бактериологического исследования затруднительна. В большинстве случаев (85,4%) был диагностирован сальмонеллез, протекающий с высокой лихорадкой и наличием примеси крови в кале. Оба АМП продемонстрировали высокую клиническую эффективность: азитромицин (Сумамед®) – в 86,2% и цефиксим (Супракс®) – в 87,2% случаев при сходной динамике основных клинических симптомов заболевания. Микробиологическая эффективность азитромицина при всех ОКИ с инвазивным типом диареи у детей оказалась достоверно выше (83,3%), чем цефиксима (58,3%) ($p < 0,001$). Микробиологическая эффективность при сальмонеллезе в случае азитромицина составила 81,8%, цефиксима – 52,6%. Проведенное КИ подтвердило высокую безопасность применяемых АМП.

Литература

1. Горелов А.В., Малиютина Л.Н., Усенко Д.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых кишечных инфекций у детей. Пособие для врачей. М., 2006; 109 с.
2. Онищенко Г.Г. Заболеваемость острыми кишечными инфекциями в Российской Федерации. Иммунология 2008; 1:8-23.
3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2012 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2013; 84-86. Доступно на <http://rosпотребнадзор.ru/document/doclad>.
4. Краморев С.А., Боровицкая В.В. Клинические особенности шигеллеза у детей. Доступно на <http://medsovet.pro>.
5. Страчунский Л.С. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Смоленск 2007; 287 с.
6. Веселов А.В., Козлов Р.С. Азитромицин: современные аспекты клинического применения. Клин микроб антимикроб химиотер 2006; 8(1):18-32.
7. Иванов А.С. Современные представления об антибиотикорезистентности и антибактериальной терапии сальмонеллёзов. Клин микроб антимикроб химиотер 2009; 11(4):305-26.
8. Краморев С.А., Боровицкая В.В. Острые кишечные инфекции у детей. Донецк, 2000.
9. Тимченко В.Н. Инфекционные болезни у детей. - СПб Спецлит., 2008; 607 с.
10. Учайкин В.Ф. Острые кишечные инфекции у детей

- (диагностика, классификация, лечение (пособие для врачей), М., 2003; 324 с.
11. Ахметова Д.Г. Сальмонеллы: молекулярные механизмы приспособленности и факторы. Доступно на <http://www.biotechlink.org/portal/Article.aspx?articleID=41>.
 12. Новокшинов А.А, Мазанкова Л.Н. Патогенетическое обоснование оптимальной терапии ОКИ у детей. Детские инфекции 2002; 1:32-7.
 13. Khan W.A., et al. Azithromycin is equivalent to ciprofloxacin in the treatment of shigellosis: results of a randomized, blinded, clinical trial. In: The 36th International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. New Orleans, 1996: Abstr. LM29.
 14. Butler T., Spidhar C.B., Daga M.K. Treatment of typhoid fever with azithromycin vs chloramphenicol in randomized multicenter trial in India. In: The 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Toronto, 1997: abstr. LM-18.
 15. Miron D., Torem M., Merom R. Colodner Azithromycin as an alternative to nalidixic acid in the therapy of childhood shigellosis. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(4):367-8.
 16. Волосовец А.П. Пероральные цефалоспорины в практике современной педиатрии. «Новости медицины и фармации». Антимикробная и противовирусная терапия. В помощь практическому врачу. - 2008 г. Доступно на <http://www.mif-ua.com/archive/article/4798>.
 17. Крамарев С.О., Дмитрієва О.А. Досвід застосування орального цефалоспориноу ІІІ покоління цефіксу (цефіксиму) в терапії гострих кишкових інфекцій у дітей. *Здоровье Украины* 2007; 11-12:70-1.
 18. Archambaud M., Gerbaud G. New extended-spectrum TEM-type beta-lactamase from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolated in a nosocomial outbreak. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39(2):458-61.
 19. Basualdo W., Arbo A. Randomized comparison of azithromycin versus cefexime for treatment of shigellosis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:374-7.
 20. Тихомирова О.В., Ныркова О.И., Кветная А.С., Железова Л.И. Опыт использования пероральной формы цефалоспориноу ІІІ покоління в терапії бактеріальних кишечних інфекцій у дітей. *Русский мед журн* 2007; 8:32.

Чувствительность клинических штаммов *Streptococcus pyogenes* к антисептическому препарату гексэтидину и антимикробным препаратам для системного применения

И. А. Эйдельштейн, Р. С. Козлов, А. Н. Чагарян

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия»
Минздрава России, Смоленск, Россия

Охарактеризована активность 8 антибиотиков и антисептика гексэтидина в отношении клинических штаммов *Streptococcus pyogenes*, выделенных у пациентов с инфекциями различной локализации. Все исследованные препараты сохраняют высокую активность в отношении стрептококков группы А, за исключением тетрациклина и хлорамфеникола. Анализ вре-

менных кривых роста–отмирания для штаммов *Streptococcus pyogenes* свидетельствует о стабильном бактерицидном эффекте гексэтидина в отношении исследованных штаммов с высоким (16 мг/л) и низким уровнем МПК (4 мг/л).

Ключевые слова: *Streptococcus pyogenes*, гексэтидин, антибиотики, антимикробная активность.

Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* Clinical Strains to Hexetidine and to Systemic Antimicrobials

I. A. Edelstein, R. S. Kozlov, A. N. Tchagaryan

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Minimal inhibitory concentrations (MIC) was used to describe the activity of 8 systemic antimicrobials and antiseptic hexetidine against clinical strains of *Streptococcus pyogenes*. All tested agents showed high activity against Group A streptococci, except tetracycline and chloram-

phenicol. Time-killing curves showed stable bactericidal effect of hexetidine against strains with both low (4 mg /l) and high (16 mg /l) MICs.

Key words: *Streptococcus pyogenes*, hexetidine, antibiotic, antimicrobial activity.

Контактный адрес:
Инна Александровна Эйдельштейн
Эл. почта: ie@antibiotic.ru

Введение

Streptococcus pyogenes (бета-гемолитический стрептококк группы А, БГСА) является наиболее распространенным возбудителем бактериального фарингита. Пенициллин считается препаратом выбора для лечения фарингита и других неинвазивных стрептококковых инфекций, а препараты группы макролидов рекомендуются в качестве альтернативных средств при наличии аллергических реакций у пациента на бета-лактамы антибиотики. Также при фарингитах могут местно использоваться антисептики, в частности гексэтидин (hexetidine), противомикробное действие которого обусловлено подавлением окислительных реакций метаболизма микроорганизмов [1, 2]. Гексэтидин обладает широким спектром активности в отношении бактерий и ряда грибов, а также оказывает слабое анестезирующее действие на слизистую оболочку.

Для оценки активности антимикробных препаратов, в соответствии с рекомендациями Комитета по клиническим лабораторным стандартам США (CLSI), применяется два методологических подхода: определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) препаратов и анализ временной кривой гибели бактерий [3]. Показатели МПК используются в качестве опорных значений для характеристики активности антибактериальных препаратов в отношении определенного вида микроорганизма *in vitro*. Однако метод построения и оценки временной кривой гибели микроорганизмов *in vitro* позволяет более точно проанализировать количество активно размножающихся бактерий в определенные промежутки воздействия ингибирующего вещества. Данный подход также используется для выявления антагонизма или синергизма между двумя (и более) антимикробными препаратами и для определения толерантности.

Целью настоящего исследования было изучение активности антимикробных препаратов в отношении штаммов *S. pyogenes*, выделенных у пациентов с инфекциями различной локализации, а также характеристика антимикробного действия гексэтидина на основе анализа временных кривых гибели микроорганизмов.

Материал и методы

Выделение, идентификация, транспортировка и хранение штаммов. В исследование включены клинические штаммы *S. pyogenes*, выделенные в 12 центрах Центрального (Москва, Смоленск, Ярославль, Калуга), Южного (Краснодар), Приволжского (Пермь), Уральского (Екате-

ринбург 3 центра), Сибирского (Иркутск, Томск) и Дальневосточного (Хабаровск) федеральных округов России. Идентификацию *S. pyogenes* в локальных лабораториях проводили с помощью рутинных методов, принятых в каждой лаборатории. В центральной лаборатории (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск) проводилась реидентификация 100% штаммов на основе изучения морфологии колоний на кровяном агаре, наличия β -гемолиза, отрицательной каталазной реакции, чувствительности к бацитрацину и положительных результатов латекс-агглютинации с использованием набора «Slidex Strepto-Kit» (bioMerieux, Франция). Для субкультивирования микроорганизмов использовали колумбийский агар (bioMerieux, Франция) с добавлением 5% дефибринированной лошадиной крови. Инкубация проводилась в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 (5%) при температуре 35 °С в течение 24 ч. До тестирования штаммы хранили в криобирках, содержащих триптиказо-соевый бульон (bioMerieux, Франция) с добавлением 30% стерильного глицерина (Sigma, США) при температуре -70 °С.

Определение чувствительности. В соответствии с рекомендациями CLSI/NCCLS [4] исследование чувствительности *S. pyogenes* с определением МПК проводили методом микроразведения в катион-сбалансированном бульоне Мюллера-Хинтона (BBL, США) с добавлением лизированной лошадиной крови (итоговая концентрация 5%).

Для приготовления бактериальной суспензии чистую суточную культуру микроорганизмов разводили в стерильном 0,9% растворе хлорида натрия до мутности, эквивалентной 0,5 по стандарту МакФарланда (DEN-1 McFarland Densitometr, BIOSAN, Латвия). Полученную взвесь *S. pyogenes* в стандартной концентрации 10^5 КОЕ/мл с помощью многоканальной пипетки вносили в лунки микротитровальных планшетов, которые инкубировали при температуре 35 °С в течение 20–24 ч в обычной атмосфере.

При тестировании использовали двойные серийные разведения химически чистых субстанций следующих антибиотиков: пенициллина (Sigma, Германия), эритромицина (Polfa, Польша), клиндамицина (Pfizer, США), левофлоксацина (Fluka, Германия), тетрациклина (Sigma, Германия), хлорамфеникола (Fluka, Германия), ко-тримоксазола (Sigma, Германия), ванкомицина (Eli Lilly, США), а также раствора антисептического препарата гексэтидина (SIGMA-ALDRICH, Германия).

Для тестирования гексэтидина из общей выборки *S. pyogenes* были отобраны штаммы, изолирован-

Таблица 1. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности штаммов *S. pyogenes* к антибиотикам (МПК, мг/л) и допустимые диапазоны МПК (в мг/л) для контрольного штамма *S. pneumoniae* ATCC® 49619

Антибиотик	<i>S. pyogenes</i>			<i>S. pneumoniae</i> ATCC® 49619
	Ч	УР	Р	
Пенициллин	≤0,12	–	–	0,25–1
Эритромицин	≤0,25	0,5	≥1	0,03–0,12
Клиндамицин	≤0,25	0,5	≥1	0,03–0,12
Тетрациклин	≤2	4	≥8	0,12–0,5
Левифлоксацин	≤2	4	≥8	0,5–2
Хлорамфеникол	≤4	8	≥16	2–8
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2	4–8	>8	0,12/2,4–1/19
Ванкомицин	≤1	–	–	0,12–0,5

Примечание. Ч – чувствительные, УР – умеренно резистентные, Р – резистентные штаммы.

ные из назофарингеального материала пациентов, что составило 274 культуры.

Контроль качества тестирования с использованием референтных штаммов *S. pneumoniae* ATCC®49619 и *S. pyogenes* ATCC®19615 при каждой постановке чувствительности проводили в соответствии с рекомендациями CLSI. Допустимые значения МПК для *S. pneumoniae* представлены в табл. 1.

Анализ временной кривой гибели микроорганизмов. Антимикробная активность гексэтидина была исследована с помощью анализа временной кривой гибели микроорганизмов с использованием метода разведений в бульоне в соответствии с рекомендациями CLSI/NCCLS [4]. В исследовании были включены штаммы *S. pyogenes* с МПК гексэтидина, равной 4 и 16 мг/л как наибольшее и наименьшее значение, полученное в результате анализа. Для выполнения процедуры были выбраны конечные концентрации гексэтидина, соответствующие одно-, двух- и четырехкратному увеличению МПК для каждого исследуемого штамма *S. pyogenes*. В каждый флакон, содержащий 5 мл бульона Мюллера–Хинтон (BBL, США), 5% дефибрированной лошадиной крови от общего объема и гексэтидин в необходимой концентрации, вносился тестируемый микроорганизм, находящийся в логарифмической фазе роста. Итоговая концентрация микробных клеток во флаконе составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Флаконы инкубировали при 35 °С в обычной атмосфере. Отобранные аликвоты суспензии (50 мкл) инокулировали на чашки, содержащие колумбийский агар (bioMerieux, Франция) с добавлением 5% дефибрированной лошадиной крови, с использованием Automated Spiral Plater (Spiral Biotech) через 0, 2, 4, 6, 8, 10 и 24 часа. Все исследования проводили в повторях, а в качестве

отрицательного контроля использовали флаконы без гексэтидина. Инкубирование чашек проводилось в атмосфере с повышенным содержанием CO₂ (5%) при температуре 35 °С. Подсчет растущих колоний осуществляли с использованием формул и таблиц расчета пакета SpiralBiotech QCount™ в соответствующих разведениях. Антимикробная активность препарата была интерпретирована как бактерицидная, если погибало 99,9% (≥3 lg) микроорганизмов от общего количества КОЕ/мл, содержащихся во внесенном инокулюме в нулевой точке. Бактериостатическая активность определялась как гибель менее чем 99,9% (<3 lg) микроорганизмов от общего количества КОЕ/мл, внесенных во флакон для культивирования.

Методы обработки данных и статистического анализа. Ввод данных, статистическая обработка и анализ полученных результатов проводился с использованием программного обеспечения компьютерных программ Microsoft® Office Excel 2010, SAS версия 6.12 (SAS Institute, США) и M-Lab (НИИАХ, Смоленск).

Результаты исследования

Распределение штаммов по центрам. В исследование включено 589 клинических штаммов *S. pyogenes*. Количество штаммов *S. pyogenes*, полученных в каждом из 12 центров исследования, представлено на рис. 1.

Резистентность штаммов *S. pyogenes*. Обобщенные результаты и критерии интерпретации определения чувствительности *S. pyogenes* представлены в табл. 2. Категория «нечувствительный» объединяла штаммы, обладавшие умеренным и высоким уровнем резистентности.

Кроме необходимости учета данных по чувствительности, важная роль в прогнозировании ситуа-

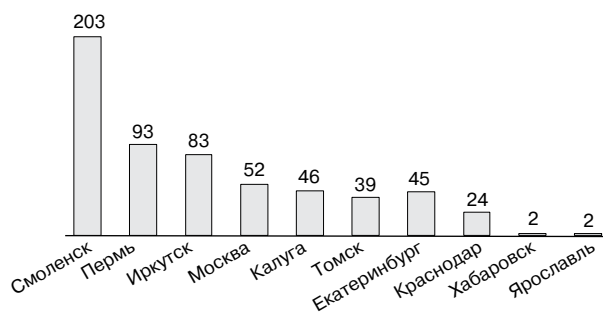


Рис. 1. Распределение штаммов *S. pyogenes* по центрам.

in vitro активностью: общая частота нечувствительных штаммов не превышает 5%. Для 3% штаммов МПК₉₀ эритромицина составляла 0,06 мг/л.

Количество нечувствительных к клиндамицину штаммов составило 0,7%, а его МПК₉₀ — 0,03 мг/л. Учитывая незначительный уровень резистентности к клиндамицину, можно предположить, что это обусловлено циркуляцией штаммов, имеющих ген *mefA* (М-фенотип), который отвечает за активный выброс из микробной клетки 14-членных макролидов (эритромицин и кларитромицин), но не обеспе-

Таблица 2. Результаты определения чувствительности штаммов *S. pyogenes* (n=589)

Антимикробный препарат	Ч, %	УР, %	Р, %	МПК ₅₀ , мг/л	МПК ₉₀ , мг/л	Диапазон МПК, мг/л
Пенициллин	100	0	0	0,03	0,03	0,03–0,125
Эритромицин	97	0,3	2,7	0,03	0,06	0,03–2
Клиндамицин	99,3	0	0,7	0,03	0,03	0,03–2
Тетрациклин	60,1	1,7	38,2	0,125	32	0,125–64
Левифлоксацин	100	0	0	0,5	1	0,015–2
Хлорамфеникол	87,3	0,3	12,4	2	32	0,06–64
Триметоприм/ сульфаметоксазол	100	0	0	0,125	0,25	0,03–1
Ванкомицин	100	0	0	0,5	0,5	0,03–1
Гексэтидин	—	—	—	8	16	0,03–64

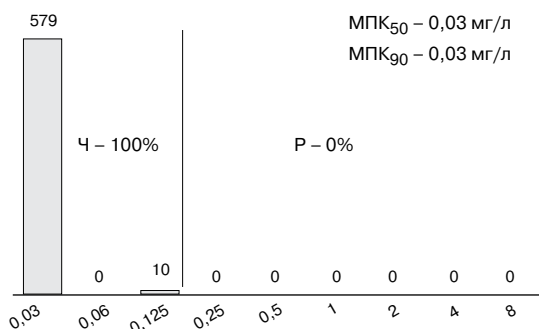


Рис. 2. Распределение МПК пеницилина для штаммов *S. pyogenes*.

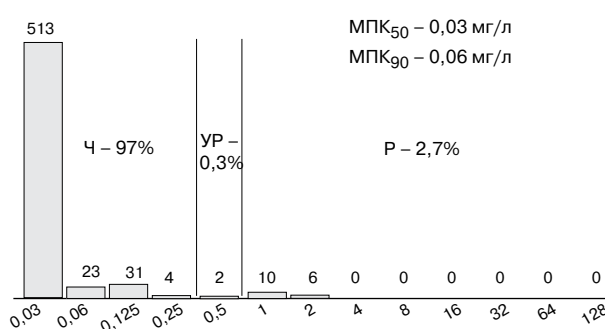


Рис. 3. Распределение МПК эритромицина для штаммов *S. pyogenes*.

ции с резистентностью принадлежит распределению штаммов по значениям МПК.

Бета-лактамы. *S. pyogenes* сохраняет высокую чувствительность к пенициллинам. Чувствительными к пенициллину были 100% штаммов БГСА. Значения МПК₅₀ и МПК₉₀ для штаммов *S. pyogenes* составляли 0,03 мг/л (рис. 2).

Макролиды и линкозамиды. Распределение штаммов *S. pyogenes* по значениям МПК эритромицина представлено на рис. 3.

Следует отметить, что в целом представители этой группы антибиотиков обладают высокой *in*

живает резистентность к 16-членным макролидам.

Распределение штаммов по значениям МПК клиндамицина представлено на рис. 4.

Фторхинолоны. Левифлоксацин характеризовался высоким уровнем активности в отношении исследованных штаммов *S. pyogenes*, его МПК₉₀ составляла 1 мг/л (рис. 5).

Тетрациклины. К тетрациклину нечувствительными были 39,9% исследованных изолятов *S. pyogenes* (рис. 6). В субпопуляции, представленной чувствительными микроорганизмами, 322 штамма имели МПК ≤ 0,125 мг/л, что соответствует зна-

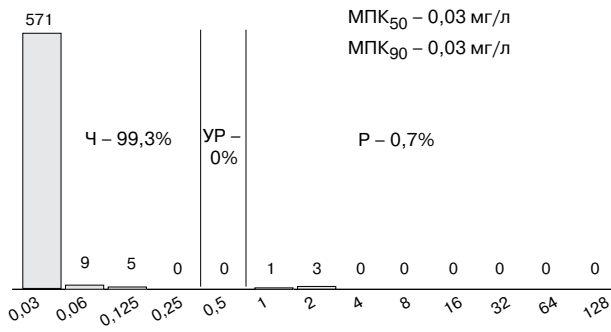


Рис. 4. Распределение МПК клиндамицина для штаммов *S. pyogenes*.

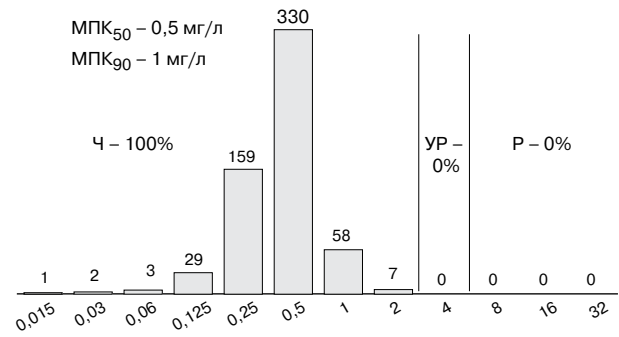


Рис. 5. Распределение МПК левофлоксацина для штаммов *S. pyogenes*.

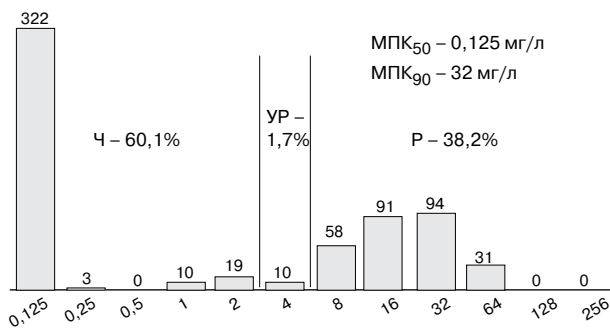


Рис. 6. Распределение МПК тетрациклина для штаммов *S. pyogenes*.

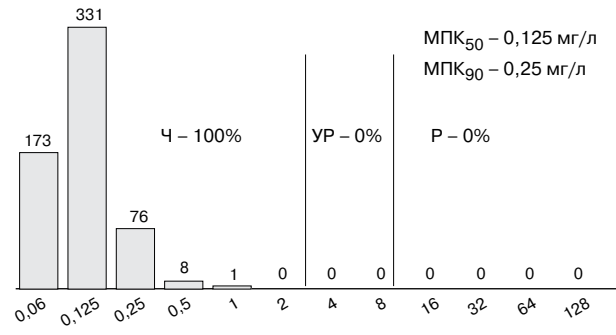


Рис. 7. Распределение МПК триметоприма/сульфаметоксазола для штаммов *S. pyogenes*.

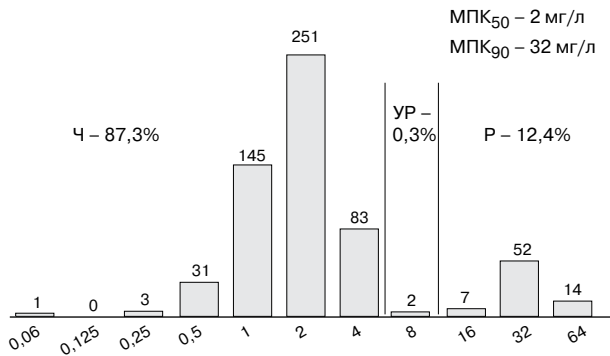


Рис. 8. Распределение МПК хлорамфеникола для штаммов *S. pyogenes*.

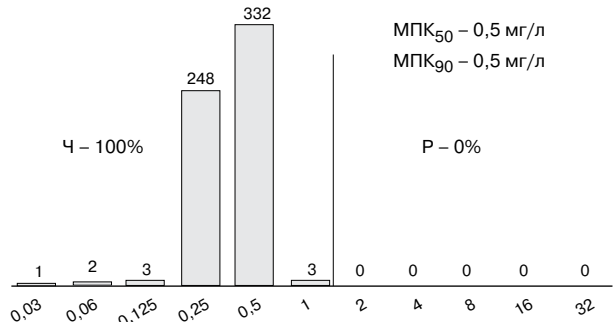


Рис. 9. Распределение МПК ванкомицина для штаммов *S. pyogenes*.

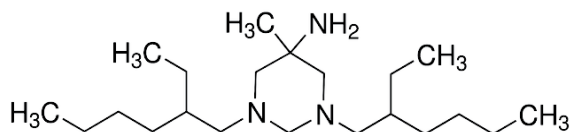


Рис. 10. Гексэтидин — 1,3-бис (2-этилгексил) гексагидро-5-метил-5-пиримидинамин.

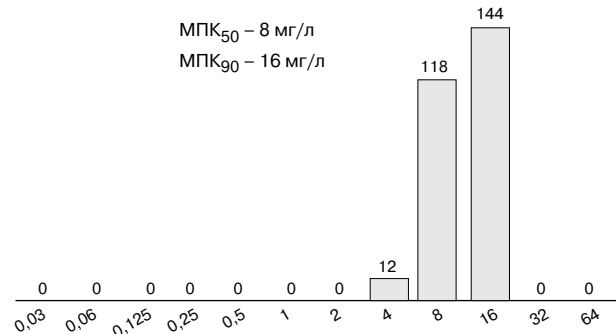


Рис. 11. Распределение МПК гексэтидина для штаммов *S. pyogenes*.

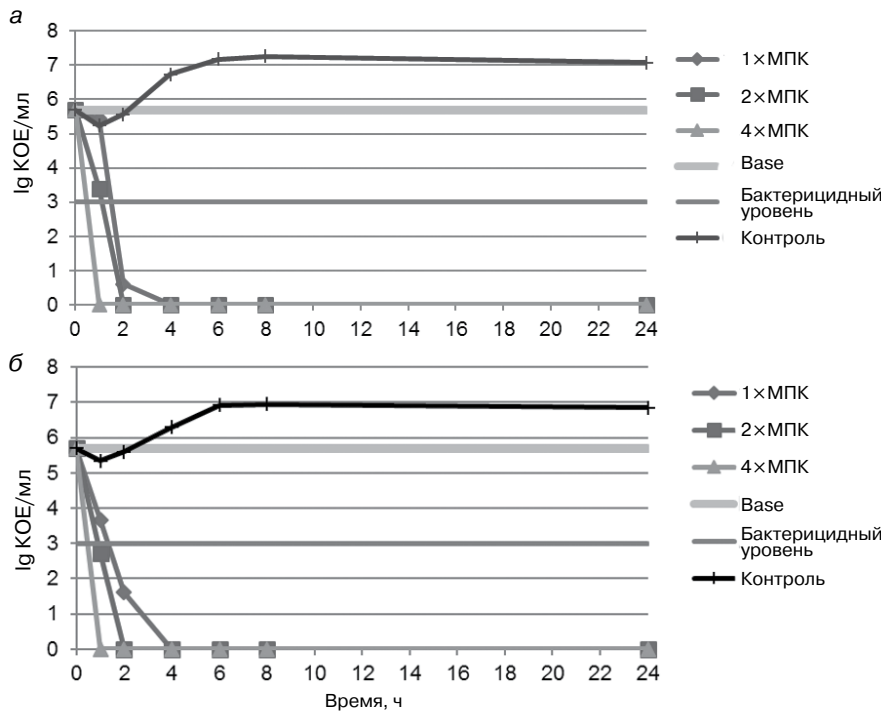


Рис. 12. Кривые роста–отмирания штаммов *S. pyogenes* с МПК 4 мг/л (а) и МПК 16 мг/л (б) гексэтидина.

чению, наблюдаемому у изолятов «дикого» фенотипа. Нечувствительные к тетрациклину штаммы были представлены двумя субпопуляциями: с низким (1,7% штаммов) и высоким (38,2% штаммов) уровнями резистентности с МПК тетрациклина соответственно 4 и ≥ 8 мг/л. Преобладание чувствительных штаммов подтверждается значением МПК₅₀ (0,125 мг/л). В то же время, МПК₉₀ (32 мг/л) находится в диапазоне значений, характерных для высоких показателей резистентности. Резистентность к тетрациклину в выборке эритромицинорезистентных штаммов БГСА была значительно выше (94,4% — 17 из 18 штаммов), чем среди эритромициночувствительных штаммов (36,4% — 208 из 571 штамма).

Триметоприм/сульфаметоксазол. Триметоприм/сульфаметоксазол характеризовался высокой активностью в отношении тестируемых штаммов БГСА (100% чувствительных). МПК₅₀ и МПК₉₀ составили соответственно 0,125 и 0,25 мг/л и нахо-

дятся в диапазоне чувствительности (рис. 7).
Хлорамфеникол. К хлорамфениколу нечувствительными были 12,7% изолятов (рис. 8). Его МПК₅₀ составила 2 мг/л и находится в диапазоне чувствительности. В то же время, МПК₉₀ (32 мг/л) находится в диапазоне резистентности.

Гликопептиды. Ванкомицин проявлял активность в отношении всех исследованных штаммов. Его МПК₅₀ и МПК₉₀ составляли 0,5 мг/л (рис. 9).
Гексэтидин. Химическая структура гексэтидина представлена на рис. 10.

Для исследования антибактериальных свойств гексэтидина было проанализировано 274 штамма *S. pyogenes*, выделенных из ротоглотки. Штаммы, выделенные из других источников или видов клинического материала, в исследование не включались. Поскольку на настоящий момент не существует критериев интерпретации для препарата, оценивались показатели МПК₅₀ и МПК₉₀, которые составили 8 и 16 мг/л соответственно (рис. 11).

Анализ временных кривых роста–отмирания *S. pyogenes*. Для оценки активности гексэтидина в отношении штаммов *S. pyogenes* с МПК 4 мг/л и *S. pyogenes* с МПК 16 мг/л были построены временные кривые роста–отмирания (рис. 12).

Гексэтидин демонстрирует бактерицидную активность как в отношении *S. pyogenes* с низким уровнем МПК (4 мг/л), так и с высоким уровнем МПК (16 мг/л) через 24 часа инкубирования. Снижение более чем на 3 lg видимого роста микроорганизмов наблюдается через 4 часа культивирования для всех выбранных концентраций гексэтидина.

Время гибели штаммов *S. pyogenes* дополнительно оценивалось при нескольких концентра-

Таблица 3. Время гибели штаммов *S. pyogenes* при различных концентрациях гексэтидина, входящих в состав лекарственных форм

Показатель	Концентрация гексэтидина, %		
	0,2	0,1	МПК гексэтидина, мг/л
Время гибели, ч	2	2	4
Время гибели, ч	4	–	16

циях гексэтидина, входящих в состав различных лекарственных форм: 0,1% раствора для наружного применения и 0,2% раствора для наружного применения в виде аэрозоля. При использовании 0,1% и 0,2% растворов препарата через 2 часа отсутству-

ет рост *S. pyogenes* с МПК, равной 4 мг/л, а через 4 часа наблюдается угнетение роста *S. pyogenes* с МПК 16 мг/л. Данные анализа для двух штаммов *S. pyogenes* представлены в табл. 3.

Литература

1. Karić E., Becić F. Hexetidine - an oral antiseptic. *Med Arh* 2002; 56(1):43-8.
2. Piloni A.P., Buttini G., Giannarelli D., et al. Antimicrobial action of Nitens mouthwash (cetyltrimethylammonium naproxenate) on multiple isolates of pharyngeal microbes: a controlled study against chlorhexidine, benzydamine, hexetidine, amoxicillin, amoxicillin-clavulanate, clarithromycin, and cefaclor. *Chemotherapy* 2002; 48(4):168-73.
3. NCCLS. (1999). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (6th ed.). Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents. Approved Standards. M26-A.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. – Fifth Edition Approved Standard M7-A5 NCCLS, Wayne, PA.

Мёд в лечении инфицированных ран

В. В. Привольнев, Н. В. Даниленков

ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

В последнее десятилетие исследователи «заново открыли» ряд антисептиков и методов лечения инфицированных ран, известных с глубиной древности. Одним из таких антимикробных веществ является пчелиный мёд. В публикации представлен взгляд на настоящее и потен-

циальное будущее применения мёда в лечении инфицированных ран с позиций доказательной медицины.

Ключевые слова: мёд, антимикробная активность, раневая инфекция.

Honey in the Treatment of Infected Wounds

V. V. Privolnev, N. V. Danilenkov

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

Honey is a traditional topical treatment for infected wounds was rediscovered in recent years. There are now many published reports describing the effectiveness of honey in rapidly clearing infection from wounds, with no adverse effects. In laboratory studies, it has been shown

to have an antimicrobial action against a broad spectrum of bacteria and fungi. It can be effective on antibiotic-resistant strains of bacteria.

Key words: honey, antimicrobial activity, wound infection

Введение

Мёд, как средство для лечения ран, известен с античных времён и в настоящее время переживает второе своё «открытие» в медицинской среде. В литературе накопилось большое число публикаций о положительном влиянии мёда при местном применении на инфицированные раны и на раневой процесс в целом. Впервые его положительное антибактериальное действие продемонстрировано за 2000 лет до открытия бактерий как причин инфекций. В 50 г. н.э. Диоскорид писал о мёде как о «золоте для гнойных ран и полостей» [1]. Позднее было продемонстрировано антимикробное действие мёда в отношении 60 видов аэробных и анаэробных

бактерий, а также грибов [2–4]. Постоянная озабоченность специалистов растущей антибиотикорезистентностью микроорганизмов привела к тому, что сейчас возрождается интерес ко многим ранее забытым антимикробным веществам. И пчелиный мёд в этом плане может рассматриваться как один из перспективных продуктов для лечения раневой инфекции.

Свойства мёда, делающие его антимикробным веществом

С точки зрения химии, мёд является многокомпонентным раствором с уникальными свойствами. Мёд обладает антибактериальным эффектом во многом благодаря осмотическому действию. Это было впервые продемонстрировано в 1892 году и позднее подтверждено вновь [5–13]. Мёд в виде сиропа или пасты ингибирует рост микроорганизмов из-за высокого содержания сахаров [14].

Контактный адрес:

Владислав Владимирович Привольнев

Эл. почта: vladislav.privolnev@gmail.com

В прошлом было доказано, что раны, в которых обнаруживали *Staphylococcus aureus*, быстро становились «стерильными» после начала лечения повязками с мёдом [15–19]. Гиперосмолярность раствора мёда в ране негативно действует на микроорганизмы. Основываясь на этом же принципе, сейчас работают некоторые виды современного перевязочного материала [20]. Осмолярный эффект при этом зависит от степени экссудации в ране. При «сухой» ране он максимальный, а при активной экссудации, в виду разведения мёда раневым отделяемым, концентрация сахаров снижается и антибактериальный эффект уменьшается [15, 16].

С другой стороны, умеренное предварительное разведение мёда усиливает его антибактериальную активность. Этот парадокс был замечен впервые в 1919 г. [21]. Объяснение было найдено через полвека. Оказалось, что при небольшом разведении мёда водой в нём активируется ферментная система, конечным продуктом работы которой является перекись водорода [22]. Степень такого разведения связана с разновидностью мёда [23]. Показать важность этого дополнительного антибактериального действия можно, сравнив применение мёда и раствора глюкозы. В эксперименте изучено действие этих средств для лечения ожоговых ран у свиней, где мёд оказался эффективней [24]. Другое клиническое исследование лечения глубоких пролежней показало отсутствие эффекта повязок с сахаром и полное заживление этих же пролежней за 6 недель после замены повязок с сахаром на повязки с мёдом [5, 6]. Таким образом, перекись водорода даёт преимущество мёду по сравнению с подобными гиперосмолярными продуктами [25].

В последние десятилетия роль перекиси водорода была пересмотрена в виду появления новых данных о её токсическом действии на ткани в ране [20, 26–28]. Но концентрация перекиси водорода в мёде, наблюдаемая после разведения, оказывается равной примерно 1 ммоль/л, что в 1000 раз меньше, чем концентрация в известном 3% растворе, используемом в качестве антисептика. Когда мы встречаем в литературе описание отрицательного влияния перекиси водорода на раневой процесс, речь всегда идёт о 3% растворе.

Мёд не только содержит меньшую концентрацию, но и сам защищает ткани от вредного воздействия перекиси водорода, препятствуя реакции со свободным железом, результатом которой являются свободные радикалы кислорода. Содержащиеся в мёде антиоксиданты также блокируют свободные радикалы [29, 30]. Известно, что в хронических ранах избыточная концентрация нейтрофилов приводит к увеличению концентрации свободных

радикалов. Это, в свою очередь, усиливает миграцию нейтрофилов к очагу воспаления. Разорвать данный порочный круг могут содержащиеся в мёде антиоксиданты [31–32].

Несмотря на то что уровень перекиси водорода в мёде чрезвычайно мал, его всё ещё достаточно для усиления антибактериального действия раствора. Это подтверждают данные известного исследования *Escherichia coli*, в котором для прекращения роста колоний в среде было достаточно концентрации перекиси водорода 0,02–0,05 ммоль/л. Такая концентрация не оказывает негативного действия на фибробласты кожи человека [33]. Ещё одним компонентом является метилглиоксаль, который обнаружен в различных концентрациях в мёде из разных источников. Мёд из Новой Зеландии — манука содержит метилглиоксаль, который является производным содержащегося в мёде дигидроксиацетона. Считается, что именно этот компонент придаёт данному сорту мёда выраженную антибактериальную активность. Предложено ранжировать мёд из Новой Зеландии по этому уникальному фактору — UMF (*Unique Manuka Factor*) как по терапевтической эффективности. Минимальным значением для медицинского использования служит 10 UMF, для лечения инфицированных ран — 20 UMF. Мёд с таким содержанием UMF получает на фармацевтическом рынке специальную маркировку — «UMF Manuka Honey» или «Active Manuka Honey». Концентрация метилглиоксаля может колебаться в широких пределах: от 38 до 761 мг/кг. По мнению новозеландских исследователей, антибактериальный эффект начинается с концентрации 100 мг/кг. Здесь уместно заметить, что в такой же концентрации метилглиоксаль содержится в какао и кофе. До исследования мёда эти продукты считались продуктами с самым высоким содержанием метилглиоксаля. Производители медицинских препаратов на основе мёда используют и другую маркировку — MGO (*МетилГлиОксаль*). Связь между условными единицами UMF и MGO показана в табл. 1.

Таблица 1. Соотношение между UMF и MGO

UMF, усл. ед.	MGO, усл. ед.
5	30
10	100
15	250
20	400
25	550

Мёд обладает противовоспалительным эффектом. В исследованиях на животных показано, что мёд уменьшает явления воспаления при лечении поверхностных и глубоких ожогов, а также глубоких посттравматических кожных ран. Эти выводы сделаны на основании гистологических исследований биоптатов ран [34, 35]. Существуют данные не только об антибактериальной активности мёда. Он может стимулировать Т- и В-лимфоциты из периферической крови в клеточной культуре при концентрации мёда 0,1% [36]. В 1% концентрации мёд в клеточной культуре способен стимулировать моноциты, высвобождать цитокины, интерлейкин-1, интерлейкин-6, фактор некроза опухолей [37]. Эти вещества, как известно, активируют иммунный ответ и помогают бороться с инфекцией. Ещё одно свойство мёда, возможно, также усиливает его антибактериальные свойства. Высокая концентрация сахаров в мёде обеспечивает низкий уровень рН, что приводит к активации макрофагов [38]. Значение рН отличается у мёда разных сортов и обычно находится в диапазоне от 3 до 4.

Описано «очищающее» действие мёда на раны, т. е. его способность ускорять переход раны из первой во вторую фазу раневого процесса [3, 4]. В рандомизированном контролируемом исследовании по этому показателю мёд не уступал гидрогелям [39]. В хронических ранах/язвах, где высокая концентрация протеаз ведёт к разрушению фактора роста кожи, цитокинов и компонентов внеклеточного матрикса (коллагена I типа) [20], такой эффект некрэктомии мёдом будет особенно востребован [40]. Упомянутые протеазы оптимально работают при щелочном значении рН, а мёд имеет кислую реакцию. В ране мёд разрушает ингибитор активатора плазминогена, что позволяет протекать реакции плазминоген-плазмин. Плазмин разрушает фибрин в ране и уменьшает количество нежизнеспособных тканей, что ускоряет заживление раны [2, 27]. Таким образом, с позиций современного понимания хронизации раневого процесса, мёд может оказаться эффективным средством перевода хронических ран в острые и ускорения формирования грануляционной ткани [20, 39].

Мёд разных регионов продемонстрировал свою антимикробную активность *in vitro* и *in vivo*. Есть данные о клиническом применении мёда в Сардинии, Йемене, Индии, Австралии, Новой Зеландии [41–43]. Исследователи решают вопрос стандартизации разных сортов мёда. Предложен параметр — MIC (the Minimum Concentration of honey necessary for complete Inhibition of bacterial growth) — минимальная концентрация мёда, необходимая для полного прекращения роста культуры бактерий.

Следует признать, что стандартизация мёда для корректного проведения исследований остаётся одной из сложных задач.

Лабораторные исследования мёда

Существует несколько исследований стандартизированного мёда. Наиболее изучен мёд из Новой Зеландии — manuka honey, получаемый пчёлами из растения *Leptospermum scoparium*. Это растение известно в Австралии и Океании под несколькими именами — Tea Tree, Manuka, Goo Bush или Jelly Bush. Всего описано 79 подвидов. Некоторые исследователи сомневаются в специфичности мёда, собранного на этих территориях. Большой интерес к мёду манука изначально был связан с традиционными методами лечения ран аборигенами Новой Зеландии. Но многие авторы и за пределами Новой Зеландии подтверждают высокую эффективность мёда, собранного с *Leptospermum scoparium*. В частности, ряд исследований провёл в 2008 г. Институт пищевой химии при техническом университете Дрездена [44]. Основу его антибактериальной активности составляет фитохимический компонент (метилглиоксаль). Другая разновидность мёда — мёд, собранный с других различных растений и обладающий активностью в отношении бактерий благодаря наличию перекиси водорода. Под второй разновидностью по сути, понимается мёд из всех остальных регионов мира.

Исследователи пытались сравнить «обычный» мёд и мёд manuka, специально лишённый присущей ему слабой активности перекиси водорода после предварительной обработки. Необходимость такого сравнения вызвана тем, что на предварительном этапе некоторые образцы мёда манука содержали концентрацию метилглиоксала до 1000 раз выше, чем образцы из различных регионов мира. Обе разновидности мёда показали антибактериальную активность в отношении 7 видов бактерий в широком диапазоне концентраций. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) при этом составила от 1,8 до 10,8%, т. е. даже разведённый, по крайней мере в девять раз, мёд сохранял способность подавлять рост микроорганизмов. Разведённый в 56 раз он продолжал ингибировать рост самого распространённого возбудителя раневых инфекций — *Staphylococcus aureus* [45]. В другом исследовании для подавления роста 58 клинических штаммов *S. aureus* необходима была 2–4% концентрация [19]. Для подавления активности штаммов *Pseudomonas* spp., полученных из инфицированных ран пациентов, обе разновидности мёда показали МПК в пределах 5,5–9% раствора [46]. Также было обнаружено, что антибиотикоустойчивые штам-

мы были чувствительны к раствору мёда аналогично антибиотикочувствительным штаммам. Так, МПК для 82 штаммов *метициллинорезистентного S. aureus* (MRSA) находится в пределах 3–8%, а для *ванкомицинорезистентного Enterococcus* (VRE) в пределах 5–20% [47]. В аналогичном исследовании концентрация МПК в отношении 8 штаммов MRSA и 16 штаммов VRE во всех случаях была менее 10% [48]. В настоящее время обе разновидности мёда считаются эффективными, и мёд из Новой Зеландии не показал значительного преимущества над обычным мёдом из различных источников.

Существует много опубликованных результатов лабораторных исследований, показывающих эффективность растворов мёда против разнообразных патогенов, выделенных от пациентов с инфекциями кожи и мягких тканей. Мёд эффективен против *S. aureus*, включая MRSA [49–51], против энтерококков, включая VRE [49, 52–54], против коагулазонегативных стафилококков [55–56], против *Acinetobacter* spp. [50, 52] и др.

Одной из важнейших проблем современной высокотехнологичной хирургии становятся биоплёнки. Рост числа разнообразных сосудистых, костных и других имплантов ведёт к увеличению числа пациентов с хроническими очагами инфекции, обусловленными биоплёнками [27, 57]. К сожалению, в исследованиях показано, что бактерии вне биоплёнок более чувствительны к мёду, чем в них. И всё же мёд эффективен в борьбе с биоплёнками и в профилактике их образования, что было показано в 2009 году [58]. *In vitro* уничтожались биоплёнки колоний *S. aureus* и *P. aeruginosa* [59–60], биоплёнки MRSA и VRE [61], *Streptococcus pyogenes* [62]. Добавление к среде даже одного компонента мёда манука — метилглиоксаля оказалось достаточным для ингибирования роста бактерий в биоплёнках [63]. Необходимо объединить и проанализировать данные этих исследований для понимания роли мёда в профилактике образования биоплёнок и в лечении хронических инфекций с доказанным присутствием биоплёнок.

Резистентность микроорганизмов к мёду

Любой новый антимикробный препарат рано или поздно сталкивается с проблемой резистентности микроорганизмов. Предприняты первые попытки поиска резистентных к мёду микроорганизмов путём инкубирования в слабых растворах мёда. Пока эти работы не увенчались успехом, но в будущем они будут продолжены [49–50].

Клиническое применение мёда

В литературе накопилось большое число клинических наблюдений эффективности местных препаратов мёда при лечении инфицированных ожогов, ран, трофических венозных язв, пролежней, синдрома диабетической стопы, абсцессов мягких тканей, нагноений эпителиальных копчиковых ходов, культей конечностей после ампутаций и некротизирующего фасциита [15, 64, 65–69]. При этом в большинстве случаев клиницисты не начинали лечение с растворов мёда, а были вынуждены применить его после неэффективности стандартных антисептиков и антибиотиков. В рандомизированном контролируемом исследовании послеоперационных инфицированных ран сравнили результаты лечения 26 пациентов, получавших перевязки с мёдом, и 24 пациентов, получавших перевязки с использованием этанола и повидон-йода. В группе пациентов получавших мёд, время заживления ран оказалось вдвое меньше, чем в группе с применением классических антисептиков [70]. В другом рандомизированном контролируемом исследовании показана более высокая эффективность мёда при лечении инфицированных ожогов, чем сульфадиазина серебра [71]. Интересным является также пример исследования, проведенного у 21 пациента с гангреной Фурнье [72, 73]. В группе пациентов, получавших антисептики, системная антибиотикотерапия назначалась по результатам микробиологического исследования и корректировалась. В группе пациентов с повязками мёда системная антибиотикотерапия была назначена изначально эмпирически. И хотя от пациентов в группе с применением повязок с мёдом были выделены полирезистентные штаммы, заживление в обеих группах проходило одинаково и конечные результаты оказались близки [65].

Изучается и репаративное действие мёда. Изначально в исследованиях на кроликах было показано ускорение регенерации ран по сравнению со стандартной терапией [74]. В нескольких небольших рандомизированных исследованиях ($n < 40$) было показано слабое защитное действие мёда у пациентов, подвергшихся радиационной терапии по поводу рака кожи, локализованного на голове или шее. В отношении сроков эпителизации были получены противоречивые данные [75]. В рандомизированном «двойном слепом» исследовании повязки с мёдом не показали преимущества по срокам заживления у пациентов с небольшими ранами по сравнению с повязками с гидрогелем [75, 76]. В аналогичном по дизайну исследовании инфекций, ассоциированных с вросшим ногтем,

повязки с мёдом не имели преимуществ по срокам заживления раны перед повязками с парафином и йодом [77]. Метаанализ этих трёх исследований подтвердил отсутствие преимуществ у мёда при лечении небольших ран по срокам эпителизации [78]. В то же время, рандомизированные контролируемые исследования пациентов с ожогами показали ускоренное заживление при применении мёда по сравнению с общепризнанными антисептиками, такими как сульфадиазин серебра [79], и современными повязками — полупроницаемыми полиуретановыми плёнками [80]. Мёд продемонстрировал преимущество и по сравнению с такими нетрадиционными материалами, как компоненты картофеля [81] и амниотическая мембрана [82].

Надежды на мёд возлагались и для лечения синдрома диабетической стопы, который обуславливает длительную госпитализацию и неудовлетворительные результаты для пациентов с сахарным диабетом второго типа [83]. В исследовании мёд показал такой же эффект, как и повидон-йод при лечении синдрома диабетической стопы в стадии Wagner 2 [84].

Нежелательные лекарственные реакции

Аллергические реакции на мёд известны, но не такие частые, как принято считать [85]. Аллергия обусловлена контактом не с самим мёдом, а инородными телами в нём — с компонентами пыльцы. При приготовлении мёда для медицинских целей раствор фильтруется и подобные частицы удаляются. Сейчас в электронных базах данных можно обнаружить более 500 публикаций о клиническом применении мёда без единого упоминания об аллергических реакциях [67–70]. Сообщается лишь о незначительных неприятных ощущениях у пациентов в месте аппликации мёда, что связано, скорее всего, с его кислой средой [86]. Есть предложения частично нейтрализовать низкую кислотность, что поможет исключить эти незначительные жалобы. Подобные ощущения испытывают и пациенты офтальмологического профиля, которым назначают растворы мёда в виде капель. В целом, использование мёда не вызывает значимых клинических нежелательных явлений, таких как боль, раздражение кожи и прочих, заставляющих отказаться от его применения. Также не описано системного действия препаратов мёда при местном применении. Проведённые гистологические исследования биоптатов ран после лечения препаратами мёда также не выявляют опасных изменений в цитологии и морфологии тканей [24].

Практические рекомендации по применению мёда для местного лечения ран

В разных странах зарегистрированы несколько коммерческих препаратов на основе мёда. Приоритет здесь принадлежит Новой Зеландии и Австралии, которые традиционно используют мёд манука для лечения ран. В частности, компания «Manuka Health» (Новая Зеландия) производит стерильные повязки с мёдом манука размером 10×10 см и 5×7 см. Показания для применения: лечение поверхностных ран, эрозий кожи, поверхностных ожогов. Повязки широко рекламируются как необходимые средства первой помощи в быту. Перед наложением повязки рана промывается стерильным раствором. Среди преимуществ повязки следует указать хорошую адсорбционную способность, уменьшение боли в ране и устранение неприятных запахов. Кратность перевязок — на усмотрение врача.

Одной из самых известных линий медицинских продуктов на основе мёда манука является продукция «Medihoney». Компания производит гель для ран (80% мёд манука), пасту (100% мёд), повязки, импрегнированные мёдом и альгинатом кальция (95% мёда), коллоидные повязки (100% мёд) и гидроколлоидные повязки (65% мёд). Таким образом, представлены несколько видов стерильных атравматических адсорбирующих повязок и средства для нанесения непосредственно на рану или в полости. В Австралии и странах Евросоюза в клинике используются готовые повязки компаний Medihoney Antibacterial Wound Gel, Medihoney Antibacterial Honey Barrier, а также Woundcare (Comvita Medical, Новая Зеландия).

В Европе, Австралии и Канаде в клиниках применяются комбинированные продукты для лечения ран. «Mesitran» — мазь содержащая мёд, подсолнечное масло, алоэ, календулу, витамины А, С, Е и оксид цинка; также — готовый перевязочный материал «Mesitran Hydro» (гидрогелевая повязка, 30% мёда), «Mesitran Border» и «Mesitran Net». Последние содержат мёд в небольшом количестве. В этих же странах пациентам назначают повязки «Tulle» (Advancis Medical) — трёхслойные материалы на основе вискозы, импрегнированные мёдом. Компания Advancis Medical выпускает также перевязочный материал «Algivon», представляющий собой комбинацию мёда и альгината кальция.

В Нидерландах, Бельгии, Великобритании и Греции доступны повязки «HoneySoft» (Mediprof), используемые преимущественно для лечения ожогов.

В качестве показаний большинство компаний упоминают лишь неглубокие свежие раны и поверхностные ожоги. Противопоказанием является индивидуальная непереносимость продуктов пчеловодства. Приведённые средства на основе мёда, преимущественно мёда манука, не используются в рутинной практике для лечения инфицированных ран, глубоких ожогов, хронических язв и некротизирующих инфекций, несмотря на многочисленные данные исследований. В настоящее время нет информации, что эти мази и повязки зарегистрированы для применения в России. Отечественные перевязочные средства, например линия повязок «Воскопран» и «Парапран» — атравматические сетчатые повязки, которые не содержат собственно мёда. В их производстве используются воск и парафин, повязки импрегнируются левомицетином, химотрипсином, метилурацилом и др.

Небольшое число коммерчески успешных продуктов на основе мёда и ограниченные показания к их применению связаны со многими трудностями при использовании мёда. Дизайн повязки, состав мази должны учитывать особенности этого природного материала.

Мёд при комнатной температуре может оказаться очень вязким и даже твёрдым. Это не является противопоказанием к его применению. От температуры тела пациента и разбавления экссудатом в ранах мёд быстро становится текучим и заполняет все полости. Мёд в чистом виде применяться для лечения не должен. Это связано не только с наличием пыльцы и повышенным риском аллергических реакций. Хотя мёд не даёт возможности вегетировать бактериям в нём, но всё же он может содержать споры микроорганизмов, включая таких возбудителей как клостридии. Поэтому мёд подвергается не только фильтрации для удаления всех инородных тел, но и стерилизации гамма-облучением [87].

Количество мёда для повязки зависит от степени экссудации раны. Следует помнить, что экссудат разбавляет мёд, что при слабой экссудации может усилить антибактериальное действие, а при сильной экссудации элиминировать мёд из раны. Для активации ферментных систем и повышения концентрации перекиси водорода в любом случае перед применением к мёду следует добавить $\frac{1}{20}$ часть воды. Частота смены повязок также зависит от экссудата. Для ран без экссудации рекомендуется менять повязку минимум 2 раза в неделю. Чем больше экссудата, тем чаще необходимо выполнять перевязки. Рекомендации по максимальной кратности не встречаются. Смена повязок

1 раз в сутки считается адекватной. При сильной экссудации требуется дополнительная вторичная повязка для адсорбции экссудата. Для эффективного применения мёда его нужно наносить на адсорбирующую повязку и только потом вместе с повязкой на рану. Это необходимо для предотвращения растекания мёда по коже, что упрощает и ускоряет наложение повязки. Ускорить эффективное распределение мёда в сложных ранах можно путём его предварительного нагревания до температуры тела пациента. В некоторых клинических ситуациях возможно модифицировать повязку, сделав между раной и повязкой с мёдом ещё один пористый слой повязки. Он не будет препятствовать миграции антибактериальных компонентов мёда, но предотвратит свободный контакт мёда и ложа раны. Возможно комбинирование мёда с современными перевязочными материалами, например с альгинатными повязками. В этом случае после достижения температуры тела альгинатный гель смешивается с мёдом и хорошо заполняет полости сложных ран, при этом оба вещества в полном объёме выполняют свои функции и не дезактивируют друг друга. Если рана имеет сложные ходы, свищи, полости, углубления, то рекомендуется дополнительно вручную заполнить их мёдом и уже сверху наложить повязку с раствором мёда. Для заполнения свищей можно использовать шприц и катетер. При этом не нужно опасаться вводить мёд в ходы и полости мягких тканей. Раствор является водорастворимым, подвергается биодеградации и после фильтрации не содержит инородных тел. Повязка с мёдом может выходить за края раны, чтобы обеспечить антибактериальное действие и в прилегающих тканях или даже играть роль профилактики инфицирования соседних тканей.

Кратко подытожим рекомендации для будущих производителей медицинских продуктов на основе мёда (табл. 2).

Заключение

Мёд использовался в прошлом и продолжает использоваться в клинической практике в настоящее время. Занять своё место в лечении инфицированных ран ему мешает ряд факторов: скептицизм и консервативность хирургического сообщества, отсутствие подобных альтернативных путей лечения ран в национальных стандартах, недостаточное число международных клинических исследований с надлежащим дизайном и слабая информированность медиков о новых достижениях и проблемах в области антимикробной терапии. Возможно, подобные публикации отчасти устранят эти проблемы.

Таблица 2. Основные рекомендации по местному использованию мёда

Показатели	Рекомендации
Подготовка мёда для медицинских целей	Фильтрация Стерилизация гамма-лучами
Сорт мёда	Используется свежий мёд. При возможности определить концентрацию метилглиоксаля, перекиси водорода и МПК. Применяется мёд с лучшими показателями
Показания к применению	Может быть применён в любой фазе раневого процесса (но более эффективен в первой) при следующих состояниях: инфицированные раны различной природы ожоги I–III степени пролежни I–IV стадии по Shea инфекции области хирургического вмешательства трофические язвы венозной и травматической этиологии синдром диабетической стопы, нейропатические язвы Wagner II–III стадии некротический фасциит эпителиальный копчиковый ход в фазе нагноения
Концентрация мёда в перевязочном материале	10%-ая является эффективной антимикробной концентрацией для всех ситуаций. Для большинства случаев достаточно 2–4% концентрации
Кратность перевязок	Для ран с минимальной экссудацией 2–3 раза в неделю; для ран с активной экссудацией 1 раз в день
Особенности применения	Оптимально использовать раствор мёда, нагретый до температуры тела, мёд наносить на повязку, а затем на рану. В раны с углублениями и свищами дополнительно вводить мёд непосредственно в полости
Сочетание с другими антисептиками	Одновременное местное применение с другими антисептиками не рекомендовано, так как практически не исследовалось. Возможно применение совместно с альгинатами
Фиксация повязки	Необходима вторичная повязка для абсорбции
Применение в полостях тела	Применение в полостях тела человека, включая полости суставов, не рекомендуется, так как действие мёда в полостях не исследовалось

Обзор исследований показывает, что препараты на основе мёда для лечения раневой инфекции заслуживают определенного места в клинике. Число торговых медицинских наименований мёда растёт. Число пациентов, не имеющих эффекта от стандартной терапии хирургических инфекций, увеличивается. Антибиотикорезистентность болезненных штаммов продолжает находиться на высоком уровне. Новые перспективные антисептики появляются редко. Новые эффективные перевязочные материалы очень дороги. Очевидно, что всё идёт к тому, что мёд может получить рекоменда-

ции к клиническому применению в ближайшем будущем. Уже сегодня в отдельных зарубежных стационарах препараты мёда являются средством выбора в лечении инфекций кожи и мягких тканей. Создано несколько видов перевязочного материала на основе мёда, и свободно реализуется фильтрованный стерилизованный мёд для приготовления повязок *ex tempore*. Есть уверенность, что с появлением новых доказательных данных будут разработаны клинические рекомендации по местному применению мёда в хирургии, травматологии, офтальмологии и педиатрии.

Литература

1. Gunther R.T. The Greek Herbal of Dioscorides. New York: Hafner; 1934 (reprinted 1959).
2. Molan P.C. The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity. Bee World 1992; 73(1):5-28.
3. Molan P.C. The evidence and the rationale for the use of honey as a wound dressing. Wound Practice and Research 2011; 19(4):204–20.
4. Molan P.C. The role of honey in the management of wounds. J Wound Care 1999; 8:415–8.
5. Dustmann J.H. Antibacterial effect of honey. Apiacta 1979; 14:7-11.
6. Bose B. Honey or sugar in treatment of infected wounds? Lancet 1982; 1:963.
7. Condon R.E. Curious interaction of bugs and bees. Surgery 1993; 113(2):234-5.
8. Green A.E. Wound healing properties of honey. Br J Surg 1988; 75(12):1278.

9. Keast-Butler J. Honey for necrotic malignant breast ulcers. *Lancet* 1980; 2(8198):809.
10. Mossel D.A. Honey for necrotic breast ulcers. *Lancet* 1980; 2(8203):1091.
11. Seymour F.I, West K.S. Honey – its role in medicine. *Med Times* 1951; 79:104-7.
12. Somerfield S.D. Honey and healing. *J R Soc Med* 1991; 84(3):179.
13. Tovey F.I. Honey and healing. *J R Soc Med* 1991; 84(7):447.
14. Chirife J., Herszage L., Joseph A., Kohn E.S. *In vitro* study of bacterial growth inhibition in concentrated sugar solutions: microbiological basis for the use of sugar in treating infected wounds. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23(5):766-73.
15. Efem S.E. Clinical observations on the wound healing properties of honey. *Br J Surg* 1988; 75(7):679-81.
16. Cavanagh D., Beazley J., Ostapowicz F. Radical operation for carcinoma of the vulva. A new approach to wound healing. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1970; 77(11):1037-40.
17. Armon P.J. The use of honey in the treatment of infected wounds. *Trop Doct* 1980; 10(2):91.
18. Braniki F.J. Surgery in Western Kenya. *Ann R Coll Surg Engl* 1981; 63:348-52.
19. Cooper R.A., Molan P.C., Harding K.G. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J R Soc Med* 1999; 92(6):283-5.
20. Привольнев В.В., Каракулина Е.В. Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекции. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 13(3):214-22.
21. Sackett W.G. Honey as a carrier of intestinal diseases. *Bull Colorado State Univ Agric Exp Stn* 1919; 252:1-18.
22. White J.W, Subers M.H, Schepartz A.I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73:57-70.
23. Dold H., Witzgenhausen R. Ein Verfahren zur Beurteilung der ertlichen inhibitorischen (keimvermehrungshemmenden) Wirkung von Honigsorten verschiedener Herkunft [Method of evaluation of the local inhibitory (antibacterial) substances of honeys from various origins]. *Z Hyg Infektionskr* 1955; 141:333-7.
24. Postmes T.J, Bosch M.M.C, Dutrieux R., van Baare J., Hoekstra M.J. Speeding up the healing of burns with honey. An experimental study with histological assessment of wound biopsies. In: Mizrahi A., Lensky Y., editors. *Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. New York: Plenum Press, 1997; 27-37.
25. Turner F.J. *Hydrogen Peroxide and Other Oxidant Disinfectants* (3rd ed). Philadelphia: Lea and Febiger, 1983.
26. Salahudeen A.K., Clark E.C., Nath K.A. Hydrogen peroxide-induced renal injury. A protective role for pyruvate *in vitro* and *in vivo*. *J Clin Invest* 1991; 88(6):1886-93.
27. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2011; 4:51-59
28. Светухин А.М., Блатун Л.А., Адамян А.А. Раны, инфекции, лечебные повязки. *Аптечное дело* 2002; 10:16
29. Bunting C.M. The production of hydrogen peroxide by honey and its relevance to wound healing. MSc thesis. University of Waikato. 2001.
30. Frankel S., Robinson G.E, Berenbaum M.R. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J Apic Res* 1998; 37(1):27-31.
31. Henriques A. Free radical production and quenching in honeys with wound healing potential. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(4):773-7
32. van den Berg A.J. An *in vitro* examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey. *J Wound Care* 2008; 17(4):172-8
33. Hyslop P.A., Hinshaw D.B., Scaufstatter I.U., Cochrane C.G., Kunz S., Vosbeck K. Hydrogen peroxide as a potent bacteriostatic antibiotic: implications for host defense. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(1):31-7.
34. Kumar A., Sharma V.K., Singh H.P., Prakash P., Singh S.P. Efficacy of some indigenous drugs in tissue repair in buffaloes. *Indian Vet J* 1993; 70(1):42-4.
35. Kandil A., El-Banby M., Abdel-Wahed K., Abou-Sehly G., Ezzat N. Healing effect of true floral and false non-floral honey on medical wounds. *J Drug Res (Cairo)* 1987; 17(1-2):71-5.
36. Abuharfeil N., Al-Oran R., Abo-Shehada M. The effect of bee honey on the proliferative activity of human B- and T-lymphocytes and the activity of phagocytes. *Food Agric Immunol* 1999; 11:169-77.
37. Tonks A., Cooper R.A., Price A.J., Molan P.C., Jones K.P. Stimulation of tnf-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine* 2001; 14(4):240-2.
38. Ryan G.B., Majno G. *Inflammation*. Michigan: Upjohn, 1977.
39. Gethin G.T., Cowman S. Manuka honey vs. hydrogel – a prospective, open label, multicentre, randomised controlled trial to compare desloughing efficacy and healing outcomes in venous ulcers. *J Clin Nurs* 2009; 18(3):466-74.
40. Tarnuzzer R.W., Schultz G.S. Biochemical analysis of acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen* 1996; 4(3):321-5.
41. Floris I., Prota R. Sul miele amaro di Sardegna [Bitter honey from Sardegna]. *Apic Mod* 1989; 80(2):55-67.
42. Fotidar M.R., Fotidar S.N. 'Lotus' honey. *Indian Bee J* 1945; 7:102.
43. Abbas T. *Royal treat. Living in the Gulf* 1997; 50-1.
44. Mavric E., Wittmann S., Barth G. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand *Molecular Nutrition & Food Research* 2008; 52:483-89.
45. Willix D.J., Molan P.C., Harfoot C.G. A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *J Appl Bacteriol* 1992; 73(5):388-94.
46. Cooper R.A., Molan P.C. The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas* infection. *J Wound Care* 1999; 8(4):161-4.

47. Allen K.L., Hutchinson G., Molan P.C. The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. First World Wound Healing Congress, 2000; Melbourne, Australia.
48. Cooper R.A., Halas E., Davies R., Molan P.C., Harding K.G. The inhibition of Gram-positive cocci of clinical importance by honey. First World Wound Healing Congress, 2000; Melbourne, Australia.
49. Cooper R.A. The efficacy of honey in inhibiting strains of *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns. J Burns Care Rehabil 2002; 23:366-70.
50. Blair S.E. The unusual antibacterial activity of medical-grade Leptospermum honey: antibacterial spectrum, resistance and transcriptome analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009; 28(10):1199-208.
51. Henriques A.F. The intracellular effects of manuka honey on *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29(1):45-50.
52. George N.M., Cutting K.F. Antibacterial honey (Medihoney™): *in vitro* activity against clinical isolates of MRSA, VRE, and other multiresistant gram-negative organisms including *Pseudomonas aeruginosa*. Wounds 2007; 19(9): 231-6
53. Sherlock O. Comparison of the antibacterial activity of Ulmo honey from Chile and manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Complement Altern Med 2010; 2(10):47.
54. Jenkins R. Manuka honey inhibits cell division in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 2011; 66(11):2536-4.
55. French V.M. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. J Antimicrob Chemother 2005; 56:228-31.
56. Cooper R.A. Testing the susceptibility to manuka honey of streptococci isolated from wound swab. J ApiProduct & ApiMedical Science 2011; 3(3):117-22.
57. Привольнев В.В., Родин А.В., Каракулина Е.В. Местное применение антибиотиков в лечении инфекций костной ткани. Клин микробиол и антимикроб химиотер 2012; 14(2):118-32.
58. Merckoll P. Bacteria, biofilm and honey: a study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm-embedded chronic wound bacteria. Scand J Infect Dis 2009; 41(5):341-7.
59. Alandejani T. Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Otolaryngol Head Neck Surg 2009; 141(1):114-8.
60. Okhiria O.A. Honey modulates biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* in a time and dose dependent manner. J ApiProduct & ApiMedical Science 2009; 1(1):6-10.
61. Cooper R. Inhibition of biofilms through the use of manuka honey. Wounds UK 2011; 7(1):24-32.
62. Maddocks S.E. Manuka honey inhibits the development of *Streptococcus pyogenes* biofilms and causes reduced expression of two fibronectin binding proteins. Microbiology 2012; 158:781-90.
63. Jarvis-Bardy J. Methylglyoxal-infused honey mimics the anti-*Staphylococcus aureus* biofilm activity of manuka honey: potential implication in chronic rhinosinusitis. Laryngoscope 2011; 121(5):1104-7.
64. Hutton D.J. Treatment of pressure sores. Nurs Times 1966; 62(46):1533-4.
65. Efem S.E. Recent advances in the management of Fournier's gangrene: preliminary observations. Surgery 1993; 113(2):200-4.
66. Harris S. Honey for the treatment of superficial wounds: a case report and review. Primary Intention 1994; 2(4):18-23.
67. Dunford C., Cooper R., Molan P. Using honey as a dressing for infected skin lesions. Nurs Times 2000; 96(14 Suppl):7-9.
68. Dunford C., Cooper R., White R.J., Molan P. The use of honey in wound management. Nurs Standard 2000; 15(11):63-8.
69. Natarajan S., Williamson D., Grey J.A., Harding K.G., Cooper R.A. Healing of an MRAS-colonised, hydroxyurea-induced leg ulcer with honey. J Dermat Treat 2001; 12:33-6.
70. Al-Waili N.S., Saloom K.Y. Effects of topical honey on post-operative wound infections due to gram positive and gram negative bacteria following caesarean sections and hysterectomies. Eur J Med Res 1999; 4(3):126-30.
71. Subrahmanyam M. A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. Burns 1998; 24(2):157-61.
72. Ефименко Н.А., Привольнев В.В. Гангрена Фурнье. Клин микробиол антимикроб химиотер 2008; 10(1):25-34.
73. Привольнев В.В., Савкин В.А.. Клиническая значимость и опыт лечения больных с гангреной Фурнье. Клиническая медицина 2008; 3(15):120-5.
74. Oryan A., Zaker S.R. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. Zentralbl Veterinarmed A 1998; 45:181-8.
75. Rashad U.M., Al-Gezawy S.M., El-Gezawy E., Azzaz A.N. Honey as topical prophylaxis against radiochemotherapy-induced mucositis in head and neck cancer. J Laryngol Otol 2009; 123:223-8.
76. Ingle R., Levin J., Polinder K. Wound healing with honey-a randomised controlled trial. S Afr Med J 2006; 96:831-5.
77. Marshall C., Queen J., Manjooran J. Honey vs povidine iodine following toenail surgery. Wounds 2005; 1(1):10-8.
78. Jull A.B., Rodgers A., Walker N. Honey as a topical treatment for wounds. Cochrane Database Syst Rev 2008(4): CD005083.
79. Mashhood A.A., Khan T.A., Sami A.N. Honey compared with 1% silver sulfadiazine cream in the treatment of superficial and partial thickness burns. J Pak Assoc Dermatol 2006; 16:14-9.
80. Subrahmanyam M. Honey impregnated gauze versus polyurethane film (OpSite) in the treatment of burns-a prospective randomised study. Br J Plast Surg 1993; 46:322-3.
81. Bangroo A.K., Katri R., Chauhan S. Honey dressing in pediatric burns. J Indian Assoc Pediatr Surg 2005; 10:172-5.

82. Subrahmanyam M., Sahapure A.G., Nagane N.S., Bhagwat V.R., Ganu J.V. Effects of topical application of honey on burn wound healing. *Ann Burns Fire Disasters* 2001; 14(3):22-4.
83. Привольнев В.В., Решедько Г.К., Земляной А.Б., Бублик Е.В. Лечение пациентов с синдромом диабетической стопы в г. Смоленске по результатам анкетирования. *Доктор.Ру* 2012; 1(69):65-70.
84. Shukrimi A., Sulaiman A.R., Halim A.Y., Azril A. A comparative study between honey and povidone iodine as dressing solution for Wagner type II diabetic foot ulcers. *Med J Malaysia* 2008; 63(1):44-6.
85. Bauer L., Kohlich A., Hirschwehr R., et al. Food allergy to honey: pollen or bee products? Characterization of allergenic proteins in honey by means of immunoblotting. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97(1 Pt 1):65-73.
86. Betts J.A., Molan P.C. A pilot trial of honey as a wound dressing has shown the importance of the way honey is applied to wounds. 11th Conference of the European Wound Management Association, 2001; Dublin, Ireland.
87. Molan P.C., Allen K.L. The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48(11):1206-9.

Разработка модели хламидийного артрита на крысах

Н. И. Колкова, О. И. Роздина, Е. А. Королева, Е. Д. Федина, Л. А. Шабалина, Е. Ю. Моргунова, Н. А. Зигангирова

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

Цель. Создание и детальная характеристика модели экспериментального хламидийного артрита на крысах.

Материал и методы. В опытах использовали крыс-самцов линии Wistar, которым вводили в суставную полость по 0,15–0,20 мл очищенных элементарных тел *Chlamydophila (Chlamydia) trachomatis* L2/Bu-434 или *Chlamydophila (Chlamydia) muridarum* Nigg. Животные были разделены на две группы – молодые самцы весом 350–380 г и взрослые крысы весом 450–500 г.

Результаты. У крыс, зараженных штаммом Nigg *C. muridarum*, никаких изменений в зараженных суставах не отмечено. У крыс, инфицированных штаммом L2/Bu-434 *C. trachomatis*, уже на следующий день отмечали болевой синдром. У зараженных животных были типичные для артрологической патологии функциональные, морфологические и гистологические изменения. Молодые крысы отвечали на инфек-

цию меньшим отеком и быстрее восстанавливались. У второй возрастной группы животных отмечалась сильная воспалительная реакция, которая выражалась в более значительном увеличении суставов; процесс восстановления шел медленнее, чем у молодых крыс. Было показано, что возбудитель размножается в клетках синовиальной ткани, и пик накопления соответствует клинической картине.

Выводы. Разработанная модель может быть использована для изучения эффективности известных антибактериальных препаратов для лечения осложненной хламидийной инфекции, связанной с поражением суставов. Эта модель необходима для поиска новых антихламидийных препаратов.

Ключевые слова: артрит, крысы, экспериментальная модель, хламидии, культуральный метод, ПЦР.

Development of Chlamydial Arthritis Model in Rats

N. I. Kolkova, O. I. Rozdina, E. A. Korolyova, E. D. Fedina, L. A. Shabalina, E. Yu. Morgunova, N. A. Ziganigirova

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

Objective. To develop and characterize experimental model of chlamydial arthritis in rats.

Material and Methods. Wistar male rats received an intra-articular injection of 0.15–0.20 ml of purified elementary bodies of *Chlamydophila (Chlamydia) trachomatis* L2/Bu-434 or *Chlamydophila (Chlamydia) muri-*

darum Nigg. Animals were divided into two groups: young rats (body weight: 350–380 g) and adult rats (body weight: 450–500 g).

Results. No changes in the affected joints were observed in rats infected with *C. muridarum* Nigg. In contrast, rats infected with *C. trachomatis* L2/Bu-434 exhibited pain syndrome on the next day after exposure. Infected rats had functional, morphological, and histological changes corresponding to arthritis. Young rats responded to the infection with lesser edema and

Контактный адрес:

Наталья Ивановна Колкова

Эл. почта: kolkova.natalia@yandex.ru

recovered more rapidly. Adult rats had severe inflammatory response with more significant joint enlargement and slower recovery than young rats. The pathogen was shown to grow in synovial tissue cells, and peak accumulation corresponds to clinical presentation.

Conclusions. This model can be successfully used for evaluating efficacy of known antimicrobial agents in the

treatment of chlamydial infection with joint involvement. This model may be useful for a search of new antichlamydial drugs.

Key words: arthritis, rats, experimental model, *Chlamydia*, culture, PCR.

Введение

Иммуновоспалительные заболевания суставов, которые возникают одновременно с инфекционным процессом или вскоре после него, получили название *реактивные артриты* (РеА). До недавнего времени эта болезнь носила имя немецкого врача Рейтера. Термин РеА был предложен финскими учеными К. Аho и Р. Ahvonen в 1969 г. для обозначения артритов, развивающихся после перенесенной иерсиниозной инфекции. В настоящее время предпочтение отдается термину «реактивный артрит» [1–4].

В преобладающем большинстве случаев РеА ассоциируется с острой или персистирующей инфекцией, вызываемой энтеробактериями (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* и *Yersinia*) и с острой или персистирующей урогенитальной инфекцией, вызываемой *Chlamydomphila* (*Chlamydia*) *trachomatis*. Инфекции дыхательных путей, связанные с *Mycoplasma pneumoniae* и, особенно, *Chlamydomphila* (*Chlamydia*) *pneumoniae*, также могут предположительно служить причиной РеА. Случаи РеА, ассоциированные с кишечной инфекцией и инфекцией, вызванной *C. trachomatis*, развиваются преимущественно у генетически предрасположенных лиц. Хламидии, первично обитающие в мочеполовых органах, являются источником суставной патологии, возникающей на фоне генетической предрасположенности у лиц, имеющих HLA-B-27 антиген. В среднем 1–4% больных с наличием инфекционного агента подвержены заболеванию РеА [5–8].

Первые исследования, указавшие на возможную роль хламидий в этиопатогенезе РеА, были проведены еще в 60-е годы прошлого столетия А. Siboulet и Р. Galistin [9], в нашей стране — И.А Жодзишским [10–11]. Они выявили хламидии в соскобах из уретры больных РеА.

Выделение хламидий не только из уретры и конъюнктивы, но и из пораженных суставов больных было достигнуто в 1968 г J. Schachter и соавт. Ими был выделен из коленного сустава штамм 25-Sm *C. trachomatis* [12–13]. В 1973 году А.А. Шаткиным и сотр. из коленных суставов двух больных с диагнозом РеА были выделены два

штамма CP-1 и AP-23 *C. trachomatis* и изучены их биологические свойства. Проведено сравнительное изучение особенностей штаммов, выделенных из суставов больных РеА, штамма *C. trachomatis*, выделенного из урогенитального тракта при РеА, и штаммов, выделенных из конъюнктивы и уретры у больных с хламидийной патологией. Установили, что штаммы *C. trachomatis*, выделенные из суставов при РеА, обладают широким спектром патогенности для лабораторных животных, легко культивируются в культуре клеток, проявляют резистентность к сульфониламидам и вызывают характерные артриты у кроликов [14–18].

Изучение клинических проявлений суставной патологии и общей патологии при артритах, связанных с урогенитальной инфекцией, в том числе и при РеА, было начато в 70-е годы в Институте ревматологии АМН Э.Р. Агабабовой, С.М. Сидельниковой и С.В. Шубиным [19–21].

К настоящему времени показано, что в структуре РеА хламидийные артриты составляют до 80%. Наиболее подверженная заболеванию группа населения — мужчины в возрасте от 20 до 40 лет. Воспалительный процесс в суставах обычно продолжается в течение 3–6 месяцев, но у части больных (20–50%) приобретает хронический характер. Тяжелое нарушение функции суставов возникает у 15% больных. Наиболее тяжелое течение отмечают у ВИЧ-инфицированных [22, 23].

В настоящее время связь хламидий и РеА может быть установлена по выявлению патогенного микроорганизма в мочеполовых путях, суставах, конъюнктиве больного, по серологическим и иммунологическим показателям.

Создание экспериментальной хламидийной модели на лабораторных животных — важный инструмент изучения патогенеза заболевания, необходимый для установления сходства и отличий в патологии человека, вызываемой этими микроорганизмами, и для дальнейшей разработки новых противохламидийных препаратов.

В 1973 году появились сообщения D.E. Smith et al. об экспериментальном хламидийном артрите у новозеландских кроликов и у обезьян *Mascas mulatta*. Животных заражали в полость коленно-

го сустава штаммом 25-Sm *C. trachomatis*. У 12 зараженных обезьян первые признаки воспаления сустава обнаруживали через 24–48 часов при средней длительности клинических проявлений артрита до 33 дней. У двух обезьян, умерщвленных на 2-й день после заражения, инфекционный агент был выделен из синовиальной жидкости и синовиальной оболочки пораженного сустава. В последующие сроки до 123-го дня инфекционный агент в суставных тканях выявить не удалось [24].

По данным тех же авторов, внутрисуставное заражение штаммом 25-Sm *C. trachomatis* 48 кроликов привело к возникновению у 47 животных острого локализованного артрита на 1–4-е сутки. Авторы сообщили также, что у 44 из 47 длительно наблюдаемых кроликов артрит принимал хроническое течение, у некоторых из них — до 13 месяцев. Попытки выделения инфицирующего агента показали его присутствие непосредственно в зараженных суставах на 2-й, 17-й и в одном случае на 107-й день.

Важно отметить, что, по данным D. E. Smith et al., артриты у обезьян и кроликов развивались не только при заражении штаммом 25-Sm *C. trachomatis*, но и при использовании лабораторных культур родственных микроорганизмов: возбудителя орнитоза *C. psittaci* (штамм HAV), венерической лимфогранулемы *C. trachomatis* штамм 33 L, штамма *C. trachomatis*, выделенного из уретры больного артритом и простатитом (69 SF). Возбудитель конъюнктивита с включениями *C. trachomatis* (штамм ICCal 3) при прямом введении в коленный сустав обезьянам вызывал артрит, но не сопровождался подобными патологическими проявлениями при введении его кроликам.

Обсуждая результаты изучения патогенности артритного штамма 25-Sm *C. trachomatis* для кроликов, авторы на основании клинической картины и патоморфологических изменений выявили способность изученного микроорганизма вызывать хронический артрит, аналогичный артритам, наблюдаемым у людей при РеА.

В 1980 году Н. И. Щербаковой моделирование хламидийного артрита проводилось на 23 кроликах, которых заражали непосредственно в коленный сустав штаммами CP-1 и AP-23 *C. trachomatis*. У подопытных кроликов уже на 2–5-й день после заражения отмечали первые признаки функциональных и воспалительных изменений инфицированных коленных суставов. Воспалительные явления в зараженных суставах сохранялись в течение 1–3 месяцев, однако даже через 6–13 месяцев наблюдались остаточные формы нарушения движений в коленном суставе. Результаты обнаружения

микроорганизма в синовиальной оболочке и синовиальной жидкости, в коленном суставе кролика были положительными до 18–20-го дня после заражения. Характер патоморфологических изменений, выявляемых в пораженных суставных тканях, вызванных этими штаммами хламидий, напоминал признаки хронических артритов, наблюдаемых у людей, в том числе и при РеА [17, 18, 25, 26].

Ограниченные возможности использования обезьян и кроликов при моделировании хламидийного артрита привели к поиску других модельных систем.

R. D. Inman и В. Chiu смоделировали экспериментальный артрит у взрослых крыс. В работе использовали крыс линии Levis. Животных заражали в коленный сустав серотипом L2 *C. trachomatis*. Предварительно авторы получали перевиваемую линию синовиальных фибробластов из коленных суставов крыс этой линии. Заражали клетки серотипом L2 и, получив зрелые включения, вводили их в дозе 2×10^5 ВОЕ/мл в сустав крысы. Первые признаки воспаления сустава авторы наблюдали через 48 часов. Морфогистологические изменения в зараженных суставах наблюдали до 50-го дня. Возбудитель из зараженного сустава выделяли до 14-го дня с момента заражения. Через три недели возбудитель выделить из сустава не удалось [27].

Сравнивая данные Н. И. Щербаковой, полученные при изучении биологических особенностей штаммов CP-1 и AP-23 *C. trachomatis*, штамма 25-Sm, полученного от J. Schachter (штаммы выделены из суставов больных РеА), с данными D. E. Smith et al., использовавших в своих работах по моделированию штамм 25-Sm *C. trachomatis*, а также возбудителей орнитоза и венерической лимфогранулемы, и работу R. D. Inman и В. Chiu на крысах, следует предположить наличие выраженного суставного тропизма не только у хламидий, выделенных из суставов больных людей, но также и у ряда других биологически родственных представителей порядка *Chlamydiales*. Тем самым, экспериментальное моделирование хламидийного артрита на животных убедительно доказало роль *C. trachomatis* как пускового фактора при данной патологии.

Задачей данной работы явилось создание и детальная характеристика модели экспериментального хламидийного артрита на крысах с целью поиска новых антихламидийных препаратов, эффективных при РеА.

Материал и методы

Культивирование хламидий в культуре клеток. Для получения культур *C. trachomatis* штамма L2/

Bu434 и *C. muridarum* штамма Nigg использовали суточный монослой клеток McCoу, выращенный в культуральных флаконах площадью 25 см². Заражение клеток хламидиями проводили в соотношении бактерия:клетка 1:1 в необходимом объеме транспортной среды (среда DMEM с 5% фетальной сыворотки, 25 мМ раствора глюкозы, 5 мкг/мл амфотерицина, 4 мкг/мл гентамицина, с добавлением циклогексимида 2 мкг/мл). Для стимуляции взаимодействия инфекции с клетками флаконы центрифугировали при 3000 об/мин в течение часа при температуре 25 °С. Затем флаконы помещали в среде СО₂ на 48 ч при 37 °С. Это обеспечивало получение 80–90% инфицированных клеток. Надосадок удаляли, а клетки снимали с помощью стеклянных бус 5 мл сахарозно-фосфатно-глутаминового буфера (SPG), после чего лизировали ультразвуковым дезинтегратором. Очистку *элементарных телец* (ЭТ) проводили путем осаждения детрита клеток при 1000 об/мин с последующим центрифугированием надосадка при 14000 об/мин в течение 1 часа при 4 °С. Полученный осадок ЭТ суспендировали в 1 мл SHG и хранили при температуре –70 °С.

Заражение животных. В опытах использовали крыс — взрослых самцов линии Wistar, весом от 300 до 500 г Очищенные ЭТ *C. trachomatis* штамм L2/Bu-434 или *C. muridarum* штамм Nigg вводили подопытным животным в суставную полость по 0,1–0,15 мл латерально.

Контролем служили крысы, которым в коленный сустав вводили: 1) препарат, приготовленный из незараженных клеток McCoу по методике, аналогичной выделению ЭТ; 2) ЭТ, инактивированные УФ в течение 30 мин.

Зараженных животных наблюдали ежедневно до 42 дней. Критериями оценки заболевания служили: изменение поведения крыс; воспалительные явления и болезненные проявления в зараженных суставах, определяемые при осмотре; нарушение движения в инфицированных суставах; патоморфологические изменения суставов; выявление хламидий в пораженных тканях сустава, осуществляемое иммуногистохимическим методом, выделением возбудителя культуральным методом и определением ДНК в сыворотке крови методом ПЦР.

Иммуногистохимический метод окраски мазков-отпечатков. Крыс умерщвляли на 3, 6, 7, 9, 10, 20, 30 и 42 дни после заражения. Сустав обрабатывали спиртом, вскрывали скальпелем и ножницами. Раскрывали суставную полость и из тканей пораженных суставов делали мазки-отпечатки на поверхности обезжиренного предметного стекла, подсушивали на воздухе, после чего фиксировали

холодным ацетоном в течение 15 мин. Затем наносили моноклональные меченные ФИТЦ антитела к основному белку наружной мембраны *C. trachomatis* и инкубировали в течение 30 мин во влажной камере при 37 °С. После инкубации стекла тщательно промывали 2 раза раствором ФСБ. Препарат полностью высушивали, монтировали при помощи монтирующей жидкости покровными стеклами и исследовали в люминесцентном микроскопе.

Заражение клеток McCoу соскобным материалом. Для выделения возбудителя культуральным методом с поверхности головок сустава — синовиальной оболочки, синовиальной жидкости и хряща — одноразовыми клеточными щетками брали соскоб, щетки помещали во флаконы с 1 мл транспортной среды (среда DMEM с добавлением 5% фетальной сыворотки крупного рогатого скота и 25 мМ глюкозы) и помещали в холодильник при –70 °С. Материал, исследуемый на наличие хламидий, перед заражением оттаивали, тщательно пипетировали.

Заражение проводили в 24-луночных стерильных одноразовых планшетах с 24-часовым монослоем клеток McCoу. В каждую лунку вносили по 0,5 мл исследуемого материала. Планшеты центрифугировали (3000 об/мин, 1 час), 2 часа инкубировали в термостате с СО₂, инокулят удаляли, дважды промывали средой DMEM, после чего в лунки добавляли транспортную среду с циклогексимидом из расчета 2 мкг/мл и инкубировали при температуре 37 °С. Оценку результатов проводили через 48 часов при окрашивании мечеными ФИТЦ *C. trachomatis* специфическими моноклональными антителами и просмотре в люминесцентном микроскопе Nikon (окуляры 1.3, объектив ×100).

Выделение ДНК из органов. Для исследования использовали образцы сыворотки крови объемом 1 мл. Проводили лизис при температуре 65 °С в течение 1 часа в 1 мл лизирующего буфера с протеиназой К (ЗАО «Синтол»). Далее выделение ДНК проводили на приборе NucliSens easyMAG (bioMerieux, Франция) в соответствии с протоколом.

ПЦР-РВ. Количественное определение ДНК хламидий в органах проводили с использованием количественного варианта ПЦР-РВ. Использовали набор реагентов для обнаружения ДНК *C. trachomatis* (ЗАО «Синтол»). Для постановки ПЦР-РВ использовали амплификатор АНК-32 и амплификатор CFX96 фирмы Bio-Rad (США).

Статистическую обработку данных и построение графиков осуществляли с использованием программ GraphPad Prizm 4 и Microsoft Office Excel.

Результаты исследования

Создание модели хламидийного артрита проводили на самцах-крысах линии Wistar. Крыс заражали непосредственно в правый коленный сустав.

На первом этапе сравнивали эффективность заражения при использовании двух видов: *C. trachomatis* штамм Вu-434 серотип L2 и *C. muridarum* штамм Nigg.

Крысам весом 350–450 г латерально в коленный сустав вводили суспензию ЭТ *C. trachomatis* в количестве 1×10^6 ВОЕ и *C. muridarum* в количестве 7×10^5 ВОЕ.

Контролем служили крысы, которым в коленный сустав вводили препарат, приготовленный из незараженных клеток McCoу по методике, аналогичной выделению ЭТ.

Крыс наблюдали в течение двух недель. В контрольной группе на протяжении всего опыта изменений в коленных суставах у всех крыс не отмечали: животные оставались активными, зараженные суставы были подвижными, признаков отека не было.

У крыс, зараженных штаммом Nigg *C. muridarum*, так же как и в контрольной группе, никаких изменений отмечено не было: животные были подвижными и активными. Зараженные конечности оставались подвижными, болевого синдрома не было, латеральная ширина зараженных суставов не отличалась от размеров незараженных суставов. В мазках-отпечатках, сделанных из тканей коленных суставов, зараженных штаммом Nigg, на 6-й, 10-й и 13-й день после инфицирования возбудитель не был выявлен.

У крыс, инфицированных штаммом Вu-434 серотип L2 *C. trachomatis*, уже на следующий день отмечали болевой синдром. При пальпации опытного коленного сустава животные отдергивали конечность. В течение первой недели состояние зараженных конечностей с каждым днем заметно ухудшалось. Подвижность конечностей уменьшалась. Объем активных и пассивных движений снижался. Суставы увеличивались в размере. К седьмому дню общее состояние крыс улучшилось, несмотря на хорошо заметные воспаленные суставы. Однако крысы оставались малоактивными и вялыми. У крыс, умерщвленных на 10-й и 13-й дни после заражения, в мазках-отпечатках ткани коленных суставов, инфицированных штаммом L2, выявляли морфологические структуры хламидий (рис. 1).

Дальнейшая работа проводилась на крысах линии Wistar с использованием штамма Вu-434 серотип L2 *C. trachomatis*.

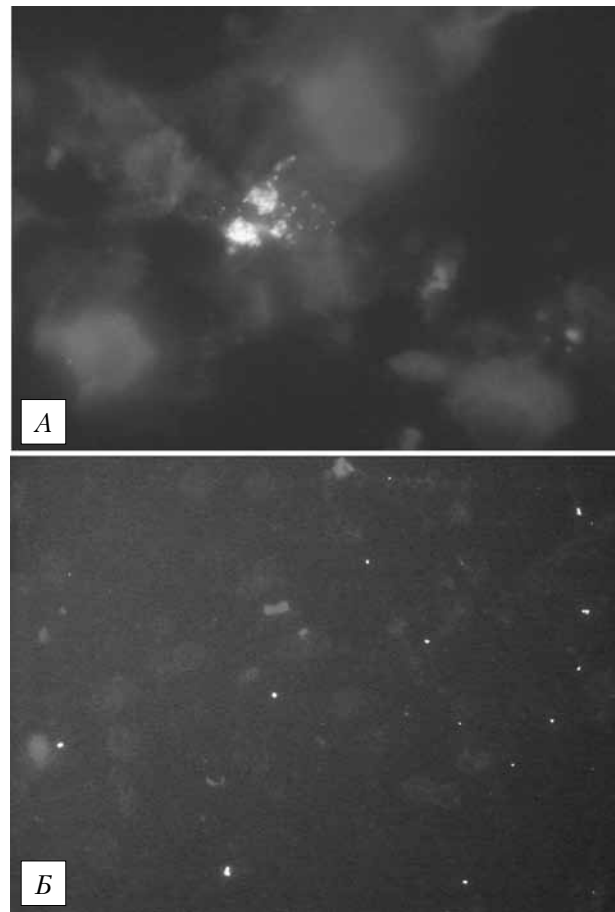


Рис. 1. Морфологические структуры (А) и включения (Б) хламидий в мазках-отпечатках ткани коленных суставов крысы (10-й день после заражения).













В опытах использовали самцов разных возрастных групп: первая группа — молодые самцы весом 350–380 г, вторая группа — взрослые животные весом 450–500 г.

Всем животным вводили в коленный сустав взвесь элементарных телец *C. trachomatis* в количестве 6×10^6 ВОЕ.

Контролем служила взвесь ЭТ штамма Вu-434 серотип L2 *C. trachomatis* в том же количестве, но убитая в течение 30 мин УФ. Оценку сохранения жизнеспособности у убитых хламидий проводили по показателям накопления включений в культуре клеток McCoу. Для этого 24-часовой монослой клеток заражали взвесью убитой культуры по классической методике и оценивали через 48 часов. Включения не были выявлены. Результаты двух последующих слепых пассажей были отрицательными.

В контрольной группе поведение крыс не менялось, они оставались активными. Зараженные суставы были без изменения на протяжении опыта. Гипертермии не отмечалось.

Таблица 1. Результаты рентгенологического исследования суставов крыс (инфицированных и интактных) в разные сроки от начала заражения

День от начала инфекции	Правый сустав (инфицированный)	Левый сустав (интактный)
3-й	 Ø12,0 мм	 Ø8,1 мм
6-й	 Ø11,6 мм	 Ø8,2 мм
9-й	 Ø12,9 мм	 Ø7,9 мм
11-й	 Ø12,1 мм	 Ø7,8 мм
42-й	 Ø мм	 Ø мм
Контроль (заражение инактивированной культурой)		
	 Ø7,8 мм	 Ø7,7 мм

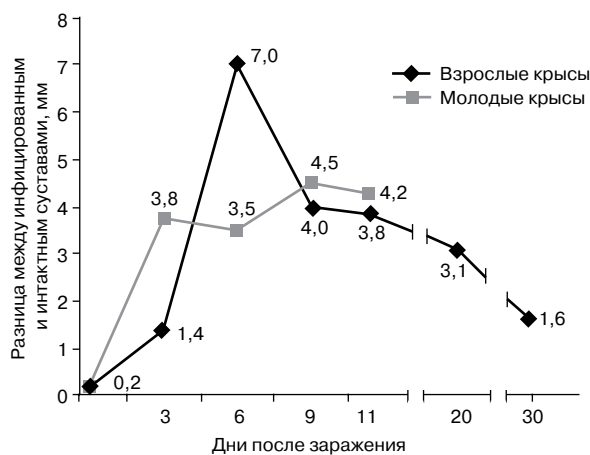


Рис. 2. Динамика изменения размера инфицированных суставов (по дням с момента заражения).

В опыте на следующий день после заражения в обеих группах состояние крыс менялось, они становились менее активными, берегли зараженную лапу, очень осторожно на нее наступали, при пальпации отдергивали лапу. Отмечалась гипертермия. Первую неделю состояние крыс оставалось угнетенным, шерсть была взъерошена, активность низкая. Была нарушена опорная функция зараженной конечности из-за отека и болевой реакции. Животные старались лежать на левом боку, держа инфицированную лапу на весу. Ступня выворачивалась и вытягивалась вдоль тела. Зараженные суставы со второго дня заметно увеличились. Была отмечена гипертермия зараженных суставов. Объем активных и пассивных движений в суставе был снижен.

На третий день после заражения в первой группе (молодые самцы) среднее значение диаметра незараженных суставов составляло 7,7 мм, а у зараженных увеличилось до 11,5 мм, т. е. разница между латеральной шириной зараженных и интактных суставов составляла в среднем 3,8 мм. На 6-й день после заражения инфицированные суставы молодых крыс оставались увеличенными в тех же пределах.

Во второй (возрастной) группе самцов на 3-й день среднее значение диаметра незараженных суставов составляло примерно 9,3 мм, зараженных — 10,7 мм, т. е. разница между латеральной шириной зараженных и незараженных суставов составляла в среднем 1,4 мм. При этом к 6-му дню после начала опыта в этой группе разница между латеральной шириной зараженных и незараженных суставов увеличилась в среднем на 7 мм (рис. 2).

С 6-го дня после заражения состояние крыс в обеих группах несколько улучшилось, хотя они оставались малоактивными и апатичны-

ми. Животные пытались наступать на зараженную лапу. К 8-му дню они наступали на зараженную конечность и начали пользоваться пальцами. С 11-го дня крысы стали активными. Однако инфицированные суставы оставались увеличенными. В группе молодых крыс среднее значение диаметра незараженных суставов было 7,8 мм, зараженных — 12,3 мм, т. е. разница между латеральной шириной зараженных и незараженных суставов была 4,5 мм. В этой группе крыс суставы оставались воспаленными до 11 дня.

Как видно из рис. 2, в группе молодых крыс явное воспаление суставов отмечали на 3-й день и наибольшее воспаление приходилось на 9-й день. Но в целом до 11 дня зараженные суставы оставались у всех крыс этой группы воспаленными.

Животных возрастной группы наблюдали до 30 дня. В отличие от первой группы, у этих крыс на 3-й день зараженные суставы были менее воспалены. Пик воспаления суставов пришелся на 6-й день после заражения. С 9-го дня отек начинал спадать, но даже на 30-й день сустав оставался увеличенным.

Рентгенологическое исследование суставов молодых крыс проводили на 3-й, 6-й, 9-й, 11-й и 42-й дни с начала заражения. На рентгеновском снимке (табл. 1) представлены попарно зараженные и незараженные коленные суставы и контрольная пара коленных суставов, инфицированная ЭТ, инактивированными УФ (6-й день с момента заражения).

На рентгеновском снимке в зараженных правых коленных суставах виден отек мягких тканей, максимальный размер которого приходится на 9-й день с момента инфицирования.

На левых неинфицированных коленных суставах, так же как и в контрольной паре суставов, изменений не отмечено, отека не видно, кожа плотно прилегает к поверхности головки сустава.

Заметна нечеткость контуров мышечков. За счет изменений в синовиальной и хрящевой тканях происходит нарушение конгруэнтности, т. е. увеличение расстояния между мышечками бедренной кости и надколенником.

К 42-му дню от начала инфекции явные изменения исчезли. Однако можно предположить формирование субхондрального склероза суставных поверхностей правого коленного сустава.

Суставы, вскрытые на 3-й, 6-й, 9-й и 11-й дни после заражения, оценивали визуально. При вскрытии суставов на 3-й день после заражения, в обеих возрастных группах хрящевые головки суставов оставались неизменными, блестящими. Однако окружающие ткани и сухожилия были сильно отечны и гиперемированы.

На 6-й день после заражения у крыс в обеих возрастных группах поверхность хрящевых головок становилась сероватого цвета и была неровной. Между головками сустава выявлялась бесформенная хрящеподобная ткань. На суставе и коже вокруг сустава были отмечены многочисленные очаги гиперемии.

На 9-й день после заражения (срок наибольшего воспаления суставов у молодых крыс) отмечено явление капсуляции. Опухоль вокруг сустава была твердой, разрезалась с хрустом. В обеих группах животных между сероватыми изъеденными хрящевыми головками была зернистая хрящеподобная ткань. У некоторых крыс сустав был багрового цвета, у других гиперемии не было.

На 11-й и 13-й дни после заражения в обеих группах цвет хрящей становился белым, практически нормальным. Но на головках суставов у некоторых крыс оставались небольшие участки гиперемии. На коже вокруг сустава гиперемии не было.

В эти же сроки проводили патоморфологическое исследование пораженных суставов. При микроскопическом исследовании препарата сустава, окрашенного гематоксилином и эозином, просматривалась картина нарушения гистоархитектоники хрящевой ткани, а также нарушенная конгруэнтность суставных поверхностей вследствие их деструктивных изменений (частичного разрушения хрящевой ткани с разрастанием грануляционной ткани). В строме сустава увеличено количество кровеносных сосудов со слабо выраженными периваскулярными инфильтрациями, состоящими из лимфоцитов, макрофагов и небольшого количества плазматических клеток. В зоне сохраненного хряща отмечается также незначительное уменьшение количества хондроцитов со слабо выраженной фрагментацией ядер. Общая картина хрящевых клеток демонстрирует умеренно выраженный полиморфизм. Было установлено, что «выявленные патоморфологические изменения более всего соответствуют ревматоидному артриту».

Наличие хламидийной инфекции в суставе оценивали методом ПИФ при использовании моноклональных антител и методом выделения в культуре клеток. В мазках-отпечатках тканей суставов, взятых у крыс на 3-й и 6-й дни после заражения, выявляли характерные для хламидий включения и морфологические структуры — *элементарные* и *ретикулярные тельца* (ЭТ и РТ). На 9-й и 11-й дни в мазках-отпечатках хламидии не выявляли.

Оценку жизнеспособности хламидий, выделенных из зараженных суставов, проводили культуральным методом. С внутренней поверхности вскрытого зараженного сустава одноразовым ершиком брали соскоб и помещали в 1 мл транспортной среды. Этим материалом заражали 24-часовой монослой клеток McCoу. У первой (молодой) группы крыс материал брали на 3-й, 6-й, 9-й и 11-й день, у второй (возрастной) группы — на 3-й, 6-й, 9-й, 20-й и 30-й дни. У всех крыс первой группы на 3-й, 6-й, и 9-й день в культуре клеток наблюдали рост типичных хламидийных включений. На 11-й день с момента заражения возбудитель не выделялся. У крыс второй группы удалось выделить возбудитель и в более поздние сроки — до 20-го дня (табл. 2).

Была показана генерализация инфекции с выходом в кровеносную систему. Для оценки генерализации инфекции при внутрисуставном заражении на 3-е, 6-е, 9-е, 20-е и 30-е сутки у животных первой и второй групп отбирали сыворотку крови и методом количественной ПЦР определяли наличие ДНК *S. trachomatis*. Результаты показали, что на 6-й день наблюдалась генерализация инфекции в сыворотке крови животных. В первой группе число копий в 1 мл составляло 5×10^4 и во второй — 1×10^4 . При этом в первой и во второй группе ДНК выявляли до 10-го дня примерно в одинаковых количествах (см. табл. 2).

Таким образом, в наших экспериментах мы получили модель артрита при использовании штамма

Таблица 2. Оценка результатов развития инфекции: при культивировании и ПЦР в реальном времени для двух возрастных категорий животных

Дни от начала инфекции	Результаты при инфицировании культуры клеток		Число копий хламидий в 1 мл по результатам ПЦР в реальном времени	
	молодые крысы	взрослые крысы	молодые крысы	взрослые крысы
3-й	+	+	0	0
6-й	+	+	$5 \times 10^3 - 10^4$	10^4
9-й	+	+	$0 - 10^3$	10^3
11-й	—		0	
20-й		+		0
30-й		—		0

Vu-434/L2 *C. trachomatis*. Модель соответствовала типичным для суставной патологии функциональным, морфологическим и гистологическим изменениям. Молодые крысы отвечали на инфекцию меньшим отеком, хотя патоморфологические изменения проходили очень интенсивно. Эти крысы быстрее восстанавливались. У второй (возрастной) группы животных отмечалась сильная воспалительная реакция, которая выражалась более значительным увеличением суставов. Процесс восстановления шел медленнее. На полученной модели мы показали, что возбудитель размножается в клетках синовиальной ткани и пик накопления соответствовал клинической картине. У молодых крыс культураль-

ным методом жизнеспособные хламидии выделяли до 9-го дня, у возрастных животных — до 20-го дня включительно.

Разработанная модель может быть использована для изучения эффективности известных антибактериальных препаратов при лечении осложненной хламидийной инфекции, связанной с поражением суставов. Кроме того, эта модель необходима для поиска новых антихламидийных препаратов. Полученные данные по особенностям течения инфекции позволят оценивать эффективность терапии в данной *in vivo* модели на разных стадиях инфекции и в зависимости от возрастных характеристик.

Литература

- Aho K., Ahvonen P. HL-A 27 in reactive arthritis, a study of *Yersinia arthritis* and Reiter's disease. *Arth Reum* 1974; 17:521-6.
- Kwiatkowska B., Filipowics-Sosnowskam A. Reactive arthritis. *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej* 2009; 119:1-2.
- Townes J.M. Reactive arthritis after enteric infections in the United States: The Problem of Definition *Clinical Infectious Diseases*, 2010; 50:247-54.
- Kingsly G., Sieper J. Third international Workshop on Reactive Arthritis: an overview. *Ann Rheum Dis* 1996; 55:564-70.
- Жолобова Е.С., Чистякова Е.Г., Дагбаева Д.В. Реактивные артриты у детей - диагностика и лечение. Коллоквиум. Ревматология. Лечащий врач #02/07.
- Мазуров В.И. Классификация реактивных артритов. Болезни суставов, Руководство для врача. СПб.: СпецЛит, 2008. - 408 с.
- Appel H. Use of HLA-B-27-tetramers to identify low-frequency antigen-specific T-cells in *Chlamydia*-triggered reactive arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6:521-34.
- Yu D., Kuipers J.G. Role of bacteria and HLA-B 27 in the pathogenesis of reactive arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29:21-36.
- Siboulet A., Galistin P. Arguments in favour of a virus aetiology of non-gonococcal urethritis illustrated by three cases of Reiter's disease. *Brit J Ven Dis* 1962; 38:209.
- Жодзишский И.А. В кн. Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины. Тюмень. 1967; 173-5.
- Жодзишский И.А. Заболевания мочеполовых путей, обусловленные окуло-генитальным хламидозоонозом. *Здравоохранение Казахстана* 1968; (2):56-8.
- Schachter J. Isolation of *Bedsoniae* from human arthritis and abortion tissues. *Am J Ophthalmol* 1967; 63:1082-6.
- Schachter J. Isolation of *Bedsoniae* from the joints of patients with Reiter's syndrome. *Proc Soc Exp Biol Med* 1966; 122:283.
- Шаткин А.А. и соавт. Изучение этиологической роли гальпровий – микроорганизмов группы ПЛТ при заболеваниях суставов. *Вопросы ревматизма* 1973; (2):9-12.
- Шаткин А.А., Боровик В.З., Сумарокова Н.И. Получение лабораторной культуры гальпровий – микроорганизма группы ПЛТ, выделенной из сустава при синдроме Рейтера. *Вест дерматол и венерол* 1973; (9):47-50.
- Шаткин А.А., Попов В.Л., Щербакова Н.И. Морфология гальпровий (хламидий), выделенных при синдроме Рейтера. *ЖМЭИ* 1976; (5):40-6.
- Щербакова Н.И. К вопросу об этиопатогенетической роли гальпровий (хламидий) при артрологической патологии. «Экология вирусов», Баку, 1976, 246.
- Щербакова Н.И., Шаткин А.А., Агабабова Э.Р. Гальпровии (хламидии) и синдром Рейтера. В сб. Гальпровиозы (хламидиозы) человека и животных. М. 1979; 61-3.
- Агабабова Э.Р., Сидельникова С.М., Шубин С.В. и соавт. Урогенитальная инфекция при болезни Рейтера, ревматоидном артрите и болезни Бехтерева. *Тер архив* 1980; (12):94-8.
- Агабабова Э.Р. Реактивный артрит и синдром Бехтерева. *Ревматические болезни*. Под ред. Насоновой В.А. М. Медицина. 1997, 324-31.
- Агабабова Э.Р., Бунчук Н.В., Шубин С.В. и соавт. Критерии урогенных и энтерогенных реактивных артритов. Проект. Научно-практич ревматология 2003; (3):82-3.
- Sokka T. Reactive Arthritis. *Clinical Guidance from ACP*, 2004.
- Toivanen A., Toivanen P. Reactive arthritis. *Isr Med Assos* 2001; 3:681-5.
- Smith D.E. et al. Experimental bedsonial arthritis. *Arth Rheum* 1973; 16:21.
- Щербакова Н.И. Гальпровии (хламидии) при болезни Рейтера (выделение из суставов и микробиологическая характеристика. Автореф. канд. дисс. М. 1980.
- Дуляпин В.А., Щербакова Н.И. Патоморфология гальпровиального (хламидиального) экспериментального артрита. *РЖ, Общие вопросы патол анатомии* 1972; 76(2):381.
- Inman R.D., Chiu B. Synovocyte-packaged *Chlamydia trachomatis* induces a chronic aseptic arthritis. *J Clin Infect* 1998; 102:1776-82.

Компьютерные модели пространственной структуры мутантных белков оболочки вируса гепатита С, влияющих на формирование вирусных частиц

О. В. Орлова¹, В. А. Орлов², С. Н. Кочетков¹, С. Н. Белжеларская¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

² ФКП «Научно-испытательный центр ракетно-космической промышленности», Пересвет, Россия

С использованием результатов предыдущих экспериментов по исследованию N-гликанов гликопротеина E1 вируса гепатита С в процессе сборки структурных белков вируса в модельной системе — клетках насекомых Sf9 с участием бакуловирусной системы экспрессии, в данной работе представлено моделирование структуры молекулы белка E1 с разным количеством и расположением гликанов. Компьютерные модели пространственной структуры мутантных белков

E1 построены с использованием метода молекулярной динамики и вычислительных мощностей компьютера. Результаты показывают, что N-связанные гликаны оказывают непосредственное влияние на сворачивание белков E1, демонстрируя значительные различия в конфигурациях форм таких молекул.

Ключевые слова: компьютерное моделирование, вирус гепатита С, гликопротеин E1, вирусные частицы.

Computer Models of Spatial Pattern of Mutant HCV Envelope Proteins Involving in Viral Particles Formation

O.V. Orlova¹, V.A. Orlov², S.N. Kochetkov¹, S.N. Beljelarskaya¹

¹ Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Research Trial Center of Rocket and Space Industry, Peresvet, Russia

Using the results from the previous experiments on N-glycans of *hepatitis C virus* (HCV) glycoprotein E1 in the process of structure viral proteins assembling in the model system (insect cells Sf9 and baculovirus expression system), simulation of protein E1 structure with different number and positions of glycans is presented in this paper. Computer simulation of spatial pattern of

mutant E1 proteins was performed using the method of molecular dynamics and computer processing power. Results of this study demonstrate that N-linked glycans have a direct effect on protein E1 folding and significantly differ in molecule configuration pattern.

Key words: computer simulation, hepatitis C virus, glycoprotein E1, viral particles.

Контактный адрес:

Светлана Николаевна Белжеларская

Эл. почта: belj@eimb.ru

Введение

Детальное строение вирусной частицы *вируса гепатита С* (ВГС) и способ ее формирования остаются малоизученными. В формировании инфекционных частиц ВГС участвуют гликопротеины оболочки вируса E1 и E2, причем предполагается, что свойства вириона зависят от гликозилирования последних в зараженной клетке, их взаимодействия и характера укладки [1–3]. Связанные с белками оболочки N-гликаны могут непосредственно воздействовать на сворачивание белков, образование функционального гликопротеинового комплекса, связывание вируса с клеткой и на другие процессы жизненного цикла ВГС [4–6]. Важную роль в фолдинге гликопротеинов играют лектиноподобные шапероны *эндоплазматического ретикулума* (ЭР) клетки, с которыми гликопротеин специфически взаимодействует, входя в кальнексин-кальретикулиновый цикл [7]. Следует отметить, что до сих пор окончательно неизвестно, какие именно сайты гликозилирования белков E1 и E2 ВГС существенны для их правильного функционирования и все ли потенциальные сайты «работают» *in vivo*. После гликозилирования гликопротеины E1 и E2 ВГС могут либо димеризоваться с образованием функциональных нековалентных комплексов, либо образовывать дисульфидные мостики и формировать агрегаты, содержащие неправильно свернутые нефункциональные белки [2, 3, 7]. Образование функциональных комплексов обеспечивает связывание вируса с рецепторами клетки и проникновение вирусной частицы в клетку, влияет на формирование его антигенного состава и, возможно, играет определенную роль в патогенезе. Формирование агрегатов, содержащих неправильно свернутые белки, может приводить к образованию дефектных вирусных частиц, которые могут подавлять способность вируса связываться с клеткой и нарушать выход вируса из последней [4, 5].

Моделировать процесс сворачивания молекулы белка и оценивать роль сайтов гликозилирования в этом процессе можно с помощью экспериментов *in silico*, с использованием вычислительных мощностей компьютеров и методов *молекулярной динамики* (МД) [8–17].

Задача данной работы состояла в построении модели пространственной структуры молекул белка E1, содержащей и не содержащей N-гликаны, оценке влияния последних на сворачивание белка и сравнении полученных данных с результатами, полученными нами ранее в эксперименте [1]. Для серьезных вычислений при построении модели пространственной структуры молекул белка необ-

ходимы соответствующие ресурсы. На сегодняшний день интересны выводы, полученные в результате расчетов при использовании компьютерных 3-D моделей трехмерных структур белков E1 в программе HyperChem [18], и их соответствие результатам наших биологических экспериментов.

Материал и методы

В настоящей работе исследовались мутантные формы гликопротеина E1 ВГС, генотип 1b, штамм 274933RU (AFI76573) [19] с поврежденными сайтами гликозилирования. При молекулярном моделировании влияния гликанов на их трехмерную структуру использовали компьютерные расчеты для различных фрагментов молекулы белка в вакууме и в водном окружении с применением методов молекулярной механики (оптимизации энергии) и молекулярной или ланжевеновой динамики. Расчеты проводили в программе вычислительной химии HyperChem v.6.01 (Hypercube, Inc), содержащей базы данных для ввода *аминокислот* (ак), с использованием компьютера АМД 1800МГц.

Для оценки формы молекулы E1 и влияния на нее N-гликанов и воды использовали 10 вариантов мутантного белка E1 ВГС (рис. 1) с делетированной C-концевой последовательностью. Тестовые расчеты проводили на фрагментах молекулы E1 разной длины и экстраполировали на всю молекулу E1. Использовали пять фрагментов молекулы белка различной длины: *short* молекула (19 аминокислот) – 268 атомов; *normal* молекула (38 аминокислот) – 538 атомов; *long* молекула (76 аминокислот) – 1098 атомов; *longlong* молекула (133 аминокислоты) – 1952 атома; *total* молекула (вся молекула E1, лишенная гликанов, 250 аминокислот) – 3739 атомов.

Расчет формы белка проводили следующим образом: набирали последовательность аминокислотных остатков из базы данных программы HyperChem с углами между отдельными атомами внутри каждого остатка аминокислоты в молекуле белка E1 разной длины. Затем задавали углы между атомами аминокислотных остатков, в результате получали предварительную трехмерную структуру молекулы белка E1. Далее проводили процедуру минимизации энергии молекулы. Для оптимизации геометрии структуры белка E1 подбирали положение всех атомов аминокислотных остатков таким образом, чтобы минимизировать энергию во время определения энергии всей молекулы. Вычисляли свободную энергию, дипольный момент и геометрические размеры каждой структуры, которые свидетельствовали о том, насколько свернута исследуемая молекула. Далее запускали

расчет молекулярной или ланжевенновской динамики, а затем геометрическую оптимизацию и процесс повторяли, минимизируя энергию молекулы до достижения оптимальной геометрии, в результате чего свернутая молекула приобретала определенную конформацию.

Результаты исследования и обсуждение

В нашей предыдущей работе [1] мы исследовали влияние удаления N-гликанов в определенных позициях белка E1 ВГС на его фолдинг, а также на сборку комплекса E1E2, представляющего собой функциональную субъединицу вирионной оболочки зрелой вирусной частицы. Это влияние анализировали с помощью сайт-направленного мутагенеза E1 в модельной системе — клетках насекомых Sf9, с участием бакуловирусной системы экспрессии. Полученные генетические конструкции кодировали десять вариантов белка E1 ВГС с мутациями в шести сайтах гликозилирования. На рис. 1а, 1б и 1в представлены структура исходного варианта белка E1 ВГС дикого типа с 218 аминокислотами, сайты N-гликозилирования в E1 ВГС и схематическое изображение мутантных вариантов гликопротеина E1 с нарушенными сайтами гликозилирования.

Результаты работы свидетельствовали, что белок E1 ВГС с разным количеством и расположением присоединенных гликанов ведет себя по-разному. В частности, было показано, что отсутствие углеводных цепей в сайтах гликозилирования N1 (196 ак) и N5 (305 ак) белка E1 приводит к неправильному сворачиванию последнего и, как следствие, к образованию нефункционального гетеродимера E1E2 в клетках Sf9.

Одним из возможных способов подтверждения результатов, полученных в биохимическом эксперименте, является математическое моделирование пространственной структуры белка E1, содержащего гликаны в указанных выше позициях. С этой целью в настоящей работе с использованием метода молекулярной динамики был проведен расчет оптимальной геометрии молекул белка E1 и построены компьютерные модели пространственной структуры мутантных белков E1.

Для подбора критериев, необходимых для полного расчета оптимальной геометрии молекул белка E1, как дикого, так и мутантного типа, проводили тестовый расчет фрагмента белка E1 в 38 ак (538 атомов), лишённого всех гликанов. Расчет показал, что при одном и том же времени счета с ланжевенновской и молекулярной динамикой полная энергия и геометрическая характеристика одновременно выходят на значение, характери-

зующее оптимальную конфигурацию фрагмента молекулы белка E1 (графики не представлены). Определение влияния времени расчета ланжевенновской динамики на геометрию молекулы указывало на то, что шаг по времени не влияет на скорость сходимости и, очевидно, на конечную геометрию молекулы. На достижение оптимальной геометрии молекулы влияет суммарное время ланжевенновской динамики. Наиболее информативным критерием достижения оптимальной геометрии молекулы белка является выход на плато энергии молекулы. Для поиска зависимости времени счета ланжевенновской динамики от числа атомов в молекуле, необходимого для выхода на плато минимальной энергии, проводили тестовый расчет пяти фрагментов белка E1 различной длины: 19 ак (268 атомов), 38 ак (538 атомов), 76 ак (1098 атомов), 133 ак (1952 атома) и 250 ак (3739 атомов). Определяли полную энергию и геометрическую характеристику в каждом из пяти случаев. Для всех пяти молекул E1 время выхода на плато составляло примерно 75, 150, 300, 500 и 1200 пикосекунд. С использованием полученных данных определили время, необходимое для полного расчета оптимальной геометрии молекул белка E1 на используемом компьютере. Зависимость процессорного времени компьютера от числа атомов в молекуле белка E1, необходимого для полного расчета оптимальной геометрии молекулы, представлена на рис. 2.

Интересно, что экстраполяция степени зависимости для трехмерной структуры белков на графике демонстрирует показатель степени, равной 2,7853, близкий к трем. Примерно такая же зависимость представлена в работе [9].

Программа HyperChem предусматривает возможность определения формы молекулы белка в водном окружении. Нами рассмотрено поведение в воде двух фрагментов молекулы E1: 19 ак (268 атомов) и 38 ак (538 атомов). Молекулы белка «сольватировали погружением» в кубическую ячейку воды. Оптимизацию геометрии исследовали в условиях Periodic box. Кривая сворачивания фрагмента молекулы E1 (538 атомов) в вакууме выходит на плато на 150-й пикосек., в то же время на плато выходит кривая разворачивания молекулы в воде. Значение энергии на кривой разворачивания молекулы в воде соответствует значению энергии на кривой сворачивания молекулы в вакууме и составляет 75 пикосек. Примерно такое же поведение и такое же соотношение энергий (70%) наблюдается и для более короткого фрагмента E1 19 ак (268 атомов).

Расчеты, полученные в HyperChem, соответствуют подобным расчетам оптимальной геоме-

трии молекулы в разработанной Firefly Project Team [10].

Таким образом, была исследована форма молекул 10 вариантов белка E1 ВГС с мутациями (см. рис. 1, *в*), с различным количеством и расположением гликанов. Рассчитанные формы 10

вариантов структурного белка E1 ВГС с мутациями представлены на рис. 3.

Масштаб каждого варианта белка подгоняли так, чтобы размер всех атомов углерода, азота, кислорода или серы были одинаковы для всех десяти вариантов. Водород не показан, чтобы не перегружать рисунок.

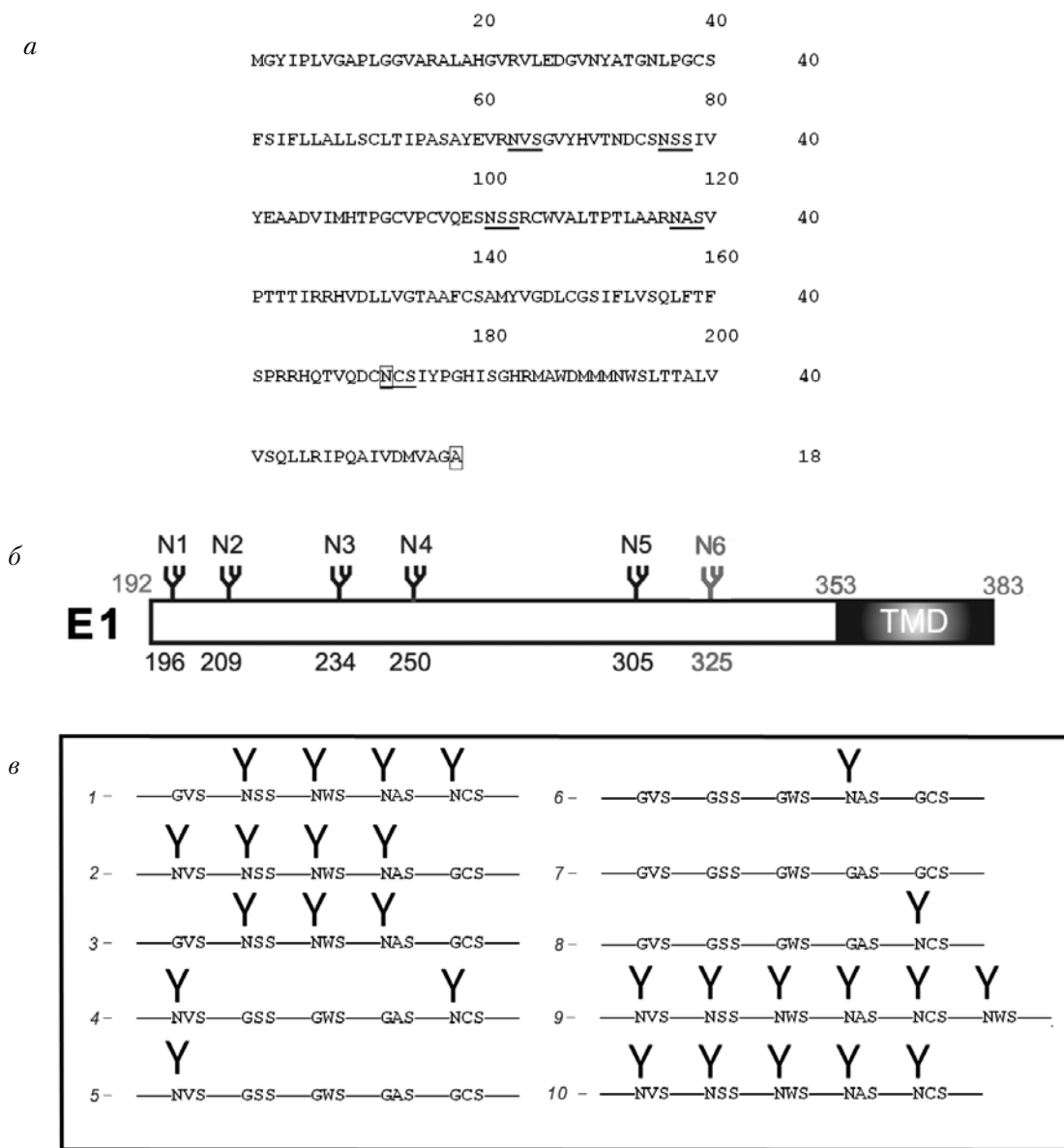


Рис. 1. Моделирование структуры молекулы белка E1 с разным количеством и расположением гликанов.

а – структура исходного варианта белка E1 ВГС дикого типа с 218 ак. Сайты присоединения гликанов подчеркнуты: **A** – первый выступающий из мембраны аминокислотный остаток, **N** – аспарагин, ближайший к мембране, к которому присоединен гликан.

б – сайты N-гликозилирования в E1 ВГС и его мутантных вариантах; схема расположения сайтов гликозилирования N1–N5 и дополнительного сайта N6 в полипептидной цепи E1 ВГС.

в – схематическое изображение мутантных вариантов гликопротеина E1 с модифицированными (нарушенными) сайтами гликозилирования:

1 – N1; 2 – N5; 3 – N1 и N5; 4 – N2, N3 и N4; 5 – N2, N3, N4 и N5; 6 – N1, N2, N3 и N5; 7 – N1– N5; 8 – N1, N2, N3 и N4; 9 – с введенным дополнительно сайтом гликозилирования N6; 10 – исходный вариант E1 дикого типа. Сайты гликозилирования отмечены знаком «Y».

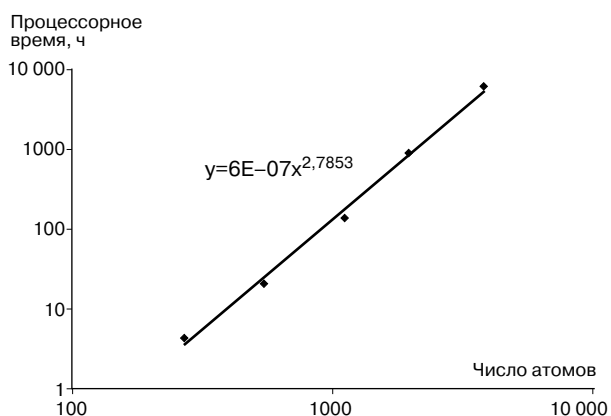


Рис. 2. Зависимость процессорного времени компьютера от числа атомов в молекуле E1, необходимого для полного расчета оптимальной геометрии молекулы.

Как видно, эти формы различаются между собой и отличаются от структуры исходного варианта E1 дикого типа (см. рис. 3, № 10). Трехмерные структуры различных вариантов мутантного белка демонстрируют различия в конфигурациях форм молекул, лишенных одного или более сайтов гликозилирования.

Образующийся в результате процессинга и последующего гликозилирования белок E1 встраивается в мембрану, где происходит его сворачивание и образование комплекса E1E2, участвующего в формировании инфекционных вирусных частиц [7, 8]. В предыдущем сообщении [1] мы показали, что отсутствие углеводных цепей в определенных сайтах гликозилирования E1, в частности N1 или N5, приводит к неправильному сворачи-

ванию белков и образованию непродуктивных комплексов E1mutE2, что, в свою очередь, ведет к образованию дефектных вирусных частиц. Как видно из рис. 3, смоделированные пространственные структуры этих белков совпадают (№ 1, № 2 и № 3), существенно отличаясь при этом от структуры белка дикого типа (№ 10), содержащего все углеводные цепи. Таким образом, данные моделирования также свидетельствуют в пользу того, что гликаны, связанные с сайтами N1 и N5, играют наиболее существенную роль в придании E1 правильной формы, необходимой для образования комплекса E1E2. В то же время, при синтезе мутантных белков E1, лишенных трех сайтов гликозилирования N2, N3, N4 или одного из них, в клетках насекомых формируется продуктивный комплекс E1E2, хотя и с меньшей эффективностью, чем в случае экспрессии E1 дикого типа. Форма молекулы E1 (№ 4), лишенной этих сайтов, представленная на рис. 3, приближается по форме к белку дикого типа (№ 10). Однако, отсутствие этих трех сайтов гликозилирования N2, N3, N4 и дополнительных гликанов в сайтах N1 или N5 E1, влияет на конфигурацию формы молекул белка E1 (№ 5, № 6, № 8), существенно отличающихся от формы молекул белка дикого типа (№ 10). Структура белка с дополнительным сайтом гликозилирования N6 (№ 9), представленная на рис. 3, практически не отличается от структуры E1 дикого типа (№ 10), что также соответствует нашим экспериментальным данным, согласно которым введение в E1 дополнительного сайта гликозилирования N6 не влияет на сборку комплекса E1E2.

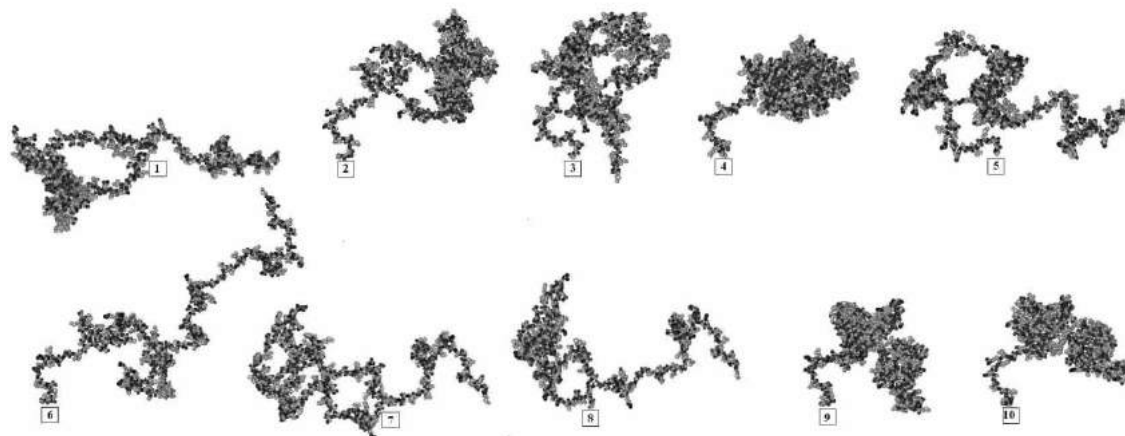


Рис. 3. Компьютерная модель трехмерной структуры белка E1 ВГС с мутациями. Мутантные варианты гликопротеина E1 с нарушенными сайтами гликозилирования (N1- N6): 1 – N1; 2 – N5; 3 – N1 и N5; 4 – N2, N3 и N4; 5 – N2, N3, N4 и N5; 6 – N1, N2, N3 и N5; 7 – N1- N5; 8 – N1, N2, N3 и N4; 9 – с введенным дополнительно сайтом гликозилирования N6; 10 – исходный вариант E1 дикого типа. № – место прикрепления белка E1 к мембране. Белок E1 ориентирован таким образом, чтобы **A** располагался в нуле оси Oy, а **N** лежал в плоскости рисунка или в плоскости Oxy.

Заключение

Таким образом, трехмерные модели структуры белка E1 с мутациями показывают, что N-связанные гликаны оказывают непосредственное влияние на сворачивание E1, на форму молекулы и, по-видимому, могут играть определенную роль в функционировании этих белков. Данные молекулярного моделирования, полученные в настоящей работе, в целом соответствуют экспериментальным данным, полученным нами ранее [1].

По нашему мнению, комбинации экспериментальных и расчетных подходов могут быть использованы в дальнейших исследованиях, связанных с эффектом мутаций гликопротеинов на репликацию вируса, секрецию вирусных частиц, с ролью отдельных гликанов гликопротеинов ВГС во взаимодействии с рецепторами клетки и проникновении вируса в клетку.

Работа получила финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований 08-04-00281, 011-04-00231.

Литература

1. Орлова О. В., Друца В. Л., Спирин П. В. и соавт. Роль N-гликанов гликопротеина E1 вируса гепатита С в процессе сборки структурных белков вируса и формировании вирусных частиц. Молекул биол 2013; 47(1):147-56.
2. Dubuisson J., Rice C. M. Hepatitis C virus glycoprotein folding: disulfide bond formation and association with calnexin. J Virol 1996; 70:778-86.
3. Jones D. M., McLauchlan J. Hepatitis C Virus: Assembly and Release of Virus Particles. J Biol Chem 2010; 285:22733-9.
4. Chapel C., Garcia C., Roingard Ph., et al. Antiviral effect of α -glucosidase inhibitors on viral morphogenesis and binding properties of hepatitis C virus-like particles. J Gen Virol 2006; 87:861-71.
5. Helle F., Goffard A., Morel V., et al. The Neutralizing Activity of Anti-Hepatitis C Virus Antibodies Is Modulated by Specific Glycans on the E2 Envelope Protein. J Virol 2007; 81:8101-11.
6. Xiang J., Wunschmann S., George S. L., et al. Recombinant hepatitis C virus-like particles expressed by baculovirus: utility in cell-binding and antibody detection assays. J Med Virol 2002; 68:537-43.
7. Trombetta E. S. The contribution of N-glycans and their processing in the endoplasmic reticulum to glycoprotein biosynthesis. Glycobiology 2003; 13 (9):77R-91R.
8. Tramontano A. The role of molecular modelling in biomedical research. FEBS Lett 2006; 580:928-34.
9. Granovsky A. A. Presentation on the large-scale QC and QM/MM modeling using PC GAMESS 2006. Available at URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/gamess/largescale.pdf>
10. Granovsky A. A. FIREFLY Quantum Chemistry Package, version 7.1.G. Available at URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
11. Granovsky A. A. Presentation on efficient strategy for summation of PT series in MCQDPT2 and XMCQDPT2 implementation 2010. Available at URL: <http://phys148-1.chem.msu.ru/gran/gamess/qdpt2.pdf>
12. Schueler-Furman O., Wang C., Bradley P., Misura K., Baker D. Progress in modeling of protein structures and interactions. Science 2005; 310:638-42.
13. Ginalski K. Comparative modeling for protein structure prediction. Curr Opin Struct Biol 2006; 16:172-7.
14. Qian B., Ortiz A. R., Baker D. Improvement of comparative model accuracy by free-energy optimization along principal components of natural structural variation. Proc Natl Acad Sci 2004; 101:15346-51.
15. Xu Y., Purkayastha P., Gai F. Nanosecond folding dynamics of a three-stranded beta-sheet. J Am Chem Soc 2006; 128:15836-42.
16. Chugunov A. O., Chavatte P., Farce A., Efremov R. G. Differences in binding sites of two melatonin receptors help to explain their selectivity to some melatonin analogs: a molecular modeling study. J Biomol Struct Dynamics 2006; 24:91-108.
17. Dill K. A., Ozkan S. B., Weikl T. R., Chodera J. D., Voelz V. A. The protein folding problem: when will it be solved? Curr Opin Struct Biol 2007; 17:342-6.
18. Шайтан К. В., Терёшкина К. Б. Молекулярная динамика белков и пептидов (методическое пособие) М.: Ойкос. 2004, 103с.
19. Львов Д. К., Самохвалов Е. И., Селиванов Н. А., Мохонов В. В., Новиков Д. В., Прилипов А. Г., Шталов А. Г. Анализ генома изолята 274933RU вируса гепатита С, выделенного на территории Российской Федерации. Вопросы вирусологии 2002; 47(1):9-12.

Список конференций

<p>29 сентября – 1 октября 2014</p> <p>Infection Prevention Society Annual Conference Глазго, Великобритания</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.ips.uk.net/education-events/annual-conference</p>	<p>1–3 октября 2014</p> <p>III International Conference on Antimicrobial Research (ICAR) Мадрид, Испания</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.icar-2014.org</p>	<p>2–3 октября 2014</p> <p>Infection Management in the Elderly: Room for Improvement, ESCMID Postgraduate Education Course Анесси, Франция</p> <p>Контактная информация: https://www.escmid.org/profession_career/educational_activities/escmid_courses_and_workshops/infection_management_in_the_elderly_room_for_improvement/</p>
<p>6–8 октября 2014</p> <p>Advanced Antimicrobial Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modelling and Simulation, ESCMID Postgraduate Technical Workshop Ливерпуль, Великобритания</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.eswicongference.org</p>	<p>8–12 октября 2014</p> <p>ID Week Филадельфия, США</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.idweek.org</p>	<p>9 октября 2014</p> <p>Viral Hepatitis Congress Франкфурт, Германия</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.viral-hep.org</p>
<p>16–17 октября 2014</p> <p>V Дальневосточная конференция по антимикробной терапии Владивосток, Россия</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.antibiotic.ru/iacmac/ru/confer/</p>	<p>20–23 октября 2014</p> <p>ESCMID-SHEA Training Course in Hospital Epidemiology Пхукет, Таиланд</p> <p>Контактная информация: Сайт: https://www.escmid.org/profession_career/educational_activities/escmid_courses_and_workshops/training_course_in_hospital_epidemiology/</p>	<p>22–24 октября 2014</p> <p>ESCMID Conference on Reviving Old Antibiotics Вена, Австрия</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.escmid.org/research_projects/escmid_conferences/reviving_old_antibiotics</p>