

Межрегиональная ассоциация
по клинической микробиологии
и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский
институт антимикробной
химиотерапии
ГОУ ВПО «СГМА Росздрава»

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 2500 экз.

Подписные индексы:

По каталогу «Газеты. Журналы»
на 2008 г.
агентства «Роспечать»:
82125 – для индивид. подписчиков;
82126 – для организаций.

Адрес для корреспонденции:

125284, г. Москва, а/я 74.
Тел./факс: (495)263-5372,
946-0716

Адрес электронной почты:

cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:

www.antibiotic.ru/cmac

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

Присланные в редакцию статьи проходят
рецензирование

Мнение редакции может не совпадать
с точкой зрения авторов публикуемых
материалов

Ответственность за достоверность реклам-
ных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал
обязательна

© Клиническая микробиология
и антимикробная химиотерапия

Содержание

Методические рекомендации

А.С.Ф. Лок, Б.Дж. МакМахон – Хронический гепатит В:
практические рекомендации Американской ассоциации
по изучению заболеваний печени 292

Болезни и возбудители

В.А. Руднов, А.А. Фесенко, А.В. Дрозд – Сравнительный анализ
информационной значимости шкал для оценки тяжести состояния
больных с внебольничной пневмонией, госпитализированных
в ОРИТ 330

О.В. Решетько, К.А. Луцевич – Бактериальный вагиноз
при беременности: современное состояние проблемы
и значение фармакотерапии 337

Н.А. Зигангирова, И.М. Петяев, Ю.П. Пашко, Е.Ю. Моргунова,
Л.Н. Капотина, Л.В. Диденко, Т.И. Юдина, С.В. Шубин, Э.К. Джикидзе,
И.М. Аршба, А.Л. Гинцбург – Генерализация инфекции у больных
с урогенитальным хламидиозом 351

И.С. Тартаковский, А.Л. Гинцбург, Д.О. Михайлова, З. Д. Бобылева,
В.В. Романенко, Т.И. Карпова, Ю.С. Аляпкина, Е.П. Омон,
Ю.М. Романова, О.Л. Воронина, В.Г. Лунин, С.Б. Яцишина,
Г.А. Шипулин, Ю.Е. Дронина – Применение стандартов лабораторной
диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки
пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области 361

М. Ротанов, Т.В. Гребенникова, Е.И. Бурцева, Е.С. Шевченко –
Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов
вируса гриппа А, характеризующихся различной
чувствительностью к римантадину, на основе нуклеотидной
последовательности М2 белка 369

Информация

Список конференций 375

Перечень статей, опубликованных в 9 томе 2007 г. 378

Список авторов 380

Краткие правила для авторов 381

Главный редактор:
А.И. Синопальников Москва

Исполнительный директор:
Г.Г. Пискунов Москва

Зам главного редактора:
А.В. Дехнич Смоленск

Ответственный секретарь:
А.В. Веселов Смоленск

Редакционная коллегия:

Г.Е. Афиногенов С.-Петербург
А.А. Визель Казань
Н.А. Ефименко Москва
М.Н. Зубков Москва
Л.К. Катосова Москва
Н.Н. Клишко С.-Петербург
Р.С. Козлов Смоленск
Ю.В. Лобзин С.-Петербург
В.В. Малеев Москва
В.А. Насонова 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

Международный редакционный совет:

П. Аппельбаум Херши, США
Дж. Бартлетт Балтимор, США
И. Березняков Харьков, Украина
Х. Гаррау 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

Редактор номера:
С.М. Кузнецова Москва

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

Production Manager:
G.G. Piskunov Moscow

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

Editorial Manager:
A.V. Veselov Smolensk

Editorial Board:

G.E. Afinogenov St.-Petersburg
A.A. Vizel Kazan
N.A. Efimenko Moscow
M.N. Zubkov Moscow
L.K. Katosova Moscow
N.N. Klimko St.-Petersburg
R.S. Kozlov Smolensk
Ju.V. Lobzin St.-Petersburg
V.V. Maleev Moscow
V.A. Nasonova 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

International Advisory Board:

P. Appelbaum Hershey, USA
J. Bartlett Baltimore, USA
I. Bereznyakov Kharkov, Ukraine
J. Garrau 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

Editor of Issue:
S.M. Kuznetsova Moscow

ISSN 1684-4386

Clinical
Microbiology and
Antimicrobial
Chemotherapy

2007, Vol. 9, No 4

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 2,500

Corresponding Address:
Journal «Clinical Microbiology
and Antimicrobial Chemotherapy»,
125284, Moscow, Russia, PO Box 74
Tel./Fax: +7 495 263-5372
Email: cmac@antibiotic.ru

Internet address:
www.antibiotic.ru/cmac

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

Guideline

A.S.F. Lok, B.J. McMahon – AASLD Practice Guideline
for Chronic Hepatitis B..... 292

Diseases and Pathogens

V.A. Rudnov, A.A. Fesenko, A.V. Drozd – Comparative Predictive
Value of the Severity Assessment Tools in ICU Patients
with Community-Acquired Pneumonia 330

O.V. Reshetko, K.A. Lutsevich – Bacterial Vaginosis During Pregnancy:
Current State of the Problem and the Role of Antimicrobial
Chemotherapy 337

N.A. Zigangirova, I.M. Petyaev, Yu.P. Pashko, E.Yu. Morgunova,
L.N. Kapotina, L.V. Didenko, T.I. Yudina, S.V. Shubin, E.K. Gikidze,
I.M. Arshba, A.L. Gintzburg – Generalization of Genital
Chlamydia Infection 351

I.S. Tartakovskiy, A.L. Gintzburg, D.O. Mikhailova,
Z.D. Bobyleva, V.V. Romanenko, T.I. Karpova, Yu.S. Alyapkina,
E.P. Omon, Yu.M. Romanova, O.L. Voronina, V.G. Lunin,
S.B. Yatzishina, G.A. Shipulin, Yu.E. Dronina – Use of Laboratory
Standards for Diagnosis of Legionellosis during the Outbreak
of Pneumonia in Verhnyaya Pyshma (Sverdlovsk Region) 361

M. Rotanov, T.V. Grebennikova, E.I. Burtseva, E.S. Shevchenko –
Molecular and Genetic Analysis of Influenza A Viruses
with Different Sensitivity to Rimantadine, Based on the M2 Protein
Gene Sequence..... 369

Information

List of Conference 375

List of Articles published in 2007..... 378

List of Authors 380

Instruction for Authors 381

УДК 616.36-002.12-578.891

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

А.С.Ф. Лок¹, Б. Дж. МакМахон²¹ Отделение гастроэнтерологии, Медицинский центр Мичиганского университета, Энн Арбор, США² Медицинский центр Аляски*, Центр по контролю и профилактике заболеваний, Анкоридж, США**

AASLD Practice Guideline for Chronic Hepatitis B

A.S.F. Lok¹, B.J. McMahon²¹ Division of Gastroenterology, University of Michigan Medical Center, Ann Arbor, USA² Alaska Native Medical Center and Centers for Disease Control and Prevention, Anchorage, USA

Предисловие

Данные практические рекомендации были созданы в помощь врачам-клиницистам и другим медицинским работникам в распознавании, диагностике и ведении пациентов с хронической инфекцией, вызванной *вирусом гепатита В* (HBV). Они разработаны с целью оптимизации ведения пациентов с хроническим гепатитом В.

Для создания рекомендаций использовались следующие источники информации: (1) обзор и анализ литературы по данной теме, опубликованной в базе данных Medline до февраля 2006 г., а также тезисы конференций, проведенных в 2003–2005 гг.; (2) Руководство по оценке клинической практики и созданию практических рекомендаций Американского колледжа врачей [1]; (3) Политика AASLD по разработке и использованию практических рекомендаций и Политика по разработке рекомендаций Американской гастроэнтерологической ассоциации [2]; (4) опыт авторов в области гепатита В. При разработке этих рекомендаций также были использованы материалы конференций «Ведение пациентов с гепатитом В», проведенных Национальными институтами здоровья США (NIH) в 2000 и 2006 гг., Международной согласительной конференции по гепатиту В, проведенной EASL в 2002 г., и Азиатско-Тихоокеанские согласительные рекомендации по ведению пациентов с хроническим гепатитом В (2005 г.) [3–6]. В данном документе

предложены предпочтительные подходы к диагностике, лечению и профилактике хронического гепатита В, которые являются достаточно гибкими и будут периодически обновляться по мере появления новой информации. Для оценки качества доказательств, на которых основаны рекомендации, каждая рекомендация согласно требованию Комитета AASLD по практическим рекомендациям была отнесена к определенной категории (табл. 1).

Введение

В настоящее время во всем мире насчитывается 350 млн человек с хронической HBV-инфекцией [7]. В США зарегистрировано 1,25 млн носителей HBV (лица, у которых на протяжении >6 мес. в сыворотке крови обнаруживается HBsAg) [8, 9]. Носители HBV представляют собой группу высокого риска по развитию цирроза печени, печеночной недостаточности и *гепатоцеллюлярной карциномы* (ГЦК) [10]. Несмотря на то что у большинства пациентов с HBV-инфекцией не возникает осложнений, характерных для *хронического гепатита В* (ХГВ), тем не менее у 15–40% из них на протяжении жизни развиваются тяжелые нарушения функции печени [11].

Данные практические рекомендации являются обновленной версией предыдущих рекомендаций AASLD и содержат новую информацию по данной проблеме и недавно зарегистрированным противовирусным препаратам. Рекомендации, представленные в этом документе, касаются следующих вопросов: 1) обследование пациентов с хронической HBV-инфекцией; 2) профилактика HBV-

* Программа по изучению заболеваний печени и гепатита

** Программа арктических исследований

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

Категория	Определение
I	Доказательства получены в рандомизированных контролируемых клинических исследованиях
II-1	Доказательства получены в контролируемых клинических исследованиях без рандомизации
II-2	Доказательства получены в когортных исследованиях или аналитических исследованиях типа «случай–контроль»
II-3	Описания нескольких серий случаев или значимые результаты неконтролируемых исследований
III	Мнения авторитетных экспертов, описательные эпидемиологические исследования

инфекции; 3) ведение пациентов с ХГВ; 4) лечение ХГВ. Вопросы ведения пациентов с гепатитом В, ожидающих трансплантации печени, а также профилактики рецидивов гепатита В в посттрансплантационном периоде, были освещены в недавно опубликованном обзоре [12] и не будут обсуждаться в этом документе.

Скрининг групп высокого риска с целью выявления лиц с HBV-инфекцией

Распространенность HBsAg в мире очень варьирует, и все страны могут быть разделены на территории с высокой, средней и низкой распространенностью HBV-инфекции по показателю носительства HBsAg, составляющего $\geq 8\%$, 2–7%, и $< 2\%$ соответственно [7, 9, 13, 14]. В развитых странах распространенность выше среди лиц, иммигрировавших из стран с высокой или средней распространенностью заболевания, и у лиц с рискованным поведением [7, 9].

HBV передается вертикальным путем (от матери к ребенку в перинатальном периоде), парентеральным путем, при половых контактах, а также при тесных прямых контактах между людьми, имеющими ссадины и открытые раны, особенно среди детей в гиперэндемичных регионах [9].

HBV может сохраняться вне организма в течение длительного времени [15, 16]. Риск развития хронической HBV-инфекции после контакта с вирусом варьирует от 90% у новорожденных, родившихся от HBeAg-позитивных матерей, до 25–30% у детей в возрасте < 5 лет и $< 5\%$ у взрослых [17–21]. Кроме того, лица с иммуносупрессией имеют более высокую вероятность развития хронической HBV-инфекции после перенесенной острой инфекции [22, 23]. В таких странах, как США, где большинство детей и подростков привиты от гепатита В, риск передачи HBV-инфекции в детских дошкольных учреждениях или школах является чрезвычайно низким, поэтому HBsAg-позитивных детей не следует изолировать или ограничивать их участие в массовых мероприятиях, включая спортивные состязания.

В табл. 2 перечислены популяции и группы высокого риска, которые должны подвергаться скринингу на HBV-инфекцию; выявленные серонегативные лица должны получать вакцинацию. Тесты, используемые для скрининга на HBV-инфекцию, должны включать в себя определение в крови HBsAg и анти-HBs. В качестве альтернативного подхода сначала можно определять в крови анти-HBc, а затем лиц с положительными результатами тестировать на наличие HBsAg и анти-HBs с целью дифференцировать инфекцию от иммунитета.

У некоторых людей могут обнаруживаться анти-HBc, но при этом отсутствовать HBsAg или анти-HBs.

Существует несколько причин, по которым в крови могут обнаруживаться только анти-HBc.

(1) Анти-HBc могут быть индикатором хронической HBV-инфекции; у таких людей концентрация HBsAg уменьшается до неопределяемого уровня, однако при этом HBV ДНК часто остается на определяемом уровне, причем больше в печени, чем в сыворотке крови. Эта ситуация является достаточно распространенной среди лиц в регионах с высокой распространенностью HBV-инфекции, а также у ВИЧ-инфицированных или пациентов с инфекцией, вызванной *вирусом гепатита С* (HCV) [24].

(2) Анти-HBc могут быть маркером иммунитета после раннее перенесенной инфекции. У этих людей концентрация анти-HBs уменьшается до неопределяемого уровня, однако ответ иммунной памяти может наблюдаться даже после введения одной дозы вакцины [25].

(3) Обнаружение анти-HBc может представлять собой ложноположительный результат, особенно у лиц в регионах с низкой распространенностью HBsAg без факторов риска инфицирования HBV. Эти лица отвечают на вакцинацию против гепатита В так же, как люди, не имеющие серологических маркеров HBV-инфекции [9, 25, 26].

(4) Анти-HBc могут быть единственным маркером HBV-инфекции во время «серологического окна» при остром гепатите В, однако анти-HBc у таких пациентов должны представлять собой IgM.

Таблица 2. Группы высокого риска развития HBV-инфекции, подлежащие скринингу [9]

Регионы с высокой и средней распространенностью HBV, в которых родились исследуемые лица, включая мигрантов и усыновленных детей ^{1, 2}:

- Южная Азия (кроме Шри-Ланки);
- Африка;
- Южные острова Тихого океана;
- страны Ближнего Востока (кроме Кипра);
- Европейское Средиземноморье: Греция, Италия, Мальта, Португалия, Испания;
- Арктика (коренное население);
- Южная Америка: Аргентина, Боливия, Бразилия, Эквадор, Гайана, Суринам, Венесуэла и область Амазонки в Колумбии и Перу;
- республики бывшего Советского Союза;
- страны Восточной Европы (кроме Венгрии), включая Россию;
- страны Карибского бассейна: Антигуа и Барбуда, Доминика, Доминиканская Республика, Гранада, Гаити, Ямайка, Пуэрто-Рико, Сент-Китс и Невис, Сент-Люсия, Сент-Винсент и Гренадины, Тринидад и Тобаго и Туркс и Каикос

Другие группы высокого риска, подлежащие скринингу:

- члены семьи и половые партнеры HBsAg-положительных лиц ²;
- лица, которые когда-либо использовали инъекционные наркотики ²;
- лица, имеющие нескольких половых партнеров, или лица с наличием в анамнезе ИППП ²;
- гомосексуалисты ²;
- лица, отбывающие наказание в исправительных учреждениях ²;
- люди с длительно повышенным уровнем АЛТ или АСТ ²;
- люди, инфицированные HCV или ВИЧ ²;
- пациенты, находящиеся на гемодиализе ²;
- все беременные женщины

Примечание:

¹ если в первом поколении выявлены HBsAg-положительные лица, то необходимо проводить обследование всех последующих поколений;

² серонегативные лица должны быть вакцинированы против гепатита В

Рекомендации для лиц, которые должны тестироваться на HBV-инфекцию:

- 1. Тестирование на HBV-инфекцию должно проводиться у следующих групп населения: лица, рожденные в гиперэндемичных регионах (табл. 2); гомосексуалисты; лица, которые когда-либо использовали инъекционные наркотики; пациенты, находящиеся на диализе; ВИЧ-инфицированные; беременные женщины; члены семьи HBV-инфицированных, а также лица, совместно проживающие с ними и/или их половые партнеры. У перечисленных лиц следует проводить тестирование на HBsAg и анти-HBs, и все выявленные серонегативные лица должны получить вакцинацию (I).**

Консультирование пациентов и профилактика гепатита В

Пациентов с хронической HBV-инфекцией следует проконсультировать по вопросам изменения их образа жизни и предотвращения передачи вируса другим лицам, а также рассказать о важности пожизненного медицинского наблюдения. В настоящее время не существует специфических диетических мероприятий, которые могли бы оказывать влияние на прогрессирование ХГВ. Тем не

менее, злоупотребление алкоголем (употребление >20 г/сут для женщин и >30 г/сут для мужчин в пересчете на чистый спирт) может быть фактором риска развития цирроза печени [27, 28].

Носители HBV должны быть проинформированы о путях передачи вируса другим людям (табл. 3). Члены семьи и лица, проживающие с носителями HBV-инфекции, а также постоянные половые партнеры составляют группу повышенного риска развития HBV-инфекции, в связи с чем при наличии у них отрицательных результатов исследования на серологические маркеры HBV-инфекции они должны быть вакцинированы против гепатита В [9]. Случайные половые партнеры, а также постоянные половые партнеры, которые не проходили тестирования или не получили полный курс иммунизации, должны использовать барьерные методы контрацепции. HBsAg-положительные беременные женщины должны быть предупреждены о том, что их детям сразу после рождения могут быть введены специфический иммуноглобулин и вакцина против гепатита В [9]. Показано, что эффективность профилактики перинатальной передачи HBV путем одновременного введения специфического иммуноглобулина и вакцины против гепатита В составляет 95%, однако у матерей-носителей с очень

Таблица 3. Рекомендации для пациентов с HBV-инфекцией по предотвращению передачи вируса

HBsAg-позитивные пациенты:

- должны вступать в половые контакты только с вакцинированными партнерами;
- должны использовать методы барьерной контрацепции во время половых контактов с партнерами, которые не вакцинированы или не имеют естественного иммунитета;
- не должны пользоваться зубной щеткой или бритвой, которой пользуются другие люди;
- должны закрывать повязкой или заклеивать пластырем все открытые раны и царапины;
- должны удалять с помощью моющих средств или отбеливателя все попавшие капли крови;
- не должны быть донорами крови, органов, тканей или спермы

HBsAg-позитивные дети и взрослые:

- могут принимать участие в любых видах деятельности, включая контактные виды спорта;
- не должны отстраняться от посещения детских дошкольных учреждений и школ и не должны изолироваться от других детей;
- могут делиться пищей, пользоваться общей посудой и целовать других людей

высоким уровнем HBV ДНК в сыворотке крови ($>8 \text{ lg ME/мл}$) эффективность такой профилактики значительно ниже [9, 29]. Передача HBV от инфицированных медицинских работников пациентам наблюдается редко [30, 31]. Согласно рекомендациям Центров США по контролю и профилактике заболеваний (CDC) HBsAg-позитивные медицинские работники не должны выполнять никакие инвазивные процедуры без предшествующей консультации и решения экспертной группы относительно того, при каких обстоятельствах (если таковые имеются) этим сотрудникам разрешается проводить такие манипуляции [32], так могло бы быть предварительное извещение пациентов об инфицированности соответствующего медицинского работника. В некоторых европейских странах установлен пограничный уровень HBV ДНК, варьирующий от 200 до 20 000 ME/мл, на который ориентируются при решении вопроса о допуске HBsAg-позитивных медицинских работников к выполнению инвазивных процедур [33, 34].

Риск инфицирования при переливании крови и трансплантации солидных органов (почки, легкие, сердце) от людей, у которых в крови обнаруживается только анти-HBc, остается низким и составляет от 0 до 13% [35]. В то же время риск инфицирования после трансплантации печени от HBsAg-негативного, но анти-HBc-позитивного донора достигает 75% и зависит от состояния иммунитета против HBV-инфекции у реципиентов [36, 37]. Если органы от анти-HBc-позитивного донора пересаживаются реципиентам, не имеющим маркеров HBV-инфекции, то обязательно должна проводиться противовирусная терапия для предотвращения развития у реципиента HBV-инфекции. Пока оптимальная продолжительность профилактической терапии не определена, достаточным для трансплантации солидных органов (не печени) может быть курс длительностью 6–12 мес. После трансплантации печени

рекомендуется проводить пожизненную противовирусную терапию; вопрос о необходимости введения таким пациентам специфического иммуноглобулина против гепатита В остается нерешенным [38].

Вакцинация против гепатита В

Рекомендации по вакцинации против гепатита В представлены в недавно опубликованном руководстве, выпущенном CDC совместно с Совещательным комитетом по иммунизационной практике (ACIP) [9, 9a]. После проведенной вакцинации в дальнейшем тестирование рекомендуется проводить у лиц с сохраняющимся высоким риском инфицирования, таких как медицинские работники, дети, родившиеся от HBsAg-позитивных матерей, и половые партнеры лиц с хронической HBV-инфекцией. Кроме того, рекомендуется ежегодно обследовать пациентов, находящихся на гемодиализе, которые постоянно имеют высокую вероятность контакта с HBV и у которых быстро снижается специфический иммунитет.

Рекомендации по консультированию и профилактике передачи HBV от лиц с хронической HBV-инфекцией

2. Носителей HBV следует консультировать по вопросам, касающимся предотвращения передачи вируса другим людям (см. табл. 3) (III).
3. Половые партнеры и лица, проживающие с носителями HBV, у которых отсутствуют серологические маркеры HBV, должны быть вакцинированы против гепатита В (III).
4. Новорожденным от HBV-инфицированных матерей следует сразу после родов вводить специфический иммуноглобулин и вакцину против гепатита В, и в последующем эти дети должны получить полный курс вакцинации (I).
5. У лиц с сохраняющимся риском инфицирования HBV, таких как дети, рожденные от

HBsAg-позитивных матерей, медицинские работники, пациенты, находящиеся на гемодиализе, половые партнеры HBV-инфицированных, следует проводить тестирование для определения ответа на вакцинацию (III);

- у детей, рожденных от матерей-носителей HBV, поствакцинальное тестирование следует проводить в возрасте 9–15 мес., а в остальных возрастных группах – через 1–2 мес. после введения последней дозы вакцины (III);
- у пациентов, находящихся на постоянном гемодиализе, тестирование для определения ответа на вакцинацию, рекомендуется проводить ежегодно (III).

6. Носителям HBV рекомендуется полное воздержание или хотя бы ограничение употребления алкоголя (III).

7. Лица, у которых в крови обнаруживаются только анти-HBc, проживающие в регионах с низкой распространенностью HBV и не имеющие факторов риска инфицирования, должны получить полный курс вакцинации против гепатита В (II-2).

Генотипы HBV

В настоящее время известно 8 генотипов HBV, которые обозначаются буквами от А до Н [39, 40]. Распространенность генотипов HBV широко варьирует в зависимости от географического региона. В США были найдены все известные генотипы HBV, распространенность которых варьировала, составляя 35, 22, 31, 10 и 2% для генотипов А, В, С, D и E-G соответственно [41].

Недавно проведенные исследования позволяют предположить, что от генотипа HBV может зависеть прогрессирование связанного с HBV-инфекцией заболевания печени, а также ее ответ на терапию интерферонами [39]. Исследования, проведенные в Азии, показали, что инфекция, вызванная генотипом В, сопровождается сероконверсией HBeAg в более раннем возрасте, более стойкой ремиссией после сероконверсии, более низкой активностью воспалительно-некротического процесса в печени, а также более медленным развитием цирроза печени и более низкой частотой развития ГЦК по сравнению с инфекцией, вызванной генотипом С [42–47]. Взаимосвязь между другими генотипами HBV и скоростью прогрессирования заболевания печени остается неясной.

В нескольких исследованиях стандартного *интерферона альфа* (ИНФ- α) и в одном исследовании *пегилированного интерферона альфа* (пегИНФ- α) у пациентов с инфекцией, вызванной генотипами А

и В, наблюдалась более высокая частота сероконверсии HBeAg по сравнению с инфекцией, вызванной генотипами С и D [48–51]. В другом исследовании пегИНФ- α более высокая частота сероконверсии HBeAg была зарегистрирована при инфекции, вызванной только генотипом А, но не генотипом В [52]. В исследованиях *аналогов нуклеотидов/нуклеозидов* (АН) не было выявлено никакой корреляции между генотипами HBV и частотой ответа на терапию. Таким образом, прежде чем рекомендовать внедрение генотипирования HBV в клиническую практику, необходимо получить дополнительные данные по взаимосвязи между генотипами HBV и ответом на терапию.

Терминология и естественное течение хронической HBV-инфекции

Общепринятые определения и диагностические критерии, касающиеся HBV-инфекции, которые были приняты на конференциях «Ведение пациентов с гепатитом В», проведенных НИИ в 2000 и 2006 гг., представлены в табл. 4 [3, 4].

На начальном этапе развития хронической HBV-инфекции в сыворотке крови присутствует HBeAg и определяется высокий уровень HBV ДНК. У большинства пациентов с HBV-инфекцией в конечном итоге наблюдается исчезновение из крови HBeAg и появление *антител к HBeAg* (анти-HBe) [13, 53–56].

Среди лиц с HBV-инфекцией, приобретенной в перинатальном периоде, у большей доли HBeAg-позитивных пациентов отмечается высокий уровень HBV ДНК в сыворотке крови, но при этом нормальный уровень АЛТ [57, 58]. Считается, что эти пациенты находятся в так называемой фазе «иммунологической толерантности». У многих из них в дальнейшем развивается HBeAg-позитивный ХГВ с повышением уровня АЛТ [56, 59, 60]. В странах Южной и Центральной Африки, на Аляске и в Средиземноморских странах HBV обычно передается от человека к человеку в детском возрасте [20, 61–63]. В этих популяциях у большинства HBeAg-позитивных детей наблюдается повышенный уровень АЛТ, а сероконверсия HBeAg \rightarrow анти-HBe, как правило, происходит перед пубертатным периодом или вскоре после его начала. В развитых странах HBV-инфекция обычно приобретает уже во взрослом возрасте: половым путем и при применении инъекционных наркотиков [8, 9, 64]. В настоящее время количество данных ограничено, однако установлено, что у лиц с высоким уровнем HBV ДНК обычно имеется поражение печени.

У носителей HBV с повышенным уровнем АЛТ частота элиминации HBeAg из организма состав-

Таблица 4. Основные клинические термины и определения, связанные с HBV-инфекцией

Клинический термин	Определения
Хронический гепатит В	Хроническое воспалительно-некротическое заболевание печени, связанное с персистирующей инфекцией, вызванной HBV. Хронический гепатит В подразделяется на HBeAg-позитивный и HBeAg-негативный
Носительство HBsAg	Персистирующая HBV-инфекция печени без выраженного воспалительно-некротического процесса
Разрешившийся гепатит В	Перенесенная HBV-инфекция с отсутствием в дальнейшем вирусологических, биохимических или гистологических признаков активности вирусной инфекции или патологического процесса в печени
Обострение или рецидив гепатита В	Периодическое повышение уровня печеночных трансаминаз более чем в 10 раз по сравнению с <i>верхней границей нормы</i> (ВГН) и более чем в 2 раза по сравнению с исходным уровнем
Реактивация гепатита В	Повторное развитие воспалительно-некротического процесса в печени у пациентов, являющихся «неактивными носителями HBsAg», или у пациентов, перенесших гепатит В
Элиминация HBeAg	Исчезновение HBeAg из крови у пациентов, которые ранее были HBeAg-позитивными
Сероконверсия HBeAg	Исчезновение HBeAg и появление анти-HBe в крови у пациентов, которые ранее были HBeAg-позитивными и анти-HBe-негативными
Реверсия HBeAg	Повторное появление в крови HBeAg у пациентов, которые ранее были HBeAg-негативными и анти-HBe-позитивными
Клинический термин	Диагностические критерии
Хронический гепатит В	1. Наличие в крови HBsAg >6 месяцев 2. Уровень HBV ДНК в сыворотке крови >20 000 МЕ/мл (10 ⁵ копий/мл). У пациентов с HBeAg-негативным хроническим гепатитом В часто наблюдаются низкие значения – 2000–20 000 МЕ/мл (10 ⁴ –10 ⁵ копий/мл) 3. Постоянно или периодически повышенный уровень АЛТ/АСТ 4. Наличие хронического гепатита с умеренной или выраженной активностью воспалительно-некротического процесса по данным биопсии печени
Неактивное носительство HBsAg	1. Наличие в крови HBsAg >6 месяцев 2. Отсутствие в крови HBeAg и наличие анти-HBe 3. Уровень HBV ДНК в сыворотке крови <2000 МЕ/мл 4. Постоянно нормальный уровень АЛТ/АСТ 5. Отсутствие выраженного гепатита по данным биопсии печени
Разрешившийся гепатит В	1. Наличие в анамнезе ранее перенесенного острого или хронического гепатита В или наличие в крови анти-HBc ± анти HBs 2. Отсутствие в крови HBsAg 3. Отсутствие HBV ДНК в сыворотке крови* 4. Нормальный уровень АЛТ

Примечание: * высокочувствительные методы ПЦР могут определять даже очень низкие уровни HBV ДНК.

ляет в среднем от 8 до 12% в год [53–56, 65], однако значительно снижена у носителей HBV, которые находятся в фазе иммунологической толерантности (главным образом дети монголоидной расы, лица молодого возраста с нормальным уровнем АЛТ) [57, 58], а также у иммунокомпрометированных пациентов [23, 66]. Элиминация HBeAg может происходить после обострения гепатита, проявлявшегося повышением уровня АЛТ [54, 56]. Более высокая частота спонтанной элиминации HBeAg из организма наблюдается в пожилом возрасте, при более высоком уровне АЛТ, а также у пациентов с HBV-инфекцией, вызванной генотипом В (по сравнению с С).

После спонтанной сероконверсии HBeAg у 67–80% носителей уровень HBV ДНК становится низким или неопределяемым, при этом наблюдается нормализация уровня АЛТ с отсутствием или минимальной активностью воспалительно-некротического процесса по данным биопсии печени – так называемое состояние «неактивного носительства» [13, 53–56, 62, 65, 67]. Приблизительно у 4–20% «неактивных носителей» возникает одна и более реверсий HBeAg. Среди тех, у кого после сероконверсии HBeAg остаются анти-HBe, у 10–30% сохраняется повышенный уровень АЛТ и высокий уровень HBV ДНК, и примерно у 10–20% «неактивных носителей» может наблюдаться возобнов-

ление репликации HBV и развитие обострений гепатита после многих лет покоя [56, 60, 65, 67, 68]. В связи с этим необходимо проводить повторное тестирование, чтобы определить, действительно ли HBsAg-положительный и HBeAg-негативный пациент находится в состоянии «неактивного носительства», и для подтверждения того, что это состояние сохраняется, должно проводиться пожизненное наблюдение. Элиминация HBeAg (самопроизвольная или после противовирусной терапии) снижает риск развития печеночной недостаточности и увеличивает выживаемость [69–77].

Сохраняющийся умеренный или высокий уровень репликации HBV или возобновление репликации HBV после периода покоя (после сероконверсии HBeAg) приводит к развитию HBeAg-негативного ХГВ, который характеризуется уровнем HBV ДНК >2000 МЕ/мл и продолжающимся воспалительно-некротическим процессом в печени [78]. У большинства пациентов с HBeAg-негативным ХГВ имеются мутации HBV в промоторе pre-core и core гена [79–85]. У пациентов с HBeAg-негативным ХГВ, как правило, наблюдается более низкий уровень HBV ДНК, чем у пациентов с HBeAg-положительным ХГВ (2000–20 млн по сравнению с 200 тыс. – 2 млрд МЕ/мл) и более высокая вероятность волнообразного течения заболевания. Эти пациенты также характеризуются более старшим возрастом и наличием более выраженного поражения печени, поскольку HBeAg-негативный ХГВ представляет собой более позднюю стадию хронической HBV-инфекции [78, 83, 86].

Приблизительно у 0,5% носителей HBsAg ежегодно наблюдается исчезновение из крови HBsAg, при этом у большинства из них появляются анти-HBs [65, 87]. Однако в половине из этих случаев в сыворотке крови по-прежнему определяется низкий уровень HBV ДНК. Прогноз улучшается у носителей, у которых произошла элиминация HBsAg, однако в исследованиях ГЦК возникала спустя многие годы после элиминации HBsAg, особенно у пожилых лиц или тех пациентов, у которых цирроз печени возник еще до элиминации HBsAg [65, 87–91].

Факторы, влияющие на прогрессирование заболевания печени, вызванного HBV-инфекцией

К факторам риска (со стороны макроорганизма и вируса), связанным с увеличением скорости развития цирроза печени, относятся: пожилой возраст (большая длительность инфекции), генотип С, высокий уровень HBV ДНК, привычное употребление алкоголя, а также сопутствующая инфекция, вызванная вирусом гепатита С (HCV), вирусом

genatoma D (HDV) или ВИЧ [92, 93]. Факторы окружающей среды, которые повышают риск развития цирроза печени или ГЦК, включают в себя: злоупотребление алкоголем, канцерогены, такие как афлотоксины, и курение.

К основным факторам риска (со стороны макроорганизма и вируса) развития ГЦК относятся: мужской пол, семейный анамнез ГЦК, пожилой возраст, наличие в анамнезе реверсий анти-HBe → HBeAg, наличие цирроза печени, генотип С, мутация в промотоге core гена и коинфекция HCV [65, 69, 92, 93]. Несмотря на то что цирроз печени является наиболее важным фактором риска развития ГЦК, однако в 30–50% случаев ГЦК, связанной с HBV, цирроз печени отсутствует [11]. В нескольких недавно проведенных в Азии проспективных исследованиях было обнаружено, что наличие HBeAg и высокий уровень HBV ДНК в сыворотке крови являются независимыми факторами риска развития в последующем цирроза печени и ГЦК [47, 94–97]. Учитывая, что большинство пациентов в этих исследованиях, скорее всего, инфицировались HBV в перинатальном периоде, и их средний возраст на момент включения в исследование составлял около 40 лет, эти данные указывают на то, что высокий уровень репликации HBV, сохраняющийся более 40 лет, сопровождается увеличением риска развития ГЦК. Однако из-за волнообразного характера хронической HBV-инфекции ценность однократного обнаружения высокого уровня HBV ДНК в какой-то конкретный момент времени для установления прогноза у отдельного пациента может быть ограниченной, и риск развития ГЦК у HBeAg-положительных пациентов молодого возраста с однократно обнаруженным высоким уровнем HBV ДНК может быть существенно ниже.

Коинфекция HCV, HDV или ВИЧ

Вирус гепатита С (HCV). Согласно результатам исследований сопутствующая HCV-инфекция имеет место у 10–15% пациентов с ХГВ и наиболее часто встречается среди инъекционных наркоманов [98]. Острая коинфекция HBV/HCV может сокращать продолжительность нахождения HBsAg в крови и снижать пиковую концентрацию АЛТ в сыворотке крови, по сравнению с острой моноинфекцией, вызванной HBV [99, 100]. Однако острая коинфекция HCV/HBV или острая HCV-инфекция на фоне имеющегося ХГВ также повышает риск развития тяжелого гепатита и фульминантной печеночной недостаточности [101].

У пациентов с коинфекцией HBV/HCV наблюдается более высокая частота развития цирроза печени и ГЦК, по сравнению с пациентами, инфицированными

цированными каким-либо одним из этих вирусов [102, 103].

Вирус гепатита D (HDV). HDV представляет собой сателлитный вирус, синтез белков оболочки которого зависит от присутствия в гепатоцитах HBV [104]. Коинфекция HBV/HDV наиболее часто встречается в странах Средиземноморья и некоторых странах Южной Америки. Наличие вакцин против гепатита В, а также реализация массовых образовательных программ по вопросам предотвращения передачи HBV привели к значительному снижению распространенности HDV-инфекции в последнее десятилетие [105]. HDV-инфекция может протекать в 2 формах. Одна из форм связана с одновременным инфицированием HBV и HDV (*коинфекция*), что обычно обуславливает более тяжелое течение острого гепатита с более высокой летальностью, по сравнению с ОГВ [104, 106], но реже приводит к развитию хронической инфекции. Вторая форма является результатом присоединения HDV у пациентов с HBV-инфекцией (*суперинфекция*) и может проявляться как тяжелый «острый» гепатит у ранее бессимптомных носителей HBV или как обострение имеющегося ХГВ. В отличие от коинфекции, суперинфекция HDV у носителей РИМ почти всегда приводит к развитию хронической инфекции, вызванной обоими вирусами. У пациентов с хронической коинфекцией HBV/HDV чаще развивается цирроз печени, печеночная недостаточность и ГЦК, по сравнению с теми, у кого имеется только хроническая HBV-инфекция [107, 108].

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Согласно результатам исследований, у 6–13% ВИЧ-инфицированных имеет место коинфекция HBV. Коинфекция ВИЧ наиболее распространена у лиц, проживающих в регионах, где оба вируса являются эндемичными, например в Южной Африке [9]. У лиц с коинфекцией HBV/ВИЧ, как правило, отмечается более высокий уровень HBV ДНК, более низкая частота спонтанной сероконверсии HBeAg, более тяжелое поражение печени и более высокая частота летальных исходов, связанных с заболеванием печени [109–112]. Кроме того, у пациентов с коинфекцией ВИЧ/HBV и низким количеством CD4-клеток, у которых наблюдается восстановление иммунной системы после начала *высокоактивной антиретровирусной терапии* (ВААРТ), могут развиваться тяжелые обострения гепатита [110]. Повышение уровня ферментов печени у пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ может быть вызвано другими, не связанными с HBV, факторами, включая ВААРТ и некоторые оппортунистические инфекции, такие как цитоме-

галовирусная инфекция и инфекция, вызванная *Mycobacterium avium*.

У пациентов с ВИЧ-инфекцией может наблюдаться высокий уровень HBV ДНК и высокая активность воспалительно-некротического процесса в печени с наличием в крови анти-HBc, но не HBsAg, – так называемая «скрытая HBV-инфекция» [110]. Учитывая это, целесообразно тестировать всех ВИЧ-инфицированных как на HBsAg, так и на анти-HBc, и при обнаружении любого из указанных маркеров проводить определение уровня HBV ДНК. Пациенты, у которых не обнаруживается ни один серологический маркер HBV, должны получить вакцину против гепатита В. По возможности, вакцинацию против гепатита В следует проводить тогда, когда количество CD4 клеток составляет >200/мкл, поскольку при более низком показателе наблюдается очень слабый иммунный ответ. Пациенты, у которых количество CD4 клеток составляет <200/мкл, должны сначала получать ВААРТ и затем после повышения количества CD4 клеток >200/мкл – вакцину против гепатита В [110, 111].

Обследование и ведение пациентов с хронической HBV-инфекцией

Первичное обследование

Первичная оценка пациентов с хронической HBV-инфекцией должна включать в себя тщательный сбор анамнеза и физикальное обследование. Особое внимание следует уделять выявлению следующих моментов: наличие факторов риска коинфекции, употребление пациентом алкоголя, семейный анамнез HBV-инфекции и рака печени. Лабораторные методы исследования должны включать в себя тесты для оценки патологического процесса в печени, определение маркеров репликации HBV, а также тесты для выявления коинфекции HCV, HDV или ВИЧ у пациентов из группы риска (табл. 5). Лица с ХГВ должны быть привиты от гепатита А в соответствии с рекомендациями CDC [113].

Определение уровня HBV ДНК

Большинство методов определения уровня HBV ДНК, используемых в клинической практике, основаны на *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) и имеют нижний порог определения 50–200 МЕ/мл (250–1000 копий/мл) [114] и ограниченный динамический диапазон (до 4–5 lg МЕ/мл). Недавно были выпущены новые тест-системы для определения уровня HBV ДНК, основанные на технологии «ПЦР в реальном времени», с повышенной чувствительностью (5–10 МЕ/мл) и более широким

Таблица 5. Обследование пациентов с хронической HBV-инфекцией

Первичное обследование

1. Сбор анамнеза и физикальное обследование.
2. Сбор семейного анамнеза заболеваний печени и ГЦК.
3. Лабораторные тесты для оценки характера поражения печени: общий анализ крови с определением количества тромбоцитов, определение биохимических показателей функции печени и протромбинового времени.
4. Тесты для оценки репликации HBV: определение в крови HBeAg/анти-HBe, HBV ДНК.
5. Тесты для исключения коинфекций другими вирусами – определение в крови анти-HCV, анти-HDV (у лиц из стран с высокой распространенностью HDV-инфекции и лиц, ранее использовавших инъекционные наркотики), а также антител к ВИЧ у лиц из групп риска.
6. Тесты для скрининга на ГЦК: тест на α -фетопротеин и УЗИ у пациентов из группы высокого риска.
7. Биопсия печени с целью определения степени активности и стадии патологического процесса в печени у пациентов, соответствующих критериям хронического гепатита.

Примерный план наблюдения пациентов, не нуждающихся в лечении

HBeAg-позитивные пациенты с уровнем HBV ДНК >20 000 МЕ/мл и нормальным уровнем АЛТ:

- определение уровня АЛТ каждые 3–6 мес. или чаще в случае его повышения;
- при АЛТ = 1–2×ВГН повторное определение его уровня каждые 1–3 мес.; определение необходимости проведения биопсии печени у пациентов в возрасте >40 лет, с пограничным или минимально повышенным уровнем АЛТ в серии тестов.

Решение вопроса о проведении лечения при умеренном/выраженном воспалении или выраженном фиброзе по данным биопсии печени:

- при АЛТ >2×ВГН в течение 3–6 мес., наличии в крови HBeAg и уровне HBV ДНК >20 000 МЕ/мл следует рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени и назначении лечения;
- проведение скрининга на ГЦК в соответствующих группах риска.

«Неактивные носители HBsAg»:

- определение уровня АЛТ каждые 3 мес. в течение 1 года; при постоянно нормальном уровне АЛТ – каждые 6–12 мес.;
- при АЛТ = 1–2×ВГН определение уровня HBV ДНК в сыворотке крови с исключением других причин заболевания печени. Рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени у пациентов с пограничным или минимально повышенным уровнем АЛТ в серии тестов или постоянным уровнем HBV ДНК >20 000 МЕ/мл. Решение вопроса о проведении лечения при умеренном/выраженном воспалении или выраженном фиброзе по данным биопсии печени;
- проведение скрининга на ГЦК в соответствующих группах риска.

динамическим диапазоном (до 8–9 lg МЕ/мл) [115]. Измерение уровня HBV ДНК является решающим компонентом при обследовании пациентов с хронической HBV-инфекцией, а также при оценке эффективности противовирусной терапии.

Основной проблемой при интерпретации уровня HBV ДНК в сыворотке крови является установление пограничных значений, используемых для определения показаний к лечению и ответа на терапию. Поскольку HBV ДНК сохраняется даже у людей с полным серологическим восстановлением после перенесенной острой HBV-инфекции [116], то низкий уровень HBV ДНК не может сопровождаться прогрессированием заболевания печени, поэтому очищение организма от вируса является нереальной целью лечения. Произвольно значение 20 000 МЕ/мл (>10⁵ копий/мл) было выбрано в качестве диагностического критерия ХГВ на конференции NIH, проведенной в 2000 г. [3]. Однако хронический гепатит, цирроз печени и ГЦК обнаруживались и у пациентов с низкими уровнями HBV ДНК. Кроме того, у некоторых пациентов с ХГВ

уровень HBV ДНК колеблется в широких пределах (от неопределяемого до >2 000 000 МЕ/мл) [117]. В связи с этим периодическое определение уровня HBV ДНК гораздо важнее для прогнозирования и определения необходимости в терапии, чем интерпретация разового анализа с помощью какого-либо произвольно выбранного пограничного значения. В настоящее время установлено, что низкие уровни HBV ДНК (3–5 lg МЕ/мл) могут сопровождаться прогрессированием заболевания печени и служить основанием для назначения терапии, особенно у HBeAg-негативных пациентов или пациентов с уже имеющимся циррозом печени.

Биопсия печени

Целью биопсии печени является оценка степени поражения печени, а также исключение других причин заболевания печени. Следует помнить, что гистологическая картина печени может значительно улучшаться у пациентов со стойким ответом на противовирусную терапию или пациентов, у которых произошла сероконверсия HBeAg. С другой

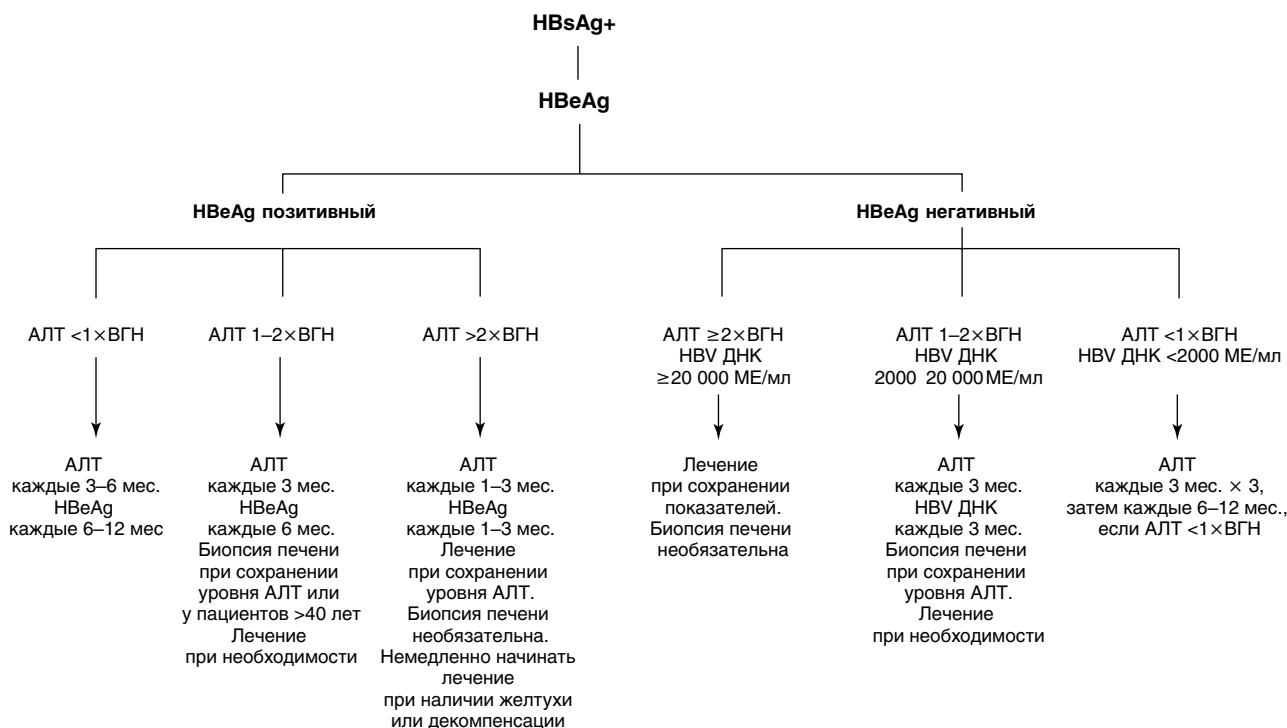


Рис. 1. Алгоритм наблюдения HBeAg-положительных или HBeAg-негативных носителей HBV

стороны, гистологическая картина печени также может резко ухудшаться, что наблюдается у пациентов с периодическими обострениями или реактивацией гепатита.

Биопсия печени наиболее полезна у лиц, которые не соответствуют четким критериям для назначения терапии, которые перечислены далее. Недавно проведенные исследования показали, что верхняя граница нормы для уровня АЛТ и АСТ должна быть снижена до 30 МЕ/л у мужчин и до 19 МЕ/л у женщин [118]. У пациентов с HBV-инфекцией и уровнем АЛТ, близким к верхней границе нормы, могут иметь место патологические изменения гистологической картины печени, а также повышенный риск смерти от заболевания печени, особенно у лиц в возрасте >40 лет. Таким образом, при принятии решения о проведении биопсии печени должны учитываться возраст, предложенные новые значения ВГН для АЛТ, наличие/отсутствие HBeAg, уровень HBV ДНК и другие клинические признаки, позволяющие предположить наличие хронического заболевания печени или портальной гипертензии.

Рекомендации по первичному обследованию пациентов с хронической HBV-инфекцией:

8. Первичная оценка пациентов с впервые диагностированной HBV-инфекцией должна

включать в себя сбор анамнеза, физикальное обследование и лабораторные анализы, перечисленные в табл. 5 (III).

9. Все пациенты с ХГВ, не привитые от гепатита А, должны получить 2 дозы вакцины против гепатита А с интервалом 6–18 мес. (II-3).

Наблюдение пациентов, первоначально не нуждающихся в противовирусной терапии

HBeAg-положительные пациенты с высоким уровнем HBV ДНК в сыворотке крови и нормальным уровнем АЛТ

Эти пациенты должны проходить обследование 1 раз в 3–6 мес. (табл. 5, рис. 1). Более частое обследование следует проводить при повышении уровня АЛТ [54, 56, 60, 119]. У пациентов, которые остаются HBeAg-положительными и сохраняют уровень HBV ДНК >20 000 МЕ/мл после 3–6-мес. периода повышения уровня АЛТ >2×ВГН, следует рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени и назначении противовирусной терапии (см. рис. 1). Вопрос о проведении биопсии печени и назначении противовирусной терапии также следует рассмотреть у пациентов с постоянно находящимся на ВГН или минимально повышенным уровнем АЛТ, особенно у лиц в возрасте >40 лет. У HBeAg-положительных

пациентов молодого возраста (<30 лет) с постоянно нормальным уровнем АЛТ проводить биопсию печени обычно не требуется.

НВеАg-негативные, анти-НВе(+), пациенты с нормальным уровнем АЛТ и уровнем НВV ДНК <2000 МЕ/мл («неактивные носители НВsАg»)

У этих пациентов уровень АЛТ следует определять каждые 3 мес. в течение первого года с целью решения вопроса – являются ли истинными «неактивными носителями», и далее – каждые 6–12 мес. [86, 117]. При обнаружении в последующем повышенного уровня АЛТ необходимо проводить более частое обследование. Кроме того, в случае сохраняющегося или рецидивирующего повышения уровня АЛТ необходимо начать обследование с целью выяснения причины такого повышения, включая определение уровня НВV ДНК в сыворотке крови (см. табл. 5, рис. 1).

Рекомендации по наблюдению пациентов с хронической НВV-инфекцией (см. рис. 1):

10. У НВеАg-положительных и НВеАg-негативных пациентов, которые соответствуют критериям ХГВ (см. табл. 4), должен рассматриваться вопрос о проведении противовирусной терапии (I).
11. У НВеАg-положительных пациентов с постоянно нормальным уровнем АЛТ этот показатель следует определять 1 раз в 3–6 мес. При повышении уровня АЛТ определение этого показателя, а также уровня НВV ДНК следует проводить чаще. Определение в крови НВеАg следует проводить каждые 6–12 мес. (III).
 - У НВеАg-положительных пациентов с уровнем НВV ДНК >20 000 МЕ/мл после 3–6-мес. периода повышения уровня АЛТ (1–2×ВГН), а также у НВеАg-положительных пациентов с уровнем НВV ДНК >20 000 МЕ/мл в возрасте >40 лет следует рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени и назначении лечения при наличии умеренного/выраженного воспаления или выраженного фиброза по данным биопсии (III). У пациентов, которые остаются НВеАg-положительными и сохраняют уровень НВV ДНК >20 000 МЕ/мл после 3–6-мес. периода повышения уровня АЛТ >2×ВГН, также следует рассмотреть вопрос о назначении терапии (III).
12. У НВеАg-негативных пациентов с нормальным уровнем АЛТ и НВV ДНК <2000 МЕ/мл уровень АЛТ следует определять каждые 3 мес. в течение первого года с целью установления, являются ли истинными «неактив-

ными носителями», и далее каждые 6–12 мес. (III).

- Определение уровня НВV ДНК и более частое обследование следует проводить при повышении уровня АЛТ или АСТ выше нормы (III).

Периодический скрининг на ГЦК

Недавно были опубликованы практические рекомендации AASLD по ГЦК [120]. В проспективных исследованиях оценивались 2 метода, рекомендованных для скрининга на ГЦК: определение *альфа-фетопroteина* (АФП) и *ультразвуковое исследование* (УЗИ), при этом чувствительность, специфичность и диагностическая точность УЗИ оказались намного выше, чем при определении АФП. Согласно рекомендациям AASLD у носителей НВV с высоким риском развития ГЦК следует проводить УЗИ каждые 6–12 мес. или определение АФП при невозможности проведения УЗИ или его высокой стоимости [120]. Поскольку интерпретация данных УЗИ сильно зависит от квалификации врача, который проводит исследование, то клиницисты для наблюдения за ГЦК могут одновременно использовать УЗИ и определение АФП.

Рекомендации по скринингу на ГЦК:

13. У носителей НВV с высоким риском развития ГЦК (мужчины и женщины монголоидной расы в возрасте >40 и >50 лет соответственно; лица с циррозом печени; лица с семейным анамнезом ГЦК), а также у любых носителей НВV в возрасте >40 лет с постоянно или периодически повышенным уровнем АЛТ и/или высоким уровнем НВV ДНК (>2000 МЕ/мл) следует проводить УЗИ каждые 6–12 мес. (II-2).
14. У носителей НВV с высоким риском развития ГЦК при невозможности проведения УЗИ периодический скрининг следует проводить путем определения АФП (II-2).

Лечение хронического гепатита В

Целью лечения хронического гепатита В является стойкое подавление репликации НВV и достижение ремиссии воспалительно-некротического процесса в печени. Конечная цель заключается в предотвращении развития цирроза печени, печеночной недостаточности и ГЦК. Параметры, используемые для оценки ответа на терапию, включают в себя: нормализацию уровня АЛТ в сыворотке крови; снижение уровня НВV ДНК в сыворотке крови; исчезновение НВеАg с/без появления анти-НВе; улучшение гистологической картины печени.

Таблица 6. Типы ответов на противовирусную терапию при хроническом гепатите В

Тип ответа	Показатель
<i>Биохимический</i> (БО)	Снижение уровня АЛТ в сыворотке крови до нормальных значений
<i>Вирусологический</i> (ВО)	Снижение концентрации HBV ДНК в сыворотке крови до уровня, не определяемого с помощью ПЦР, и исчезновение из крови HBeAg у изначально HBeAg-позитивных пациентов
Первичная неэффективность терапии (неприменимо к терапии интерферонами)	Снижение уровня HBV ДНК в сыворотке крови на <2 lg МЕ/мл после как минимум 24 нед лечения
Вирусологический рецидив	Увеличение уровня HBV ДНК на 1 lg МЕ/мл после завершения терапии, определяемое как минимум 2 раза с интервалом более 4 нед.
<i>Гистологический</i> (ГО)	Снижение гистологического индекса активности как минимум на 2 балла и отсутствие увеличения степени выраженности фиброза (в баллах), по сравнению с результатами биопсии печени до начала лечения
<i>Полный</i> (ПО)	Соответствие критериям биохимического и вирусологического ответов и отсутствие в крови HBsAg
По срокам оценки	Показатель
На фоне терапии	
Во время терапии	Сохраняется на протяжении всего курса лечения
В конце терапии	На момент завершения определенного курса лечения
Стойкий	
Стойкий (СО-6)	Через 6 мес после завершения терапии
Стойкий (СО-12)	Через 12 мес после завершения терапии

Таблица 7. Термины, используемые для описания резистентности к аналогам нуклеозидов

Вирусологический прорыв	Увеличение на фоне продолжающегося лечения уровня HBV ДНК в сыворотке крови более чем на 1 log ₁₀ (в 10 раз), по сравнению с наименьшим уровнем, зарегистрированным после достижения вирусологического ответа.
Вирусологический рикошет	Увеличение на фоне продолжающегося лечения уровня HBV ДНК в сыворотке крови до >20 000 МЕ/мл или выше уровня, зарегистрированного до начала лечения, после достижения вирусологического ответа.
Биохимический прорыв	Увеличение на фоне продолжающегося лечения уровня АЛТ выше нормы после его предшествующей нормализации.
Генотипическая резистентность	Обнаружение мутаций, которые, как показали <i>in vitro</i> исследования, определяют резистентность вируса к применяемому АН.
Фенотипическая резистентность	Подтверждение в <i>in vitro</i> тестах того, что выявленная мутация снижает чувствительность вируса к применяемому АН, о чем свидетельствует повышение подавляющей концентрации.

На конференциях «Ведение пациентов с гепатитом В», проведенных Национальными Институтами Здоровья США (НИН) в 2000 г. и 2006 г., было предложено выделять следующие типы ответов на противовирусную терапию при ХГВ: *биохимический ответ* (БО), *вирусологический ответ* (ВО) и *гистологический ответ* (ГО), а также в зависимости от сроков оценки – *ответ на фоне терапии и стойкий ответ после завершения терапии* (табл. 6) [3, 4]. Также были предложены такие стандартизированные определения, как «первичная неэффек-

тивность терапии», «вирусологический прорыв» и «вирусологический рецидив».

В настоящее время в США разрешены 6 лекарственных препаратов (в РФ – 5 препаратов, кроме адефовира дипивоксила) для лечения взрослых с ХГВ.

В то время как *интерфероны* (ИНФ) назначаются курсами с заранее определенной продолжительностью, *аналоги нуклеозидов* (АН) обычно применяются до тех пор, пока пациент не достигнет специфических целевых показателей. Различие в подходах к

Таблица 8. Частота ответов на противовирусную терапию у ранее не получавших лечение пациентов с HBeAg-положительным ХГВ

Показатель	Стандартный ИНФ-α	Контроль	Ламивудин	Плацебо	Адефовир	Плацебо	Энтекавир	Телбивудин	pegИНФ-α	pegИНФ-α + ламивудин
	5 млн ME 1 р/сут или 10 млн ME 3 р/нед. 12–24 нед.	–	100 мг 1 р/сут 48–52 нед.	–	10 мг 1 р/сут 48 нед.	–	0,5 мг 1 р/сут 48 нед.	600 мг 1 р/сут 52 нед.	180 мкг 1 р/нед. 48 нед.	180 мкг 1 р/нед. + 100 мг 48 нед.
Исчезновение из крови HBV ДНК*, %	37	17	40–44	16	21	0	67	60	25	69
Исчезновение из крови HBeAg, %	33	22	17–32	6–11	24	11	22	26	30/34**	27/28**
Сероконверсия HBeAg, %	Различис: 18		16–21	4–6	12	6	21	22	27/32**	24/27**
Исчезнове из крови HBsAg, %	7,8	1,8	<1	0	0	0	2	0	3	3
Нормализация уровня АЛТ, %	Различис: 23		41–75	7–24	48	16	68	77	39	46
Улучшение гистологической картины печени, %	Нет данных	Нет данных	49–56	23–25	53	25	72	65	38****	41****
Длительность ответа на терапию, %	80–90		50–80***		~90***		69***	~80	Нет данных	

Примечание: * гибридизация или branched chain DNA assay (нижний порог определения: 20 000–200 000 ME/мл или 5–6 lg копий/мл) в исследованиях стандартного ИНФ-α и некоторых исследованиях ламивудина, и ПЦР (нижний порог определения: около 50 ME/мл или 250 копий/мл) в других исследованиях; ** ответы через 48 нед. / 72 нед. (т.е. через 24 нед. после завершения терапии); *** ламивудин и энтекавир – отсутствие или короткая продолжительность консолидирующей терапии; адефовир и телбивудин – большинство пациентов получили консолидирующую терапию; **** биопсия печени после лечения проводилась на 72-й нед.

назначению этих групп препаратов связано с дополнительными иммуномодулирующими эффектами ИНФ. Для HBeAg-положительных пациентов подавление репликации вируса при применении имеющихся препаратов может быть стойким у 50–90% пациентов, если терапия была прекращена после достижения сероконверсии HBeAg. С другой стороны, у HBeAg-негативных пациентов рецидивы развиваются достаточно часто даже тогда, когда уровень HBV ДНК остается неопределяемым с помощью ПЦР более 1 года. Таким образом, целевой показатель, который мог бы использоваться в качестве критерия для прекращения терапии, пока не определен.

Резистентность к противовирусным препаратам

Основной проблемой при длительной терапии АН является появление мутаций, определяющих резистентность к противовирусным препаратам. Частота образования резистентных (мутантных) штаммов вируса зависит от уровня HBV ДНК в сыворотке крови, скорости подавления репликации вируса, длительности лечения и предшествующего применения АН [121]. Частота генотипической резистентности также варьирует в зависимости от чувствительности методов, используемых для выявления мутаций резистентности и изучаемой популяции пациентов. В табл. 7 представлены определения терминов, которые обычно используются при описании резистентности к противовирусным препаратам.

Среди АН, разрешенных для лечения гепатита В, ламивудин характеризуется самой высокой, а энтекавир самой низкой частотой лекарственной устойчивости у пациентов, ранее не получавших АН. Первым проявлением резистентности к противовирусным

препаратам является «вирусологический прорыв», которым считается увеличение на фоне лечения уровня HBV ДНК в сыворотке крови более чем на 1 lg (в 10 раз), по сравнению с наименьшим зарегистрированным уровнем у пациента с ранее достигнутым первичным вирусологическим ответом (рис. 2). До 30% случаев «вирусологического прорыва», наблюдаемых в клинических исследованиях, связаны с низкой приверженностью пациентов к противовирусной терапии (некомплаентностью). Таким образом, прежде чем определять генотипическую чувствительность, следует оценить комплаентность пациентов. Как правило, уровень HBV ДНК сначала бывает низким, потому что большинство резистентных штаммов характеризуются сниженной способностью к репликации, по сравнению с диким типом HBV [122]. Однако компенсирующие мутации, которые могут восстановить способность к репликации, часто возникают на фоне продолжающегося лечения, приводя к прогрессирующему увеличению уровня HBV ДНК, который может превысить уровень, зарегистрированный до начала лечения. Вирусологический прорыв обычно сопровождается биохимическим прорывом, которым считается повышение во время лечения уровня АЛТ у пациента с достигнутым первичным ответом. Появление мутаций резистентности может привести к исчезновению начального ответа на терапию, а в некоторых случаях к обострению гепатита и развитию печеночной недостаточности. Мутации резистентности могут обнаруживаться за несколько месяцев, а иногда и за несколько лет до биохимического прорыва. Таким образом, раннее выявление мутаций и соответствующее терапевтическое вмешательство могут предотвратить развитие обострений гепатита и печеночной недостаточности, что особенно важно у пациентов с иммуносупрессией и пациентов с циррозом печени. Другим возможным последствием появления мутаций резистентности является перекрестная резистентность с другими АН, что ограничивает выбор в последующем вариантов терапии. Недавно также были опубликованы сообщения о мутантных штаммах с множественной лекарственной устойчивостью, обнаруженных у пациентов, которые последовательно получали разные АН в виде монотерапии [123, 124].

Разумное использование АН у пациентов с ХГВ является самой эффективной профилактикой появления резистентных штаммов HBV. Таким образом, у пациентов с минимальными проявлениями заболевания, а также у пациентов с низкой вероятностью достижения стойкого ответа на терапию, не следует применять АН, особенно если возраст пациентов составляет <30 лет. По возможности следует

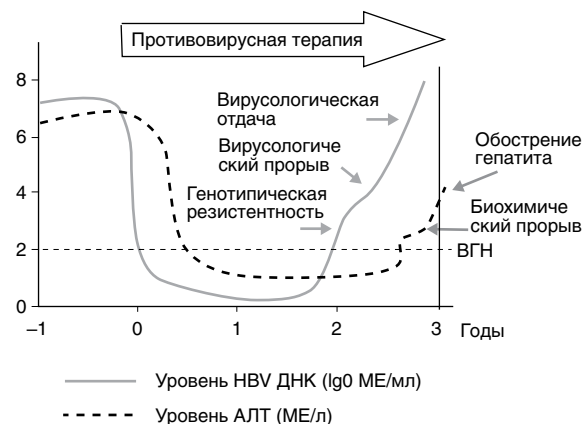


Рис. 2. Последовательные изменения уровней HBV ДНК и АЛТ в сыворотке крови, связанные с появлением мутантных штаммов HBV, резистентных к противовирусным препаратам.

Первым проявлением резистентности является обнаружение мутаций резистентности (генотипическая резистентность). Мутации резистентности могут обнаруживаться во время или до вирусологического прорыва (увеличение HBV ДНК в сыворотке крови более чем в 10 раз, по сравнению с наименьшим зарегистрированным уровнем). Со временем уровень HBV ДНК продолжает увеличиваться (вирусологическая отдача), и уровень АЛТ становится выше нормы (биохимический прорыв). У некоторых пациентов появление резистентных штаммов приводит к выраженному повышению уровня АЛТ (обострение гепатита).

назначать наиболее активный АН с самой низкой частотой развития генотипической резистентности, при этом проводить мероприятия, направленные на повышение комплаентности пациентов. Несмотря на то что применение комбинированной терапии у пациентов с ВИЧ-инфекцией предотвращает развитие резистентности к противовирусным препаратам, возможности применения подобного подхода у пациентов с HBV-инфекцией пока не определены.

Появившись один раз, мутантные штаммы HBV надолго сохраняются в вирусной популяции, даже после прекращения терапии. Так, например, в одном исследовании ламивудин-резистентные штаммы HBV обнаруживались ещё в течение 4 лет после отмены ламивудина [124].

Интерферон

Интерфероны (ИНФ) обладают противовирусным, противоопухолевым и иммуномодулирующим действием. Показано, что *интерферон альфа* (ИНФ-α) эффективно подавляет репликацию HBV и индуцирует ремиссию заболевания. Однако его эффективность ограничивается относительно небольшой долей пациентов, отобранных по строгим критериям.

Эффективность ИНФ у различных категорий пациентов

1. Пациенты с HBeAg-положительным ХГВ (табл. 8)

а. Постоянно или периодически повышенный уровень АЛТ. Данная ситуация часто наблюдается у пациентов с ХГВ. Метаанализ рандомизированных контролируемых исследований показал, что у пациентов, получавших ИНФ- α , вирусологический ответ достигался значительно чаще, чем у больных, не получавших лечение [125]. Наиболее важными предикторами ответа на терапию ИНФ- α являются: высокий уровень АЛТ до начала лечения ($>2 \times \text{ВГН}$) и низкий уровень HBV ДНК в сыворотке крови [126–128].

б. Нормальный уровень АЛТ. Данная ситуация наблюдается, как правило, у детей и лиц молодого возраста с HBV-инфекцией, приобретенной в перинатальный период. Сероконверсия HBeAg регистрируется менее чем у 10% этих пациентов [128–131].

с. Пациенты из стран Азии. В клинических исследованиях, включавших пациентов монголоидной расы с HBeAg-положительным ХГВ, было обнаружено, что пациенты с нормальным уровнем АЛТ имеют неудовлетворительный ответ на терапию [131], тогда как у пациентов с повышенным уровнем АЛТ ответ на терапию сходен с таковым у лиц европеоидной расы [128].

д. Дети. Эффективность ИНФ- α у детей сходна с таковой у взрослых [132–135]. Однако, у большинства детей, особенно у детей с HBV-инфекцией, приобретенной в перинатальный период, уровень АЛТ соответствует норме, а элиминация HBeAg наблюдается у $<10\%$ этих детей, получавших ИНФ- α [129, 130].

2. Пациенты с HBeAg-негативным ХГВ (табл. 9)

Согласно результатам 4 рандомизированных контролируемых исследований ИНФ- α ответ в конце терапии наблюдался у 38–90% пациентов, получавших лечение, по сравнению с 0–37% в контрольной группе [136–139]. Однако приблизительно у половины пациентов, ответивших на терапию, после ее завершения регистрируются рецидивы заболевания, которые могут возникать еще в течение 5 лет после завершения терапии [140]. В то же время более длительные курсы лечения (24 мес.), в отличие от 6–12 мес., могут повышать частоту достижения стойкого ответа [136, 141].

3. Пациенты, не отвечающие на терапию ИНФ- α

Во многих исследованиях показано, что частота ответа на терапию при проведении повторных курсов ИНФ- α у пациентов, ранее не ответивших на монотерапию ИНФ- α , остается очень низкой. Ограниченное количество данных свидетельствуют о том, что у 20–30% HBeAg-негативных пациентов с рецидивом заболевания или отсутствием ответа на предыдущее лечение ИНФ- α наблюдается стойкий ответ после 2-го курса терапии ИНФ- α [142].

4. Пациенты с декомпенсированным циррозом печени

Приблизительно у 20–40% пациентов с HBeAg-положительным ХГВ во время терапии ИНФ- α наблюдается выраженное повышение уровня АЛТ. У пациентов с циррозом печени цитолитический криз (обострение гепатита) может приводить к развитию печеночной недостаточности. В 2 исследованиях у пациентов с циррозом печени класса В и С (по индексу Child–Pugh), преимущества терапии ИНФ- α были минимальными. Более того, у пациентов развивались выраженные нежелательные реакции, обусловленные присоединением бактериальной инфекции и обострением патологического процесса в печени, даже при использовании низких доз ИНФ- α (3 млн МЕ/сут через день) [143, 144]. Тем не менее, в клинических исследованиях, включавших пациентов с HBeAg-положительным ХГВ и компенсированным (по клиническим и биохимическим показателям) циррозом, было обнаружено, что ответ на терапию был сравнимым с таковым у пациентов с предцирротическим состоянием, а печеночная недостаточность развилась менее чем у 1% пациентов [127, 128].

Длительность ответа на терапию и отдаленные исходы у пациентов, получающих ИНФ- α

Согласно результатам клинических исследований, длительное (в течение периода наблюдения от 4 до 8 лет) отсутствие HBeAg в крови после лечения ИНФ- α наблюдается у 80–90% пациентов [70, 74–76, 145–148]. Тем не менее, у большинства этих пациентов при использовании ПЦР уровень HBV ДНК в сыворотке крови по-прежнему определялся. В исследованиях, проведенных в Европе и США, была выявлена замедленная элиминация HbsAg, наблюдавшаяся у 12–65% пациентов в течение 5 лет с момента исчезновения из крови HBeAg. В то же время в исследованиях, проведенных в Китае, задержки элиминации HbsAg не наблюда-

Таблица 9. Частота ответов на противовирусную терапию у ранее не получавших лечение пациентов с HBeAg-негативным ХГВ

Показатель	Стандартный ИФ-α	Контроль	Ламивудин	Плацебо	Адефовир	Плацебо	Энтекавир	Телбивудин	ПегИФ-α	ПегИФ-α + ламивудин
	5 млн МЕ 1 р/сут или 10 млн МЕ 3 р/нед. 12–24 нед.	–	100 мг 1 р/сут 48–52 нед.	–	10 мг 1 р/сут 48 нед.	–	0,5 мг 1 р/сут 48 нед.	600 мг 1 р/сут 52 нед.	180 мкг 1 р/нед. 100 мг 48 нед.	180 мкг 1 р/нед. 100 мг 48 нед.
Исчезновение из крови HBeAg, ДНК*, %	60–70	10–20	60–73	Нет данных	51	0	90	80	63	87
Нормализация уровня АЛТ, %	60–70	10–20	60–79	Нет данных	72	29	78	74	38	49
Улучшение гистологической картины печени, %	Нет данных	Нет данных	60–66	Нет данных	64	33	70	67	48**	38**
Длительность ответа на терапию, %	10–20	<10	<10	~5	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Нет данных	~20	~20

Примечание: * гибридизация или branched chain DNA assay (нижний порог определения: 20 000–200 000 МЕ/мл или 5–6 log копий/мл) в исследованиях стандартного ИФ-α и некоторых исследованиях ламивудина, и ПЦР (нижний порог определения: около 50 МЕ/мл или 250 копий/мл) в других исследованиях; ** биопсия печени после лечения проводилась на 72-й неделе.

лось [70, 74–76, 145–148]. В настоящее время имеются результаты всего одного исследования, в котором сравнивались исходы заболевания у пациентов, получавших лечение, и пациентов контрольной группы. Согласно результатам 8-летнего наблюдения пациентов мужского пола ($n=101$), включенных в контролируемое исследование терапии ИФ-α, проведенного на Тайване, пациенты, получавшие лечение, имели более низкую частоту развития ГЦК (1,5% против 12%, $p=0,04$) и более высокую выживаемость (98% против 57%, $p=0,02$) [75]. Однако в другом исследовании, проведенном в Азии, не было выявлено отдаленных клинических преимуществ терапии ИФ-α [149], а в исследованиях, проведенных в Европе и Северной Америке, не было зарегистрировано снижения частоты развития ГЦК [74, 76]. В исследованиях, сравнивавших исходы заболевания у пациентов, ответивших на лечение, и пациентов с отсутствием ответа на терапию, была зарегистрирована более высокая общая выживаемость и выживаемость без развития печеночной недостаточности; наиболее отчетливым преимущество было у пациентов с циррозом [70, 74, 76, 150].

В отличие от HBeAg-позитивных пациентов, у HBeAg-негативных пациентов часто развиваются рецидивы заболевания после прекращения терапии ИФ-α, и частота стойкого ответа на терапию составляет всего 15–30%. Среди пациентов с длительным ответом на терапию приблизительно у 20% элиминация HBeAg наблюдалась после 5 лет наблюдения, при этом у них снижался риск прогрессирования до цирроза, риск развития ГЦК и риск летальных исходов, связанных с заболеванием печени [86, 140–142].

Режим дозирования

ИФ-α применяется в виде подкожных инъекций. Рекомендуемая доза для взрослых составляет 5 млн МЕ 1 раз в сутки или 10 млн МЕ 3 раза в неделю и 6 млн МЕ/м² 3 раза в неделю для детей (максимальная разовая доза 10 млн МЕ). Рекомендуемая продолжительность терапии для пациентов с HBeAg-позитивным ХГВ составляет 16–24 нед. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что длительность терапии у пациентов с HBeAg-негативным ХГВ должна составлять минимум 12 мес., и в одном исследовании показано, что лечение в течение 24 мес. может увеличивать частоту достижения стойкого ответа [141].

Пегилированный интерферон альфа (пегИФ-α)

Основными преимуществами пегИФ-α являются более удобный режим применения и более

стойкое подавление репликации вируса. Клинические исследования позволят говорить о том, что эффективность пегИНФ- α сходна или даже несколько лучше таковой стандартного ИНФ- α .

Эффективность у различных категорий пациентов

1. Пациенты с HBeAg-положительным ХГВ (см. табл. 8)

В одном исследовании 2-й фазы [151] у пациентов, получавших терапию пегИНФ- α , частота сероконверсии HBeAg была выше, по сравнению с пациентами, получавшими стандартный ИНФ- α . В позднее проведенном исследовании 3-й фазы 814 пациентов были рандомизированы в 1 из 3 групп лечения, которое они получали в течение 48 нед.: пегИНФ- α 2а в дозе 180 мкг 1 р/нед., пегИНФ- α 2а в дозе 180 мкг 1 р/нед. + ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут, ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут [52]. На момент завершения терапии подавление вирусной репликации было наиболее выраженным в группе пациентов, получавших комбинированную терапию. Несмотря на различия в степени подавления репликации вируса, частота сероконверсии HBeAg была сходной во всех 3 группах в конце курса терапии: 27, 24 и 20% соответственно, но при этом значительно выше в 2 группах, получавших пегИНФ- α при оценке ответа на терапию через 24 нед. после ее завершения: 32, 27 и 19% соответственно. Эти данные указывают на то, что монотерапия пегИНФ- α 2а превосходила монотерапию ламивудином с точки зрения индукции стойкой сероконверсии HBeAg, и была сравнима с комбинацией пегИНФ- α 2а + ламивудин.

Сходные результаты были получены в 2 исследованиях с применением пегИНФ- α 2b. Через 24 нед. после завершения лечения в одном исследовании была зарегистрирована идентичная частота сероконверсии HBeAg (29%) у пациентов, которые получали пегИНФ- α 2b с/без ламивудина [51], в то время как в другом исследовании была зарегистрирована более высокая частота сероконверсии HBeAg у пациентов, получавших комбинацию пегИНФ- α 2b + ламивудин, по сравнению с теми, кто получал монотерапию ламивудином (36% против 14%) [152].

2. Пациенты с HBeAg-негативным ХГВ (табл. 9)

В единственном опубликованном исследовании пегИНФ- α при HBeAg-негативном ХГВ 552 пациента были рандомизированы в 1 из 3 групп лечения, которое они получали в течение 48 нед.: пегИНФ-

α 2а в дозе 180 мкг 1 р/нед., пегИНФ- α 2а в дозе 180 мкг 1 р/нед. + ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут, ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут [153]. Подавление репликации вируса было наиболее выраженным в группе пациентов, получавших комбинированную терапию. Однако частота стойкого ответа (т.е. уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР, и нормальный уровень АЛТ через 72 нед.) была сравнима в группах, которые получали пегИНФ- α 2а в виде монотерапии или в комбинации с ламивудином, и превосходила таковую в группе, которая получала монотерапию ламивудином: 15, 16 и 6% соответственно.

Режим дозирования

ПегИНФ- α 2а является единственным пегилированным интерфероном, разрешенным для лечения ХГВ. Рекомендуемая доза составляет 180 мкг 1 раз в неделю в течение 48 нед. Однако, учитывая сходную частоту ответа на терапию при применении препарата в дозе 90 и 180 мкг, наблюдавшуюся в исследованиях 2-й фазы, а также сравнимую частоту ответа на терапию при 24-нед. и 48-нед. курсе лечения, зарегистрированную в исследованиях 2-й и 3-й фазы [52, 151], можно предположить, что у HBeAg-положительных пациентов может быть достаточно более низких доз и/или более короткой продолжительности лечения. Вопрос о том, будут ли более длительные курсы лечения (>48 нед.) обеспечивать у HBeAg-негативных пациентов более высокую частоту стойкого ответа на терапию, остается нерешенным.

Предикторы ответа на терапию стандартным ИНФ и пегИНФ- α

У HBeAg-положительных пациентов самым достоверным предиктором сероконверсии HBeAg при применении стандартного ИНФ и пегИНФ- α является уровень АЛТ до начала лечения. К другим предикторам относятся: высокий гистологический индекс активности, низкий уровень HBV ДНК и, согласно последним исследованиям, HBV-инфекция, вызванная генотипами А и В (по сравнению с генотипами С и D) [51, 127, 128]. У HBeAg-негативных пациентов достоверного предиктора стойкого ответа на терапию не существует.

Нежелательные явления

Стандартный ИНФ- α и пегИНФ- α обладают сходными нежелательными реакциями. Наиболее распространенной нежелательной реакцией является первичный гриппоподобный синдром: лихорадка, озноб, головная боль, недомогание и миалгия. К другим частым нежелательным реакциям отно-

сятся: повышенная утомляемость, анорексия, потеря массы тела и незначительное увеличение выпадения волос. ИНФ- α также обладает миелосупрессивным действием, однако выраженная нейтропения ($<1000/\text{мм}^3$) или тромбоцитопения ($<50\,000/\text{мм}^3$) наблюдаются довольно редко, за исключением пациентов, у которых количество клеток крови было снижено еще до начала лечения. Терапия ИНФ- α сопровождается выраженным повышением уровня АЛТ у 30–40% пациентов. Считается, что резкое повышение уровня АЛТ является индикатором благоприятного ответа на терапию, однако это явление может приводить к развитию печеночной недостаточности, особенно у пациентов с циррозом печени. Самой проблемной нежелательной реакцией ИНФ- α является эмоциональная лабильность: тревога, раздражительность, депрессия и даже суицидальные идеи. В исследованиях было показано, что ИНФ- α может индуцировать образование различных аутоантител. В большинстве случаев это не сопровождается какими-либо клиническими симптомами. Однако были зарегистрированы случаи гипертиреоза и гипотиреоза, требующие лечения. В редких случаях также наблюдались изменения в сетчатке и даже ухудшение зрения.

Ламивудин (Эпивир-НВВ, ЗТС)

Ламивудин представляет собой (–)энантиомер 2'-3'-дидезокси-3'-тиацитидина. Встраивание активного трифосфата (ЗТС ТР) в растущие цепи ДНК приводит к преждевременному завершению репликации и таким образом подавляет синтез НВВ ДНК.

Эффективность у различных категорий пациентов

Монотерапия ламивудином эффективно подавляет репликацию НВВ и уменьшает активность воспалительного процесса в печени. Частота сероконверсии НВеАг после 1 года лечения ламивудином сходна с таковой после 16-нед. курса терапии стандартным ИНФ- α , однако ниже, чем после 12-месячного курса терапии пегИНФ- α .

1. Пациенты с НВеАг-положительным ХГВ (см. табл. 8)

а. Постоянно или периодически повышенный уровень АЛТ. По результатам 3 клинических исследований, включавших в общей сложности 731 ранее нелеченного пациента, которые в течение 1 года получали ламивудин, частота сероконверсии НВеАг наблюдалась в 16–18% случаев, по сравнению с 4–6% в группе пациентов, не получавших лечение [154–156]. Улучшение гистологической

картины печени, которым считалось снижение оценки по шкале выраженности воспалительно-некротического процесса на ≥ 2 балла, наблюдалось у 49–56% пациентов, получавших лечение, и у 23–25% пациентов контрольной группы. Частота сероконверсии НВеАг увеличивалась по мере увеличения длительности терапии и составляла до 50% после 5 лет непрерывного лечения [157–160].

б. Нормальный уровень АЛТ. У пациентов с уровнем АЛТ до начала лечения $<2 \times \text{ВГН}$ частота сероконверсии НВеАг составляла $<10\%$ после 1 года лечения и $<19\%$ после 3 лет лечения [161, 162].

с. Пациенты из стран Азии. Характер ответа на терапию ламивудином у пациентов монголоидной расы сходен с таковым у представителей европеоидной расы [162].

д. Дети. В 52-недельном рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании сероконверсия НВеАг наблюдалась у 22% детей, получавших ламивудин, по сравнению с 13% детей в группе плацебо ($p=0,06$) [163]. Частота сероконверсии увеличивалась до 34% после 2 лет непрерывного лечения. Мутантные штаммы НВВ, резистентные к ламивудину, были выделены от 19, 49 и 64% детей, получавших препарат в течение 1, 2 и 3 лет соответственно [164]. Эти данные свидетельствуют о том, что ламивудин является безопасным и эффективным препаратом для лечения ХГВ у детей, однако польза его применения должна быть тщательно соотнесена с риском селекции резистентных штаммов вируса.

2. Пациенты с НВеАг-негативным ХГВ (см. табл. 9)

В клинических исследованиях показано, что ламивудин обладает преимуществами у пациентов с НВеАг-негативным ХГВ [165–169]. В нескольких исследованиях было установлено, что после 1 года лечения уровень НВВ ДНК становится неопределяемым с помощью ПЦР у 60–70% пациентов [167, 168, 170, 171]. Тем не менее, у подавляющего большинства пациентов ($\sim 90\%$) после прекращения терапии развиваются рецидивы заболевания [166]. Увеличение длительности лечения приводит к прогрессирующему снижению частоты ответа на терапию, что обусловлено селекцией ламивудинорезистентных штаммов. В одном исследовании, включавшем 201 пациента частота вирусологической ремиссии (уровень НВВ ДНК, не определяемый с помощью ПЦР), снижалась с 73% через 12 мес. до 34% через 48 мес. лечения, при этом частота биохимической ремиссии снижалась с 84 до 36% [172].

3. Пациенты, не отвечающие на терапию ИНФ- α

В одном многоцентровом исследовании у пациентов, ранее не ответивших на терапию ИНФ- α , частота сероконверсии HBeAg оказалась сходной во всех 3-х группах лечения: монотерапия ламивудином – 18%, комбинация ламивудин + ИНФ- α – 12%; плацебо – 13%. Данные результаты указывают на то, что ответ на ламивудин у пациентов, не ответивших на терапию ИНФ- α , сходен с таковым у пациентов, ранее не получавших лечение, а также на то, что у пациентов, не ответивших на терапию ИНФ- α , комбинация ИНФ- α + ламивудин не обладает какими-либо преимуществами по сравнению с монотерапией ламивудином [173].

4. Пациенты с мостовидным фиброзом и компенсированным циррозом

В двойном слепом рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании, включавшем 651 пациента монголоидной расы, которые были HBeAg-позитивными или имели уровень HBV ДНК $>10^5$ МЕ/мл ($>700\,000$ эквивалентов генома/мл), а также имели мостовидный фиброз или цирроз печени по данным биопсии, наблюдалось статистически значимое различие между пациентами, получавшими ламивудин, и пациентами группы плацебо по таким показателям, как общая частота прогрессирования заболевания (увеличение оценки по шкале Child–Pugh, развитие печеночной недостаточности или ГЦК) (7,8% против 17,7%; $p=0,001$) и частота развития ГЦК (3,9% против 7,4%; $p=0,047$) [77]. Клинические преимущества наблюдались главным образом у 51% пациентов, у которых не было зарегистрировано «прорывной» инфекции. Эти данные указывают на то, что противовирусная терапия может улучшать клинические исходы у пациентов с выраженным фиброзом и стойким подавлением репликации вируса.

5. Пациенты с декомпенсированным циррозом

Исследования ламивудина у пациентов с декомпенсированным циррозом печени показали, что препарат обладает хорошей переносимостью и может стабилизировать или улучшать функцию печени у них, тем самым устраняя или откладывая необходимость проведения трансплантации печени [174–177]. Однако в этих исследованиях было показано, что для реализации клинических преимуществ требуется 3–6 мес., а также, что ГЦК может развиваться даже у пациентов с клиническим улучшением. Таким образом, рекомендуется

своевременно начинать противовирусное лечение и проводить непрерывный контроль за ГЦК.

Длительность ответа на терапию

В эпидемиологическом исследовании, проведенном не в странах Азии, у 30 (77%) из 39 пациентов с сероконверсией HBeAg наблюдался длительный ответ на терапию в среднем через 37 мес. наблюдения (от 5 до 46 мес.), и у 8 (20%) пациентов наблюдалась сероконверсия HBsAg [178]. В клинических исследованиях, проведенных в Азии, зарегистрирована более низкая частота длительного ответа на терапию (50–60%), что отчасти может быть связано с меньшей продолжительностью лечения (в среднем 8–9 мес.) [179–180]. Обнаружено, что некоторые факторы способствуют более высокой длительности ламивудин-индуцированной сероконверсии HBeAg, включая более длительную консолидирующую терапию (продолжение лечения после сероконверсии HBeAg), молодой возраст, низкий уровень HBV ДНК на момент завершения терапии и HBV-инфекцию, вызванную генотипом В, а не С [179–183]. Несмотря на отсутствие надежных результатов прямого сравнения препаратов, считается, что длительность ламивудин-индуцированной сероконверсии HBeAg меньше, чем при применении ИНФ- α [184].

У HBeAg-негативных пациентов, получавших терапию ламивудином в течение 1 года, длительность подавления вирусной репликации составляет $<10\%$. В одном небольшом исследовании частота вирусологического ответа увеличивалась до 50% у пациентов, которые завершили 2-летний курс терапии, и у которых на протяжении всего 2-го года сохранялся уровень HBV ДНК, неопределяемый с помощью ПЦР [185].

Резистентность к ламивудину

Селекция ламивудинорезистентных штаммов является основной проблемой при лечении ламивудином. Наиболее распространенная мутация (YMDD) представляет собой замену метионина на участке тирозин-метионин-аспартат-аспартат, кодирующего ДНК-полимеразу HBV, на валин или изолейцин (rtM204V/I) [186, 187]. Эта мутация часто сопровождается заменой лейцина на метионин в вышерасположенном участке цепи (мутация L180M). Генотипическая резистентность может выявляться у 14–32% пациентов после 1 года лечения ламивудином [154–156] и повышаться по мере увеличения продолжительности лечения, составляя до 60–70% после 5 лет лечения [159, 160]. К факторам, связанным с повышением частоты резистентности к ламивудину, относятся: боль-

шая продолжительность терапии, высокий уровень HBV ДНК в сыворотке крови до начала лечения, а также высокая остаточная вирусная нагрузка после начала терапии [160, 188]. В одном исследовании частота резистентности к ламивудину была значительно выше у пациентов, уровень HBV ДНК в сыворотке крови у которых после 6 мес. лечения превышал 200 МЕ/мл (1000 копий/мл), по сравнению с пациентами, имеющими более низкий уровень HBV ДНК (63% против 13%) [188]. Клиническое течение HBV-инфекции, вызванной ламивудин-резистентными штаммами, очень вариабельно. В *in vitro* исследованиях показано, что мутация rtM204V/I снижает способность HBV к репликации, однако компенсирующие мутации, возникающие во время непрерывной терапии, могут восстановить это свойство вируса [122, 189]. Вирусологический прорыв обычно сопровождается биохимическим прорывом (увеличение уровня АЛТ после первичной нормализации) и у некоторых пациентов может приводить к обострению процесса в печени и в редких случаях – к развитию печеночной недостаточности и летальному исходу [190–192]. Также выявлено, что обострения гепатита, связанные с формированием резистентности к ламивудину, сопровождаются сероконверсией HBeAg, возможно, благодаря иммуноопосредованным механизмам [190]. Обострения гепатита также могут развиваться после отмены терапии, что обусловлено быстрым размножением вируса дикого типа, однако в 2 исследованиях, проведенных в Азии, частота развития обострений гепатита и печеночной недостаточности была сходной у пациентов, которые прекратили лечение ламивудин, и пациентов, которые продолжали получать ламивудин [193, 194].

Отдаленные исходы у пациентов, получающих ламивудин

Наблюдение за пациентами, получавшими непрерывное лечение ламивудин, показало, что частота стойкого вирусологического и биохимического ответов на терапию снижается со временем из-за селекции резистентных штаммов [160, 171, 172]. У пациентов со стойким вирусологическим ответом наблюдалось уменьшение выраженности воспалительно-некротического процесса, снижение степени фиброза, а также регрессирование цирроза печени [195]. Однако гистологическое улучшение нивелировалось у пациентов с «прорывной» инфекцией. В нескольких исследованиях у пациентов со стойким подавлением репликации вируса регистрировалась более низкая частота развития печеночной недостаточности, а также частота свя-

занных с заболеванием печени летальных исходов [172, 196].

Режим дозирования

Рекомендуемая доза ламивудина для взрослых с сохраненной функцией почек (клиренс креатинина >50 мл/мин) и отсутствием коинфекции ВИЧ составляет 100 мг внутрь 1 раз в сутки. Рекомендуемая доза для детей составляет 3 мг/кг/сут (максимальная – 100 мг/сут). У пациентов с почечной недостаточностью требуется снижение дозы (табл. 10).

Конечной целью лечения HBeAg-положительных пациентов является достижение сероконверсии HBeAg. Во время лечения тесты для оценки функции печени должны проводиться каждые 3 мес., а определение уровня HBV ДНК – каждые 3–6 мес. Определение в крови HBeAg и анти-HBe следует проводить в конце 1-го года лечения и затем каждые 3–6 мес. Терапия может быть прекращена у пациентов с подтвержденной сероконверсией HBeAg (исчезновение из крови HBeAg и появление анти-HBe, выявленное 2 раза с интервалом 1–3 мес.), которые завершили как минимум 6-мес. курс консолидирующей терапии после появления в крови анти-HBe. Предполагается, что длительность ответа после прекращения терапии будет составлять от 70 до 90%. Вирусологический рецидив и обострения гепатита могут развиваться после прекращения терапии ламивудин [197], включая пациентов, у которых произошла сероконверсия HBeAg, и могут наблюдаться до 1 года после прекращения лечения. В связи с этим все пациенты после завершения лечения должны находиться под тщательным наблюдением (каждые 1–3 мес. в течение первых 6 мес., и далее каждые 3–6 мес.). Возобновление терапии ламивудин обычно эффективно у пациентов, у которых не развилась резистентность к препарату. В качестве альтернативы можно рассмотреть вопрос о назначении новых препаратов с более низким риском селекции резистентных штаммов.

Терапию можно продолжать у пациентов, у которых не произошла сероконверсия HBeAg и отсутствуют признаки «прорывной» инфекции, поскольку сероконверсия HBeAg может быть достигнута при увеличении длительности лечения [157–159]. Однако преимущества продолжения терапии должны быть сопоставлены с риском появления резистентных штаммов. При наличии новых противовирусных препаратов с более низким риском развития резистентности можно рассмотреть вопрос о переводе на альтернативное лечение, особенно у пациентов, которые получали ламивудин более 2 лет.

Таблица 10. Коррекция дозы аналогов нуклеозидов/нуклеотидов (АН) для взрослых в зависимости от клиренса креатинина

Клиренс креатинина, мл/мин	Рекомендуемая доза	
Ламивудин		
≥50	100 мг ежедневно	
30–49	100 мг первая доза, затем 50 мг 1 р/сут	
15–29	35 мг первая доза, затем 25 мг 1 р/сут	
5–14	35 мг первая доза, затем 15 мг 1 р/сут	
<5	35 мг первая доза, затем 10 мг 1 р/сут	
Адефовир		
≥50	10 мг ежедневно	
20–49	10 мг через день	
10–19	10 мг через 2 дня	
Пациенты, находящиеся на гемодиализе	10 мг каждую неделю после диализа	
Энтекавир	<i>Ранее не получавшие АН</i>	<i>Рефрактерные/резистентные к ламивудину</i>
≥50	0,5 мг 1 р/сут	1 мг 1 р/сут
30–49	0,25 мг 1 р/сут	0,5 мг 1 р/сут
10–29	0,15 мг 1 р/сут	0,3 мг 1 р/сут
<10 или пациенты, находящиеся на гемодиализе*, или пациенты, находящиеся на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе	0,05 мг 1 р/сут	0,1 мг 1 р/сут
Телбивудин		
≥50	600 мг 1 р/сут	
30–49	400 мг 1 р/сут	
<30	200 мг 1 р/сут	
Пациенты, находящиеся на гемодиализе	200 мг 1 р/сут после диализа	

Примечание: * принимается после гемодиализа

У пациентов с «прорывной» инфекцией, по возможности, следует проводить определение генотипической резистентности. Подавляющее большинство пациентов с подтвержденной резистентностью к ламивудину должны получать т.н. «терапию спасения» противовирусными препаратами, которые эффективны против ламивудин-резистентных штаммов HBV. У меньшего количества пациентов можно рассмотреть вопрос о прекращении терапии, особенно у пациентов с нормальным уровнем АЛТ или незначительным воспалением и отсутствием или минимальным фиброзом на биопсии до начала лечения [193, 194]. Пациенты с уровнем АЛТ и уровнем HBV ДНК, которые остаются значительно ниже, чем значения до начала лечения, могут какое-то время продолжать получать поддерживающую терапию ламивудином, не прибегая к «терапии спасения». Однако при этом следует помнить, что на фоне продолжающегося лечения будут возникать компенсирующие мутации, которые в последующем могут приводить к вирусологической «отдаче» и, возможно, к обострениям гепатита.

Конечная цель лечения HBeAg-негативных пациентов с ХГВ остается неизвестной. Рецидивы заболевания после прекращения терапии могут развиваться даже у пациентов с постоянно неопределяемым с помощью ПЦР уровнем HBV ДНК.

Учитывая необходимость проведения длительной терапии, ламивудин не является оптимальным препаратом первой линии для лечения пациентов с HBeAg-негативным ХГВ.

Предикторы ответа на терапию

У HBeAg-позитивных пациентов наиболее достоверным предиктором ответа на терапию является уровень АЛТ в сыворотке крови до начала лечения. По результатам анализа объединенных данных 4 исследований, включавших 406 пациентов, которые получали ламивудин в течение 1 года, частота сероконверсии HBeAg составила 2, 9, 21 и 47% соответственно у пациентов со следующими уровнями АЛТ: нормальный, 1–2×ВГН, 2–5×ВГН, и >5×ВГН; частота сероконверсии у 196 пациентов из группы плацебо с соответствующими уровнями АЛТ составила 0, 5, 11 и 14% [162].

Нежелательные явления

В целом, ламивудин обладает очень хорошей переносимостью. В исследованиях у пациентов, получавших ламивудин, были зарегистрированы разные нежелательные явления, включая небольшое (в 2–3 раза) повышение уровня АЛТ, однако в контрольной группе эти явления возникали с такой же частотой [154–156].

Адефовира дипивоксил (bis-POM PMEA)

Адефовира дипивоксил представляет собой обладающее высокой биодоступностью при приеме внутрь пролекарство и является аналогом нуклеотида (аденозинмонофосфата). Препарат может ингибировать активность как обратной транскриптазы, так и ДНК-полимеразы, и встраиваться в HBV ДНК, что приводит к преждевременному обрыву цепи и прекращению репликации. *In vitro* эксперименты и клинические исследования показали, что адефовир эффективно подавляет репликацию как дикого типа вируса, так и ламивудин-резистентных штаммов HBV. Следует отметить, что данный препарат в РФ не зарегистрирован.

Эффективность у различных категорий пациентов

1. HBeAg-позитивные пациенты с ХГВ (см. табл. 8)

В одном клиническом исследовании 3-й фазы 515 пациентов были рандомизированы в 1 из 3 групп лечения, которое они получали в течение 48 нед.: адефовир в дозе 10 мг, адефовир в дозе 30 мг или плацебо. Гистологический ответ наблюдался у 25% из группы плацебо, по сравнению с 53 и 59% пациентов, которые получали адефовир в дозе 10 и 30 мг соответственно ($p < 0,001$; адефовир 10 или 30 мг в сравнении с плацебо) [198]. Соответствующая частота сероконверсии HBeAg составила 12 и 14% для пациентов, получавших адефовир в дозе 10 и 30 мг, по сравнению с 6% в группе плацебо ($p = 0,049$ и $p = 0,011$ соответственно). Уровень HBV ДНК в сыворотке крови снизился в среднем на 0,6, 3,5, и 4,8 lg копий/мл, а нормализация уровня АЛТ наблюдалась у 16, 48 и 55% пациентов, которые получали плацебо, адефовир в дозе 10 мг и адефовир в дозе 30 мг соответственно ($p < 0,001$; плацебо в сравнении с адефовиром в любой из 2 доз). Профиль переносимости препарата во всех 3 группах был сходным, однако у 8% пациентов, получавших адефовир в дозе 30 мг, отмечалась нефротоксичность (увеличение уровня сывороточного креатинина на $\geq 0,5$ мг/дл выше исходного значения, установленное при 2 измерениях подряд). Эти данные продемонстрировали, что 1-летний курс лечения адефовиром эффективен у пациентов с HBeAg-позитивным ХГВ, а также то, что доза 10 мг обладает более благоприятным соотношением «риск/преимущества». Суммарная частота сероконверсии HBeAg увеличивалась в течение второго и третьего года, однако

точное количество пациентов, у которых произошла сероконверсия HBeAg, осталось неизвестным.

В нескольких исследованиях у 20–50% пациентов, получающих адефовир в дозе 10 мг, зарегистрирована первичная неэффективность терапии, указывающая на то, что данная доза адефовира может быть недостаточной [123].

2. HBeAg-негативные пациенты с ХГВ (см. табл. 9)

В одном клиническом исследовании 3-й фазы 184 пациента были рандомизированы в соотношении 2:1 в 2 группы лечения: адефовир в дозе 10 мг или плацебо. На 48-й нед. частота ответов на терапию в группе адефовира была значимо выше, чем в группе плацебо: гистологический ответ 64% против 33% ($p < 0,001$); нормализация уровня АЛТ 72% против 29% ($p < 0,001$); и уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР, 51% против 0% ($p < 0,001$) [199]. Пациенты, которые в течение первого года получали адефовир, на 2-м году были рандомизированы в 2 группы: продолжение лечения адефовиром в дозе 10 мг или плацебо [200]. На 96-й нед. доля пациентов с неопределяемым уровнем HBV ДНК увеличилась до 71% в группе, которая продолжала получать адефовир, и уменьшилась до 8% в группе, где терапия была прекращена. Предварительные данные, полученные для 55 пациентов, которые завершили 4-летний курс лечения, и для 70 пациентов, которые завершили 5-летний курс лечения адефовиром, показали, что уровень HBV ДНК был неопределяемым у 65 и 67%, а нормализация уровня АЛТ наблюдалась у 70 и 69% пациентов в группах 4-летнего и 5-летнего лечения соответственно [201].

3. Дети

Клинические исследования адефовира у детей в настоящее время продолжаются.

4. Пациенты с декомпенсированным циррозом

Адефовир не изучался в качестве терапии первой линии у пациентов с декомпенсированным циррозом печени.

5. Пациенты с ламивудинорезистентным ХГВ

а. Пациенты с декомпенсированным циррозом и после трансплантации печени. В исследовании, включающем 128 пациентов с декомпенсированным циррозом печени и 196 пациентов с рецидивом гепатита В после трансплантации печени, добавление в терапию адефовира сопровождалось снижением

ем уровня HBV ДНК в сыворотке крови на 3–4 lg, которое сохранялось на протяжении всего курса терапии [202]. Среди пациентов, которые завершили 48-нед. курс лечения, уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР, наблюдался у 81% пациентов до трансплантации и 34% пациентов после трансплантации печени, а нормальный уровень АЛТ – у 76 и 49% пациентов соответственно. Улучшение оценки по шкале Child–Pugh зарегистрировано более чем у 90% пациентов до трансплантации, а 1-летняя выживаемость составила 84% для пациентов до трансплантации и 93% для пациентов после трансплантации печени. Результаты последующего наблюдения за 226 пациентами, ожидающими пересадки печени, показали, что подавление репликации вируса сохранялось у 65% пациентов после 96 нед. терапии и сопровождалось улучшением оценки как по шкале Child–Pugh, так и на модели терминальной стадии заболевания печени (MELD) [203].

б. Пациенты с компенсированным ХГВ.

В пилотном исследовании, включавшем пациентов с компенсированным ХГВ и резистентностью к ламивудину, не было обнаружено различий в уровне подавления репликации вируса или нормализации уровня АЛТ, между пациентами, которые получали комбинацию ламивудин + адефовир, и пациентами, получавшими монотерапию адефовиром [204]. В то же время у пациентов, которые прекратили прием ламивудина, наблюдалась более высокая вероятность выраженного повышения уровня АЛТ в течение первых 12 нед. монотерапии адефовиром. Кроме того, результаты недавно проведенных исследований показали, что переход на адефовир у пациентов с ламивудин-резистентным ХГВ сопровождается более высоким риском формирования резистентности к адефовиру, чем при добавлении адефовира к терапии ламивудином [123, 204].

с. Коинфекция ВИЧ/НВВ. Показано, что добавление адефовира к существующим режимам терапии ВИЧ, которые включали в себя ламивудин в дозе 150 мг 2 р/сут, эффективно снижает уровень HBV ДНК в сыворотке крови у пациентов с коинфекцией ВИЧ/НВВ, включая ламивудин-резистентный ХГВ [205].

Длительность ответа на терапию и отдаленные исходы у пациентов, получающих адефовир

Длительность сероконверсии HBeAg изучалась у 76 пациентов, которые получали адефовир в среднем 80 нед. (от 30 до 193 нед.) и затем после завершения терапии наблюдались в среднем в течение 52 нед. (от 5 до 125 нед.). Сероконверсия HBeAg

сохранялась у 69 пациентов (92%). Наблюдаемая высокая частота длительности адефовир-индуцированной сероконверсии HBeAg, возможно, связана с большой продолжительностью лечения (в среднем 80 нед.) и, что более важно, с длительной терапией уже после сероконверсии HBeAg (в среднем 41 нед.) [206].

Среди HBeAg-негативных пациентов подавление вирусной репликации сохранялось только у 8% пациентов, которые прекратили терапию адефовиром после 1-летнего курса [200]. У подавляющего большинства пациентов, продолжавших лечение до 5 лет, сохранялся достигнутый ранее ответ, однако после первого года лечения прирост частоты ответа на терапию был минимальным. Исчезновение из крови HBsAg наблюдалось у 5% пациентов после 4–5 лет непрерывного лечения [201]. Более того, длительная терапия сопровождалась уменьшением степени выраженности фиброза. Тем не менее, у 2% пациентов развилась ГЦК, указывая на то, что длительная противовирусная терапия не позволяет полностью предотвратить риск возникновения ГЦК.

Резистентность к адефовиру

Резистентность во время терапии адефовиром формируется медленнее, по сравнению с терапией ламивудином. Так, в исследованиях 3-й фазы после 1 года лечения не было обнаружено ни одной мутации, определяющей резистентность к адефовиру [207]. Однако описаны новые мутации, вызывающие резистентность к адефовиру (замена аспарагина на треонин [N236T] и аланина на валин или треонин [A181V/T]) [208, 209]. Согласно объединенным данным 5 исследований, включая 3 исследования с применением комбинации ламивудин + адефовир у пациентов с ламивудин-резистентным ХГВ, совокупная частота развития резистентности к адефовиру составила 15% к 192-й нед. [210]. В клиническом исследовании 3-й фазы совокупная вероятность развития генотипической резистентности к адефовиру у HBeAg-негативных пациентов за 1, 2, 3, 4 и 5 лет составила 0, 3, 11, 18 и 29% соответственно [201]. В последних исследованиях, проведенных с использованием более чувствительных методов, были обнаружены мутации резистентности к адефовиру после 1 года лечения и частота генотипической резистентности после 2 лет терапии, превышающая 20% [123, 211]. В этих исследованиях резистентность к адефовиру была выявлена преимущественно у пациентов с предшествующей резистентностью к ламивудину, которые были переведены на монотерапию адефовиром.

In vitro исследования показали, что адефовир-резистентные мутации снижают чувствительность

к этому препарату всего в 3–15 раз [208, 209]. Однако в клинических исследованиях было обнаружено, что при этом у пациентов могут наблюдаться вирусологическая отдача, обострения гепатита и даже развитие печеночной недостаточности [212]. Установленные факторы риска возникновения резистентности к адефовиру включают в себя субоптимальное подавление репликации вируса и последующую монотерапию [123, 211]. Последовательная терапия ламивудином и затем адефовиром также способствует селекции штаммов HBV, резистентных одновременно к обоим препаратам [212].

В *in vitro* экспериментах и клинических исследованиях выявлено, что адефовир-резистентные штаммы HBV сохраняют чувствительность к ламивудину и энтекавиру [209]. Однако у пациентов с предшествующей резистентностью к ламивудину, у которых сформировалась резистентность к адефовиру после перехода на монотерапию этим препаратом, повторно появлялись ламивудин-резистентные мутации вскоре после возобновления терапии ламивудином [212]. Описаны отдельные случаи, когда переход с адефовира на тенофовир приводил к уменьшению уровня HBV ДНК в сыворотке крови. Это, возможно, связано с более высокой дозой тенофовира (300 мг) по сравнению с дозой адефовира (10 мг). Результаты описания серии случаев показали, что у 2 пациентов с адефовир-резистентным ХГВ наблюдался ответ на терапию энтекавиром с уменьшением концентрации HBV ДНК до неопределяемого уровня [123].

Режим дозирования

Рекомендуемая доза адефовира для взрослых с сохраненной функцией почек (клиренс креатинина >50 мл/мин) составляет 10 мг внутрь 1 раз в сутки. У пациентов с почечной недостаточностью необходимо увеличивать интервал дозирования (см. табл. 10). В настоящее время адефовир не разрешен для применения у детей. Адефовир в дозе 10 мг не способен подавлять репликацию ВИЧ.

У пациентов с HBeAg-положительным ХГВ терапия может быть прекращена при наличии подтвержденной сероконверсии HBeAg и завершении дополнительной 6-мес. консолидирующей терапии. Терапию можно продолжать у пациентов без сероконверсии HBeAg, у которых при этом сохраняется подавление репликации вируса (неопределяемый уровень HBV ДНК).

У пациентов с HBeAg-негативным ХГВ для сохранения ответа на терапию требуется длительное лечение (>1 года) [200].

У большинства пациентов с ламивудин-рези-

стентным ХГВ, особенно у лиц с декомпенсированным циррозом или рецидивом гепатита В после трансплантации печени, необходимо проводить длительную терапию. В последнее время увеличивается количество данных, указывающих на то, что терапию ламивудином следует продолжать неопределенно долго после добавления адефовира, для того чтобы уменьшить риск развития резистентности к адефовиру.

Приблизительно у 30% пациентов, которые ранее не получали аналоги нуклеозидов (АН), наблюдается первичная неэффективность терапии адефовиром, которой считается снижение уровня HBV ДНК менее чем на 2 lg после 6 мес. терапии [213]. Для этих пациентов следует рассмотреть вопрос о применении альтернативных препаратов.

Предикторы ответа на терапию

Ретроспективный анализ данных, полученных в 2 клинических исследованиях 3-й фазы, показал, что у пациентов, получавших адефовир, снижение уровня HBV ДНК в сыворотке крови было сравнимым для всех 4 основных генотипов HBV (A–D) [214]. Ограниченное количество данных позволяет предположить, что HBeAg-положительные пациенты с высоким уровнем АЛТ до начала лечения имеют более высокую вероятность достижения сероконверсии HBeAg.

Нежелательные явления

Адефовир в дозе 10 мг хорошо переносится пациентами и имеет сходный с плацебо профиль побочных эффектов, установленный в клинических исследованиях 3-й фазы. Нефротоксичность была зарегистрирована у 3% пациентов с компенсированным ХГВ после 4–5 лет непрерывной терапии адефовиром, а также у 12% пациентов после трансплантации печени и у 28% пациентов с декомпенсированным циррозом в течение первого года лечения [201, 202]. Вопрос о том, связана ли более высокая частота нефротоксичности в последних двух группах пациентов с сопутствующим применением нефротоксичных препаратов, прогрессированием декомпенсированного цирроза (гепаторенальный синдром) или прямым действием адефовира на почки, остается нерешенным. Независимо от этого, у пациентов с медицинскими состояниями/заболеваниями, которые предрасполагают к развитию почечной недостаточности, а также у всех пациентов, получающих адефовир более 1 года, следует каждые 3 мес. определять уровень креатинина в сыворотке крови. Более частый контроль должен проводиться у пациентов с имеющейся почечной недостаточностью.

Энтекавир (Бараклюд®)

Энтекавир представляет собой карбоциклический аналог 2-дезоксигуанозина, который подавляет репликацию HBV на 3 различных этапах: прайминг ДНК-полимеразы HBV, обратная транскрипция (-)цепи HBV ДНК с прегеномной РНК и синтез (+)цепи HBV ДНК. В *in vitro* исследованиях показано, что энтекавир обладает более высокой активностью, чем ламивудин и адефовир, а также эффективен против ламивудинорезистентных штаммов HBV, хотя его активность в отношении этих штаммов ниже, чем в отношении дикого типа HBV [215].

Эффективность у различных категорий пациентов

1. HBeAg-положительные пациенты с ХГВ (см. табл. 8)

В клиническом исследовании 3-й фазы 715 пациентов с компенсированным ХГВ были рандомизированы в 1 из 2 групп лечения: энтекавир в дозе 0,5 мг 1 р/сут или ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут. На 48-й нед. в группе энтекавира, по сравнению с группой ламивудина, наблюдалась значительно более высокая частота гистологического (72% против 62%), вирусологического [уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР] (67% против 36%) и биохимического (68% против 60%) ответов. В то же время частота сероконверсии HBeAg в этих группах была сходной: 21% против 18% [216]. Среди пациентов, у которых наблюдалось подавление вирусной репликации, но которые при этом оставались HBeAg-положительными, продолжение лечения в течение 2-го года привело к сероконверсии HBeAg у 11% пациентов в группе энтекавира и 13% в группе ламивудина. Уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР, сохранялся у 81% против 39%, и нормализация уровня АЛТ произошла у 79% против 68% пациентов, которые продолжали терапию энтекавиром и ламивудином соответственно [217].

2. HBeAg-негативные пациенты с ХГВ (см. табл. 9)

В клиническом исследовании 3-й фазы 648 пациентов с компенсированным ХГВ были рандомизированы в 1 из 2 групп лечения: энтекавир в дозе 0,5 мг 1 р/сут или ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут. На 48-й нед. в группе энтекавира, по сравнению с группой ламивудина, наблюдалась значительно более высокая частота гистологического (70% против 61%), вирусологического (90% против 72%) и биохимического (78% против 71%) ответов [218].

3. Пациенты с декомпенсированным циррозом / рецидивом гепатита В после трансплантации печени

Исследования безопасности и эффективности энтекавира у пациентов с декомпенсированным циррозом печени в настоящее время продолжаются.

4. Пациенты с ламивудинорезистентным ХГВ

В клиническом исследовании 2-й фазы, которое проводилось с целью определения оптимальной дозы энтекавира, препарат эффективно подавлял репликацию ламивудинорезистентных штаммов HBV, но для этого потребовалась более высокая доза (1,0 мг) [219]. В позднее проведенном исследовании 286 HBeAg-положительных пациентов с сохраняющейся вирусемией на фоне лечения ламивудином, были рандомизированы в 1 из 2 групп лечения: энтекавир в дозе 1,0 мг 1 р/сут или ламивудин в дозе 100 мг 1 р/сут. На 48-й нед. в группе энтекавира, по сравнению с группой ламивудина, наблюдалась значительно более высокая частота гистологического (55% против 28%), вирусологического (21% против 1%) и биохимического (75% против 23%) ответов [220].

5. Пациенты с адефовирорезистентным ХГВ

In vitro исследования показали, что энтекавир эффективно подавляет репликацию адефовирорезистентных штаммов HBV [209]. В настоящее время имеется всего одно исследование, в котором показана эффективность энтекавира у пациентов с адефовирорезистентным ХГВ [123].

Длительность ответа на терапию

У HBeAg-положительных пациентов, у которых сероконверсия HBeAg произошла на первом году лечения, и которые прекратили терапию через 48 нед., приблизительно 70% пациентов оставались HBeAg-негативными [216, 217]. Консолидирующая терапия не была включена в клинические исследования 3-й фазы. Данные по длительности ответа на терапию у HBeAg-негативных пациентов отсутствуют, однако, скорее всего, в случае прекращения терапии после 1 года у большинства пациентов будут развиваться рецидивы заболевания.

Резистентность к энтекавиру

В 2 клинических исследованиях 3-й фазы вирусологический прорыв редко регистрировался у пациентов, ранее не получавших АН, и наблюдался всего у 3% пациентов в течение 96 нед. терапии энтекавиром. Мутации, определяющие резистентность одновременно к ламивудину и энтекавиру,

были обнаружены только у 2 (<1%) пациентов, тогда как мутации резистентности только к ламивудину были выявлены у 3 пациентов [221]. Тем не менее, в исследованиях 3-й фазы, включавших рефрактерных к ламивудину пациентов, вирусологический прорыв после 48 и 96 нед. лечения обнаруживался у 7 и 16% пациентов соответственно [220, 221]. Установлено, что резистентность к энтекавиру формируется в 2 этапа: на первом этапе возникает мутация M204V/I, после чего происходят следующие замены аминокислот: rtI169, rtT184, rtS202 или rtM250 [222]. *In vitro* эксперименты показали, что мутации в позициях 169, 184, 202 или 250 сами по себе оказывают минимальный эффект на чувствительность к энтекавиру. Однако чувствительность к энтекавиру снижается в 10–250 раз при сочетании одной из этих мутаций с мутациями резистентности к ламивудину и в >500 раз при сочетании 2 и более мутаций резистентности к энтекавиру с мутациями резистентности к ламивудину. Учитывая это, при переводе пациентов на энтекавир следует отменять терапию ламивудином, для того чтобы уменьшить риск развития резистентности к энтекавиру. *In vitro* исследования показали, что энтекавирорезистентные штаммы HBV остаются чувствительными к адефовиру, однако имеется очень мало клинических данных по эффективности адефовира у пациентов с энтекавирорезистентным ХГВ.

Режим дозирования

Одобренная доза энтекавира для пациентов, ранее не получавших АН, составляет 0,5 мг внутрь 1 раз в сутки, а для пациентов, резистентных/рефрактерных к ламивудину, 1,0 мг внутрь 1 раз в сутки. У пациентов с клиренсом креатинина <50 мл/мин следует проводить коррекцию дозы энтекавира (см. табл. 10).

Предикторы ответа на терапию

Энтекавир одинаково эффективно снижает уровень HBV ДНК в сыворотке крови и улучшает гистологическую картину в печени у представителей монголоидной и европеоидной расы, у пациентов с любыми генотипами HBV (A–D), а также у пациентов с различными уровнями HBV ДНК и АЛТ до начала лечения. Тем не менее, частота сероконверсии HBeAg была ниже у пациентов с нормальным уровнем АЛТ и составляла 12, 23 и 39% у пациентов с соответствующими уровнями АЛТ до начала лечения: <2×ВГН, 2–5×ВГН, и >5×ВГН [223].

Нежелательные явления

В клинических исследованиях энтекавир продемонстрировал профиль безопасности, сходный с

таковым ламивудина [216, 218]. В исследованиях на грызунах, которые получали дозы, в 3–40 раз превышающие дозы у человека, наблюдалось увеличение частоты развития аденом легкого, глиом головного мозга и ГЦК [224]. До настоящего времени различий в частоте развития ГЦК и других новообразований между пациентами, получавшими энтекавир, и пациентами, получавшими ламивудин, не обнаружено.

L-дезокситимидин (Телбивудин/LdT, Себиво®)

Телбивудин является аналогом нуклеозида (L-тимидина), который обладает высокой активностью в отношении HBV. Клинические исследования показали, что телбивудин более активно подавляет репликацию HBV, чем ламивудин [225–228]. Однако применение телбивудина сопровождается высокой частотой развития резистентности, а также перекрестной резистентностью к ламивудину. В связи с этим монотерапия телбивудином в настоящее время играет ограниченную роль в лечении ХГВ.

Эффективность у различных категорий пациентов

1. HBeAg-позитивные пациенты с ХГВ (см. табл. 8)

В клиническом исследовании 3-й фазы (n=921) значительно большее количество пациентов, которые получали телбивудин, имели уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР, по сравнению с пациентами, получавшими ламивудин: 60% против 40% и 54% против 38% после 1 и 2 лет терапии соответственно [227, 228]. В группе телбивудина также чаще наблюдалась нормализация уровня АЛТ, чем в группе ламивудина: 77% против 75% (различие незначимо) и 67% против 61% ($p<0,05$) после 1 и 2 лет терапии соответственно. Однако различий в частоте сероконверсии HBeAg в конце 1-го и 2-го года лечения между пациентами, получавшими телбивудин и ламивудин, обнаружено не было: 26% против 23% и 34% против 29% пациентов соответственно.

2. HBeAg-негативные пациенты с ХГВ (см. табл. 9)

В клиническом исследовании 3-й фазы, включавшем 446 HBeAg-негативных пациентов, доля пациентов, у которых уровень HBV ДНК не определялся с помощью ПЦР, была значительно выше в группе телбивудина, по сравнению с группой ламивудина: 88% против 71% и 79% против 53%,

после 1 и 2 лет терапии соответственно [227, 228]. Нормализация уровня АЛТ наблюдались в 74% против 79% случаев (незначимое различие) и в 75% против 67% случаев ($p < 0,05$) после 1 или 2 лет терапии телбивудином и ламивудином соответственно.

Резистентность к телбивудину

Развитие резистентности при применении телбивудина связано с мутациями в участке YMDD. До настоящего времени обнаружена только одна мутация резистентности к телбивудину – M204I (но не M204V) [225]. Несмотря на то что телбивудин характеризуется более низкой частотой развития резистентности, чем ламивудин, она все равно остается значительной и экспоненциально увеличивается после первого года терапии. В клиническом исследовании 3-й фазы генотипическая резистентность после 1 и 2 лет лечения наблюдалась у 4,4% и 21,6% HBeAg-положительных пациентов и у 2,7% и 8,6% HBeAg-негативных пациентов, получавших телбивудин, по сравнению с 9,1 и 35% HBeAg-положительных и 9,8 и 21,9% HBeAg-негативных пациентов, получавших ламивудин. Более низкая частота развития резистентности в группе ламивудина, по сравнению с предыдущими клиническими исследованиями ламивудина [160], возможно, связана с тем, что тестирование проводилось только у пациентов с вирусологическим прорывом, а также с тем, что для выявления мутаций резистентности использовался менее чувствительный метод (прямое секвенирование).

Режим дозирования

Одобренная доза телбивудина составляет 600 мг 1 раз в сутки. У пациентов с клиренсом креатинина < 50 мл/мин следует проводить коррекцию дозы (см. табл. 10).

Предикторы ответа на терапию

Предварительные данные позволяют предположить, что вирусологический ответ через 24 нед. лечения является наиболее важным предиктором вирусологического и биохимического ответов, а также частоты резистентности через 96 нед. [229]. Однако, даже среди пациентов, с уровнем HBV ДНК, не определяемым методом ПЦР на 24-й нед., резистентность к телбивудину через 96 нед. наблюдается у 4% пациентов.

Нежелательные явления

Телбивудин хорошо переносится пациентами и имеет профиль безопасности, сравнимый с таковым ламивудина [225].

Другие препараты

Эмтрицитабин (FTC)

Эмтрицитабин представляет собой мощный ингибитор репликации ВИЧ и HBV. Эмтрицитабин был одобрен для лечения ВИЧ-инфекции в виде препаратов Эмтрива® (содержит только FTC) и Трувада® (комбинация FTC и тенофовира в одной таблетке). Из-за структурного сходства с ламивудином (ЗТС) при применении FTC возникают такие же мутации резистентности, что и при применении ламивудина.

В одном исследовании, включавшем 248 пациентов (63% из них были HBeAg-положительными), которые получали эмтрицитабин в дозе 200 мг 1 р/сут, была зарегистрирована значительно более высокая частота гистологического (62% против 25%), вирусологического [уровень HBV ДНК, не определяемый с помощью ПЦР] (54% против 2%) и биохимического (65% против 25%) ответов на 48-й нед., по сравнению с группой плацебо, однако частота сероконверсии HBeAg в этих группах была одинаковой (по 12%) [230]. Мутации в участке YMDD, определяющие резистентность к FTC, были обнаружены у 13% пациентов.

Тенофовир

Тенофовира дизопроксил fumarate представляет собой аналог нуклеотида, который был одобрен для лечения ВИЧ-инфекции в виде препаратов Виреад® (содержит только тенофовир) и Трувада® (комбинация тенофовира и эмтрицитабина в одной таблетке). Тенофовир имеет структурное сходство с адефовиrom. *In vitro* исследования показали, что тенофовир и адефовир обладают эквивалентной активностью. Поскольку тенофовир является менее нефротоксичным препаратом, то одобренная доза его намного выше дозы адефовира: 300 мг/сут в сравнении с 10 мг/сут. Это может быть объяснением более высокой противовирусной активности тенофовира в клинических исследованиях.

Ретроспективный анализ исследований, проведенных у ВИЧ-инфицированных, в который была включена подгруппа пациентов с коинфекцией HBV, продемонстрировал, что тенофовир приводит к значимому снижению уровня HBV ДНК. В нескольких исследованиях, включая 1 проспективное рандомизированное исследование с участием 52 ВИЧ-инфицированных с коинфекцией HBV, тенофовир приводил к более выраженному снижению уровня HBV ДНК в сыворотке крови, чем адефовир [231–235]. Сходные результаты были получены у ВИЧ-негативных пациентов с ламиву-

динорезистентным ХГВ [235, 236]. Также описаны случаи «вирусологической отдачи» после перевода пациентов с вирусологическим ответом с тенофовира на адефовир и случаи дальнейшего снижения вирусной нагрузки после перевода пациентов с неадекватным подавлением репликации вируса с адефовира на тенофовир [237]. Тенофовир в целом хорошо переносится пациентами, однако при его применении зарегистрированы редкие случаи развития синдрома Фанкони и почечной недостаточности [238].

Клевудин (LFMAU, 2'-фтор-5-метил-β-L-арабинофуранозил урацил)

Клевудин представляет собой аналог нуклеозида (пиримидина), который эффективно подавляет репликацию HBV в *in vitro* экспериментах и на животных моделях. Клинические исследования показали, что клебудин в дозе 30 мг 1 р/сут в течение до 24 нед. хорошо переносится пациентами. Уровень HBV ДНК в сыворотке крови, не определяемый с помощью ПЦР, в конце курса терапии наблюдался у 59% HBeAg-положительных и 92% HBeAg-негативных пациентов [239, 240]. Уникальной особенностью клебудина является длительность подавления вирусной репликации, сохраняющаяся до 24 нед. после отмены терапии у некоторых пациентов [226]. Тем не менее, в исследованиях клебудин не увеличивал частоту сероконверсии HBeAg, по сравнению с плацебо, а результаты *in vitro* исследований позволяют предположить, что данный препарат может способствовать появлению мутаций в участке YMDD.

Тимозин

Пептиды, выделенные из тимуса, могут стимулировать функцию Т-клеток. Клинические исследования показали, что тимозин хорошо переносится пациентами, однако данные по его эффективности являются противоречивыми [241–245].

Комбинированная терапия

Доказано, что комбинированная терапия более эффективна, чем монотерапия, при лечении ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С (ХГС). Потенциальными преимуществами комбинированной терапии являются аддитивный или синергидный противовирусный эффект и снижение или задержка развития резистентности. К потенциальным недостаткам комбинированной терапии относятся более высокая стоимость, повышение токсичности и наличие лекарственных взаимодействий. В клинических исследованиях изуча-

лись различные комбинации противовирусных препаратов. До настоящего времени не доказано, что какой-либо из вариантов комбинированной терапии превосходит монотерапию и обеспечивает более высокую частоту стойкого ответа на терапию. Несмотря на то что некоторые комбинации препаратов снижают частоту развития резистентности к ламивудину, по сравнению с монотерапией ламивудином, однако пока отсутствуют данные, которые бы подтверждали, что комбинированная терапия будет снижать частоту резистентности к противовирусным препаратам, которые при применении их в виде монотерапии имеют низкий риск развития резистентности.

Стандартный ИНФ-α или пегИНФ-α + ламивудин

Пациенты, ранее не получавшие лечение

Проведено 5 крупных клинических исследований (1 с использованием стандартного ИНФ-α и 4 с использованием пегИНФ-α; 4 исследования у HBeAg-положительных пациентов и 1 исследование у HBeAg-негативных пациентов), в которых комбинация ИНФ-α + ламивудин сравнивалась с монотерапией ламивудином или монотерапией ИНФ-α [51, 52, 152, 153, 156]. Во всех исследованиях при применении комбинированной терапии наблюдались более выраженное подавление вирусной репликации во время лечения и более высокая частота стойкого ответа после завершения терапии, по сравнению с монотерапией ламивудином, однако при этом отсутствовали различия в частоте стойкого вирусологического ответа после завершения терапии по сравнению с монотерапией ИНФ-α. Несмотря на то что комбинированная терапия характеризовалась более низкой частотой резистентности к ламивудину по сравнению с монотерапией ламивудином, тем не менее при применении комбинации препаратов все-таки наблюдалась низкая частота резистентности к ламивудину, тогда как у пациентов, которые получали монотерапию ИНФ-α, данное явление отсутствовало.

Пациенты, не ответившие на терапию ИНФ-α

Комбинированная терапия стандартным ИНФ-α и ламивудином не обладает более высокой эффективностью, чем монотерапия ламивудином при повторном лечении пациентов, не отвечающих на терапию ИНФ-α [173].

Таблица 11. Сравнение лекарственных препаратов, разрешенных для лечения ХГВ

Характеристика препаратов	ИНФ- α	Ламивудин	Адефовир	Энтекавир	Телбивудин
Показания					
НВеAg(+), нормальный уровень АЛТ	Не показан	Не показан	Не показан	Не показан	Не показан
НВеAg(+) ХГВ	Показан	Показан**	Показан	Показан	Показан**
НВеAg(-) ХГВ	Показан	Показан**	Показан	Показан	Показан**
Длительность терапии					
НВеAg(+) ХГВ	4–12 мес.	≥1 года****	≥1 года****	≥1 года****	≥1 года****
НВеAg(-) ХГВ	1 год	>1 года	>1 года	>1 года	>1 года
Способ применения					
	Подкожно	Внутрь	Внутрь	Внутрь	Внутрь
Нежелательные реакции					
	Много	Незначительные	Потенциальная нефротоксичность	Незначительные	Незначительные
Резистентность к препарату					
	–	~20% за 1 год ~70% за 5 лет	Нет в 1-й год 29% за 5 лет	<1% за 2 года***	~25% за 2 года
Стоимость*					
	Высокая	Низкая	Средняя	Высокая	Средняя

Примечание: * в расчете на 1 год терапии; ** менее предпочтительный препарат из-за высокой частоты резистентности; *** резистентность к энтекавиру наблюдалась в течение первого года у пациентов с предшествующей резистентностью к ламивудину; **** лечение в течение как минимум 12 мес. и ещё в течение минимум 6 мес. после сероконверсии НВеAg.

Ламивудин + адефовир

Пациенты, ранее не получавшие АН

В одном клиническом исследовании 115 пациентов были рандомизированы в 2 группы лечения: ламивудин + адефовир и монотерапия ламивудином. На 52-й нед. различий между этими группами в таких показателях, как уровень НВV ДНК в сыворотке крови, нормализация уровня АЛТ или частота сероконверсии НВеAg, обнаружено не было [246]. Результаты оценки на 104-й нед. также были сравнимыми в этих двух группах. В группах, получавших комбинированную терапию или монотерапию ламивудином, уровень НВV ДНК не определялся с помощью ПЦР у 14 и 26% пациентов, нормализация уровня АЛТ наблюдалась у 41 и 47% пациентов, сероконверсия НВеAg произошла у 20% против 13% пациентов [247]. Хотя генотипическая резистентность менее часто регистрировалась в группе, получавшей комбинированную терапию, однако у значительной доли пациентов были выявлены мутации в участке YMDD (15% против 43% в группе монотерапии ламивудином). Эти данные указывают на то, что комбинация ламивудин + адефовир в качестве терапии первой линии не обладает аддитивным или синергидным эффектом, и резистентность к ламивудину не может быть полностью предотвращена.

Пациенты с ламивудинорезистентным ХГВ

В одном небольшом клиническом исследовании, включавшем пациентов с компенсированным ХГВ, комбинация адефовир + ламивудин не превосходила монотерапию адефовиром с точки зрения снижения уровня НВV ДНК в сыворотке крови [248]. Однако в переходном периоде в группе комбинированной терапии обострения гепатита регистрировались менее часто. Более того, недавно полученные данные позволяют предполагать, что продолжение терапии ламивудином может снижать частоту развития резистентности к адефовиру [123, 204]. Таким образом, все большее количество данных подтверждают, что у пациентов с ламивудинорезистентным ХГВ добавление адефовира в терапию является более адекватным, чем переход на монотерапию адефовиром.

Ламивудин + телбивудин

В одном исследовании, проведенной у НВеAg-положительных пациентов, ранее не получавших АН, было продемонстрировано, что комбинация ламивудин + телбивудин по всем параметрам ответа на терапию уступала монотерапии телбивудином [225].

Рекомендации по лечению хронического гепатита В (табл. 11 и 12)

Существующая на сегодняшний день терапия ХГВ не приводит к эрадикации НВV и имеет огра-

Таблица 12. Рекомендации по лечению хронического гепатита В

HBsAg	HBV ДНК (ПЦР)	АЛТ	Стратегия лечения
(+)	>20 000 МЕ/мл	≤2 × ВГН	Низкая эффективность существующих режимов терапии. Наблюдение. Начинать лечение при повышении уровня АЛТ. Провести биопсию печени у пациентов >40 лет при стойком повышении уровня АЛТ до 2×ВГН или при наличии семейного анамнеза ГЦК. Начинать лечение при уровне HBV ДНК >20000 МЕ/мл и наличии умеренного/выраженного воспаления или выраженного фиброза.
(+)	>20 000 МЕ/мл	>2 × ВГН	Наблюдение в течение 3-6 мес.; начинать лечение при отсутствии спонтанного исчезновения из крови HBsAg. При компенсированном ХГВ провести биопсию печени до начала лечения. Немедленно начинать лечение при появлении желтухи или клинической декомпенсации. В качестве стартовой терапии можно использовать ИНФ-α/пегИНФ-α, LAM, ADV, ETV или LdT. LAM и LdT являются менее предпочтительными из-за высокой частоты развития резистентности. Конечная цель лечения – сероконверсия HBsAg → анти-HBe. Продолжительность терапии: • ИНФ-α – 16 нед. • пегИНФ-α – 48 нед. • LAM/ADV/ETV/LdT – минимум 1 год и продолжать терапию в течение минимум 6 мес. после сероконверсии HBsAg. При отсутствии ответа на терапию ИНФ-α или наличии противопоказаний к ИНФ-α перейти на ADV/ETV.
(-)	>20000 МЕ/мл	>2 × ВГН	Конечная цель лечения – не определена. Продолжительность терапии: • ИНФ-α/пегИНФ-α – 1 год • LAM/ADV/ETV/LdT – >1 года При отсутствии ответа на терапию ИНФ-α или наличии противопоказаний к ИНФ-α перейти на ADV/ETV.
(-)	>2000 МЕ/мл	1–2 × ВГН	Провести биопсию печени и начинать лечение при наличии умеренного/выраженного воспаления или выраженного фиброза.
(-)	≤2000 МЕ/мл	В пределах нормы	Наблюдение. Начинать лечение при повышении уровня HBV ДНК или уровня АЛТ.
+/-	Определяемый	Цирроз печени	Компенсированный: • при HBV ДНК >2000 МЕ/мл – начать лечение. В качестве стартовой терапии можно использовать LAM, ADV, ETV или LdT. LAM и LdT являются менее предпочтительными из-за высокой частоты развития резистентности. • при HBV ДНК <2000 МЕ/мл – проводить лечение при повышении уровня АЛТ. Декомпенсированный: согласовать лечение с отделением трансплантологии; предпочтительными препаратами являются LAM (или LdT) + ADV или ETV. Направить на трансплантацию печени.
+/-	Неопределяемый	Цирроз печени	Компенсированный: наблюдение. Декомпенсированный: направить на трансплантацию печени.

Примечание: LAM – ламивудин; ADV – адефовир; ETV – энтекавир; LdT – телбивудин.

нищенную долгосрочную эффективность. В связи с этим перед тем, как начать лечение, следует тщательно оценить такие характеристики, как возраст пациента, тяжесть поражения печени, вероятность ответа на терапию и возможные нежелательные явления. Терапия показана при наличии у пациента высокого риска развития в ближайшем будущем (5–10 лет) осложнений и смерти, связанных с

поражением печени, а также при высокой вероятности достижения стойкого подавления репликации вируса (вирусологического ответа) во время непрерывного курса лечения. Терапия также показана при наличии у пациента высокого риска развития в обозримом будущем (10–20 лет) осложнений и смерти, связанных с поражением печени, а также высокой вероятности достижения стойкого подавления реп-

Таблица 13. Ведение пациентов с ХГВ, резистентным к противовирусным препаратам

Предотвращение резистентности:	
<ul style="list-style-type: none"> • избегать необоснованного лечения; • в качестве стартовой терапии использовать высокоактивный противовирусный препарат с низкой частотой развития резистентности или комбинацию препаратов; • пациентов с первичной неэффективностью терапии переводить на альтернативную терапию 	
Наблюдение:	
<ul style="list-style-type: none"> • определять уровень HBV ДНК в сыворотке крови (ПЦР) каждые 3-6 мес. во время лечения; • проверять комплаентность у пациентов с вирусологическим прорывом; • подтверждать наличие резистентности к применяемым противовирусным препаратам с помощью генотипирования 	
Лечение	
Резистентность к ламивудину	Добавить адефовир или тенофовир Отменить ламивудин, перейти на Трувада* Отменить ламивудин, перейти на энтекавир (наличие мутаций, определяющих резистентность к ламивудину, предрасполагает к формированию резистентности к энтекавиру)**
Резистентность к адефовиру	Добавить ламивудин** Отменить адефовир, перейти на Трувада* Перейти на энтекавир или добавить энтекавир*,**
Резистентность к энтекавиру	Перейти на адефовир/тенофовир или добавить адефовир/тенофовир*
Резистентность к телбивудину***	Добавить адефовир или тенофовир Отменить телбивудин, перейти на Трувада Отменить телбивудин, перейти на энтекавир (наличие мутаций, определяющих резистентность к телбивудину, предрасполагает к формированию резистентности к энтекавиру)

Примечание: трувада (эмтрицитабин 200 мг + тенофовир 300 мг в одной таблетке);

* у пациентов с коинфекцией ВИЧ; *in vivo* данные у пациентов без ВИЧ-инфекции ограничены;

** длительность подавления вирусной репликации неизвестна, особенно у пациентов с предшествующей резистентностью к ламивудину;

*** отсутствуют клинические данные.

ликации вируса (вирусологического ответа) после завершения определенного курса лечения. Лечение не показано при наличии у пациента низкого риска развития в ближайшие 20 лет осложнений и смерти, связанных с поражением печени, а также низкой вероятности достижения стойкого подавления репликации вируса после завершения определенного курса лечения. Учитывая вариабельность клинического течения хронической HBV-инфекции, риск развития осложнений и смерти, связанных с поражением печени, и вероятность достижения ответа на терапию могут варьировать по мере прогрессирования у пациента ХГВ. В связи с этим крайне важным для оценки риска является непрерывное наблюдение за пациентом.

При выборе противовирусного препарата первой линии следует учитывать безопасность и эффективность терапии, риск развития лекарственной резистентности, стоимость терапии (лечение, наблюдение, лабораторные тесты и визиты в клинику), а также предпочтения пациента и лечащего врача, для женщин – планы по созданию семьи и рождению детей. Все «за» и «против» для лекарственных препаратов, разрешенных для лечения ХГВ, пред-

ставлены в табл. 11. Несмотря на отсутствие значительных различий в эффективности, пегИНФ- α , скорее всего, заменит стандартный ИНФ- α , учитывая более удобный режим дозирования пегИНФ- α . Ввиду высокой частоты развития резистентности во время длительной терапии, ламивудин и телбивудин являются менее предпочтительными препаратами, за исключением случаев, когда планируется короткий курс терапии. Хотя тенофовир пока не одобрен для лечения ХГВ, появляющиеся данные свидетельствуют о том, что его профиль безопасности сходен с таковым адефовира, а активность в отношении дикого типа вируса, а также ламивудин-резистентных штаммов HBV, сравнима или даже превосходит таковую адефовира. Наконец, несмотря на то, что использование комбинаций препаратов кажется более логичным подходом к терапии, однако ни один из режимов комбинированной терапии, изученных до настоящего времени, не имеет явного превосходства перед монотерапией.

У пациентов, получающих терапию ИНФ- α , во время лечения должны проводиться анализы крови и тесты для оценки функции печени каждые 4 нед., определение уровня *тиреотропного гормона* (ТТГ)

и уровня HBV ДНК каждые 12 нед., а также определение HBeAg/анти-HBe у изначально HBeAg-позитивных пациентов каждые 24 нед. В течение первых 24 нед. после завершения терапии анализы крови, тесты для оценки функции печени, определение уровня ТТГ и уровня HBV ДНК, а также определение HBeAg/анти-HBe у изначально HBeAg-позитивных пациентов, должны проводиться каждые 12 нед.

У пациентов, получающих аналоги нуклеозидов, во время лечения должны проводиться тесты для оценки функции печени каждые 12 нед., определение уровня HBV ДНК каждые 12–24 нед., а также определение HBeAg/анти-HBe у изначально HBeAg-позитивных пациентов каждые 24 нед. Кроме того, у пациентов, получающих адефовир или тенофовир, следует каждые 12 нед. определять уровень сывороточного креатинина. Тест на HBsAg должен проводиться каждые 6–12 мес. у HBeAg-негативных пациентов с постоянно не определяемым с помощью ПЦР уровнем HBV ДНК в сыворотке крови.

Рекомендации по лечению ХГВ: показания для проведения терапии и выбор противовирусных препаратов (см. табл. 12):

15. Пациенты с HBeAg-позитивным ХГВ

а. Уровень АлАТ >2×ВГН или умеренное/выраженное воспаление по данным биопсии и уровень HBV ДНК >20 000 МЕ/мл. У этих пациентов следует рассмотреть вопрос о проведении терапии (I):

- терапию следует отложить на 3–6 мес. у лиц с компенсированным заболеванием печени для определения вероятности спонтанной сероконверсии HBeAg (II-2);
- у пациентов с выраженным повышением уровня АлАТ, сопровождающимся желтухой, следует незамедлительно начать терапию (III);
- в качестве стартовой терапии можно использовать любой из 6 зарегистрированных противовирусных препаратов, однако предпочтение следует отдавать пегИИФ- α , адефовиру или энтекавиру (I).

б. Постоянно нормальный или минимально повышенный (<2×ВГН) уровень АлАТ. Этим пациентам лечение, как правило, не показано (I):

- у пациентов с колебаниями или минимальным повышением уровня АлАТ, особенно у лиц в возрасте >40 лет, можно рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени (II-3);
- терапию можно начинать при наличии умеренного или выраженного воспаления или

выраженного фиброза по данным биопсии печени (I).

с. Дети с уровнем АлАТ >2×ВГН. У этих пациентов следует рассмотреть вопрос о проведении терапии при сохранении данного повышения уровня АлАТ в течение >6 мес. (I):

- в качестве стартовой терапии можно использовать ИИФ- α или ламивудин (I).

16. У пациентов с HBeAg-негативным ХГВ (уровень HBV ДНК >20 000 МЕ/мл и уровень АлАТ >2×ВГН) следует рассмотреть вопрос о проведении терапии (I):

- у HBeAg-негативных пациентов с низким уровнем HBV ДНК (2 000–20 000 МЕ/мл) и пограничным или минимально повышенным уровнем АлАТ следует рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени (II-2);
- терапию можно начинать при наличии умеренного/выраженного воспаления или выраженного фиброза по данным биопсии печени (I);
- в качестве стартовой терапии можно использовать любой из 6 зарегистрированных противовирусных препаратов, однако учитывая необходимость длительного лечения, предпочтение следует отдавать пегИИФ- α , адефовиру или энтекавиру (I – для пегИИФ- α , адефовира, энтекавира и телбивудина; II-1 для ИИФ- α и ламивудина).

17. У пациентов, не ответивших на предшествующую терапию стандартным или пегилированным ИИФ- α , может быть проведено повторное лечение с применением аналогов нуклеозидов (АН) при условии соответствия пациентов перечисленным выше критериям (I).

18. Пациенты с первичной неэффективностью терапии, о чем свидетельствует снижение уровня HBV ДНК менее чем на 2 log после 6 мес. терапии АН, должны быть переведены на альтернативные противовирусные препараты (III).

19. Пациенты с прорывной инфекцией на фоне терапии АН (см. табл. 13):

- следует оценить комплаентность и возобновить лечение у пациентов с длительными перерывами в лечении (III);
- по возможности следует провести подтверждающий тест на наличие мутаций, определяющих резистентность, для того чтобы дифференцировать первичную неэффективность терапии от прорывной инфекции и определить наличие штаммов с множественной лекарственной устойчиво-

- стью (у пациентов, которые ранее получили более одного АН) (III);
- у всех пациентов с вирусологическим прорывом следует рассмотреть вопрос о проведении «терапии спасения» (II-2);
 - у пациентов, не имевших четких показаний для проведения терапии ХГВ, у которых заболевание печени остается компенсированным, можно рассмотреть вопрос об отмене терапии, однако их следует тщательно наблюдать и возобновлять терапию при развитии у них тяжелых обострений гепатита (III).
20. Лечение пациентов с ламивудин/телбивудино-резистентным ХГВ:
- а. При использовании адефовира терапию ламивудином (или телбивудином) следует продолжать неопределенно долго, для того чтобы снизить риск развития обострений гепатита во время переходного периода и риск развития в последующем резистентности к адефовиру (II-3 для ламивудин-резистентного ХГВ; III для телбивудин-резистентного ХГВ).
 - б. При использовании энтекавира терапию ламивудином или телбивудином следует отменить, поскольку наличие мутаций, определяющих резистентность к ламивудину/телбивудину, будет увеличивать риск формирования резистентности к энтекавиру (II-3 для ламивудин-резистентного ХГВ; III для телбивудин-резистентного ХГВ).
21. Лечение пациентов с адефовир-резистентным ХГВ:
- а. У пациентов, ранее не получавших другие АН, в терапию можно добавить ламивудин или энтекавир (III).
 - б. У пациентов с предшествующей резистентностью к ламивудину, у которых ламивудин был отменен при переходе на адефовир, в терапию можно добавить ламивудин, однако при этом длительность ответа на терапию остается неизвестной и сохраняется вероятность повторного появления мутаций, определяющих резистентность к ламивудину (II-2).
22. Лечение пациентов с энтекавирорезистентным ХГВ:
- а. Можно применять адефовир, поскольку в *in vitro* исследованиях показана активность этого препарата в отношении энтекавир-резистентных штаммов HBV, однако клинические данные в настоящее время отсутствуют (II-3).
23. Пациенты с компенсированным циррозом: у пациентов с уровнем АЛТ $>2 \times$ ВГН, а также у пациентов с нормальным или минимально повышенным уровнем АЛТ и высоким уровнем HBV ДНК (>2000 МЕ/мл) следует рассмотреть вопрос о проведении терапии (II-2).
- а. У пациентов с компенсированным циррозом печени следует использовать АН, поскольку при применении ИНФ- α существует риск развития печеночной недостаточности, обусловленной обострениями гепатита. Учитывая необходимость длительной терапии, предпочтение следует отдавать адефовиру или энтекавиру (II-3).
24. Пациенты с декомпенсированным циррозом печени.
- Следует немедленно начать терапию АН, которые быстро подавляют вирусную репликацию и характеризуются низким риском развития резистентности (II-1):
- а. В качестве стартовой терапии можно использовать ламивудин или адефовир, предпочтительнее в комбинации, с целью снижения риска развития резистентности и быстрого подавления вирусной репликации (II-2). Ламивудин можно заменить телбивудином, однако в настоящее время отсутствуют клинические данные, подтверждающие его безопасность и эффективность у пациентов с декомпенсированным циррозом печени.
 - б. Энтекавир может рассматриваться в качестве адекватного препарата в такой ситуации, однако в настоящее время отсутствуют клинические данные, подтверждающие его безопасность и эффективность у пациентов с декомпенсированным циррозом печени (III).
 - в. Терапия должна быть согласована с отделением трансплантологии (III).
 - д. ИНФ- α /пегИНФ- α не должны использоваться у пациентов с декомпенсированным циррозом печени (II-3).
25. Пациентам, которые являются «неактивными носителями HBsAg», противовирусная терапия не показана, однако они должны находиться под медицинским наблюдением (см. рекомендацию №12) (II-2).
- ### Режимы дозирования
26. ИНФ- α и пегИНФ- α применяются в виде подкожных инъекций.
- а. Рекомендуемая доза стандартного ИНФ- α для взрослых составляет 5 млн МЕ 1 р/сут

- или 10 млн МЕ 3 р/нед. Рекомендуемая доза пегИНФ- α 2а составляет 180 мкг 1 р/нед. (I).
- b. Рекомендуемая доза ИНФ- α для детей составляет 6 млн. МЕ/м² 3 р/нед. (максимальная разовая доза: 10 млн. МЕ) (I). ПегИНФ- α не разрешен для лечения ХГВ у детей.
- c. Рекомендуемая длительность терапии при HBeAg-положительном ХГВ составляет 16 нед. для стандартного ИНФ- α и 48 нед. для пегИНФ- α (I).
- d. Рекомендуемая длительность терапии при HBeAg-отрицательном ХГВ составляет 48 нед., как для стандартного ИНФ- α , так и для пегИНФ- α (II-3).
27. Ламивудин применяется внутрь.
- a. Рекомендуемая доза ламивудина для взрослых с сохраненной функцией почек и без коинфекции ВИЧ составляет 100 мг 1 р/сут (I). У пациентов со скоростью клубочковой фильтрации <50 мл/мин необходимо проводить коррекцию дозы (см. табл. 10) (I).
- b. Рекомендуемая доза ламивудина для детей составляет 3 мг/кг в сутки (максимальная разовая доза: 100 мг/сут) (I).
- c. Рекомендуемая доза ламивудина для пациентов с коинфекцией ВИЧ составляет 150 мг 2 р/сут. Ламивудин должен использоваться только в комбинации с другими антиретровирусными препаратами (I).
28. Адефовир применяется внутрь.
- a. Рекомендуемая доза адефовира для взрослых с сохраненной функцией почек составляет 10 мг 1 р/сут. (I) У пациентов со скоростью клубочковой фильтрации <50 мл/мин необходимо проводить коррекцию дозы (см. табл. 10).
29. Энтекавир применяется внутрь.
- a. Рекомендуемая доза энтекавира для взрослых с сохраненной функцией почек составляет 0,5 мг 1 р/сут у пациентов, ранее не получавших ламивудин, и 1,0 мг 1 р/сут у пациентов, рефрактерных/резистентных к ламивудину (I). У пациентов со скоростью клубочковой фильтрации <50 мл/мин необходимо проводить коррекцию дозы (см. табл. 10).
30. Телбивудин применяется внутрь.
- a. Рекомендуемая доза телбивудина для взрослых с сохраненной функцией почек составляет 600 мг 1 р/сут. (I). У пациентов со скоростью клубочковой фильтрации <50 мл/мин необходимо проводить коррекцию дозы (см. табл. 10).
31. Длительность терапии аналогами нуклеозидов.
- a. HBeAg-положительный ХГВ – терапия должна продолжаться до тех пор, пока у пациента не произойдет сероконверсия HBeAg, и еще в течение минимум 6 мес. после появления в крови анти-HBe (I).
- После отмены терапии необходимо проводить тщательное наблюдение пациентов на предмет развития рецидивов (I).
- b. HBeAg-отрицательный ХГВ – терапия должна продолжаться до исчезновения HBsAg (I).
- c. Компенсированный цирроз печени – данные пациенты должны получать длительную терапию. Однако лечение может быть прекращено у HBeAg-положительных пациентов с подтвержденной сероконверсией HBeAg, которые получили минимум 6 мес. консолидирующей терапии, и у HBeAg-отрицательных пациентов при подтвержденном исчезновении у них HBsAg (II-3).
- В случае прекращения терапии обязательным является тщательное наблюдение пациентов на предмет развития вирусологического рецидива и обострения гепатита (II-3).
- d. Декомпенсированный цирроз печени и рецидив гепатита В после трансплантации печени – рекомендуется пожизненная терапия (II-3).

Особые категории пациентов

Коинфекция HBV/HCV

В настоящее время имеется крайне мало информации по лечению коинфекции HBV/HCV, поэтому дать какие-либо рекомендации по этому вопросу не представляется возможным [249–251]. В 2 исследованиях стандартного ИНФ- α и рибавирина не было выявлено различий в частоте стойкого вирусологического ответа HCV-инфекции на терапию между пациентами с коинфекцией HBV/HCV и пациентами, инфицированными только HCV. Тем не менее, зарегистрированы случаи вирусологической отдачи, т.е. повышение уровня HBV ДНК после его первичного снижения, а также возобновление репликации HBV у пациентов, у которых до лечения уровень HBV ДНК был неопределяемым.

Коинфекция HBV/HDV

Первичной целью лечения является подавление репликации HDV, которое обычно сопровождается нормализацией уровня АЛТ и уменьшением

активности воспалительно-некротического процесса по данным биопсии печени. Единственным препаратом, разрешенным для лечения *хронического гепатита D* (ХГД), является ИНФ- α . В одном клиническом исследовании у пациентов, получавших высокую дозу ИНФ- α (9 млн МЕ 3 р/нед.), наблюдалась более высокая частота вирусологического, биохимического и гистологического ответов на терапию, по сравнению с пациентами, которые получали ИНФ- α в дозе 3 млн МЕ 3 р/нед., и пациентами в группе плацебо [252]. Несмотря на то что у большинства пациентов, получавших высокую дозу ИНФ- α , в последующем наблюдались вирусологические рецидивы, улучшение гистологической картины печени сохранялось в течение 10 лет после завершения терапии [253]. Результаты 2 недавно проведенных исследований подтверждают эффективность применения пегИНФ- α при ХГД, при этом в одном исследовании было показано, что добавление рибавирина не улучшает ответ на терапию [254, 255].

В клинических исследованиях с участием небольшого количества пациентов установлено, что ламивудин не подавляет репликацию HDV [256].

Исходя из имеющихся данных, можно говорить о том, что применение ИНФ- α в высокой дозе (9 млн МЕ 3 р/нед.) или пегИНФ- α в течение 1 года обладает длительными преимуществами у пациентов с ХГД.

Коинфекция HBV/ВИЧ

При клинических исследованиях у пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ была зарегистрирована более низкая частота ответа на терапию стандартным ИНФ- α , чем у пациентов, инфицированных только HBV [257]. У пациентов, отвечающих на терапию, наблюдается более высокое среднее количество CD4-клеток, чем у пациентов с отсутствием первичного ответа. Предполагается, что пегИНФ- α будет обладать сходной или даже более высокой эффективностью, чем стандартный ИНФ- α .

Ламивудин, эмтрицитабин и тенофовир являются АН с активностью в отношении, как ВИЧ, так и HBV [234, 258, 259]. Однако у пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ наблюдается высокая частота формирования резистентности HBV к ламивудину, которая достигает 90% за 4 года [259]. Тенофовир в комбинации с ламивудином или эмтрицитабином широко назначаются в качестве компонента ВААРТ у пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ. Кроме того, тенофовир обладает активностью против ламивудин-резистентных штаммов HBV [233] и снижает частоту резистентности к ламивудину при применении его в комбинации [260].

Адефовир при применении в дозе, одобренной для лечения ХГВ (10 мг), обладает незначительной активностью в отношении ВИЧ. По результатам небольших исследований, до настоящего времени не было обнаружено резистентности ВИЧ к адефовиру при его применении длительностью до 144 нед. [261]. Энтекавир не обладает активностью в отношении ВИЧ. Телбивудин также не действует на ВИЧ, однако этот препарат не должен использоваться у пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ из-за риска селекции мутации M204I в участке YMDD.

Учитывая, что режимы антиретровирусной терапии могут включать в себя препараты с активностью в отношении HBV, выбор терапии ХГВ целесообразно основывать на том, проводится ли или запланирована терапия ВИЧ-инфекции. У HBeAg-положительных пациентов, которым не требуется ВААРТ, или которые хорошо контролируются на ВААРТ, не включающей препарат с активностью против HBV в качестве терапии первой линии, учитывая ограниченную длительность лечения, может рассматриваться пегИНФ- α , однако в такой ситуации также могут использоваться адефовир или энтекавир. Как правило, рекомендуется, чтобы у кандидатов на терапию ИНФ- α количество CD4 клеток составляло >500/мкл. Пациенты с более низким количеством CD4 клеток или HBeAg-негативные пациенты могут быть подходящими кандидатами на терапию адефовиром или энтекавиром. Наконец, у HBeAg-негативных пациентов, которым в будущем может потребоваться терапия ВИЧ-инфекции, следует рассмотреть возможность более раннего начала ВААРТ.

У пациентов, которым запланирована ВААРТ, лучше всего использовать режим, включающий в себя препарат(ы), активные против HBV. Большинство экспертов рекомендует использовать 2 препарата, в то время как другие эксперты считают, что у пациентов с низким уровнем HBV ДНК может быть достаточно и одного препарата. У пациентов с циррозом печени, которые недавно начали ВААРТ, предпочтительно использование 2 препаратов, учитывая риск развития клинически значимого обострения гепатита в условиях восстановления иммунной системы. В случае подтвержденной резистентности к ламивудину у пациентов, которые уже получают ВААРТ, предпочтительно добавление в терапию тенофовира или адефовира.

При прекращении терапии ХГВ, особенно при отсутствии сероконверсии HBeAg, могут развиваться обострения гепатита. В связи с этим при изменении режима ВААРТ не следует прекращать терапию препаратами, активными в отношении HBV, без замены их другим препаратом с активно-

стью против HBV, за исключением случаев, когда у пациента произошла сероконверсия HBeAg, и пациент завершил курс консолидирующей терапии адекватной длительности.

Рекомендации по лечению пациентов с коинфекцией HBV/ВИЧ:

32. Пациенты, соответствующие критериям ХГВ, должны получать соответствующую терапию (III).

- У пациентов с колебаниями или небольшим повышением уровня АЛТ (1–2×ВГН) следует рассмотреть вопрос о проведении биопсии печени (II-3).

33. Пациенты, которые не получают ВААРТ и которым не предполагается ее назначение в ближайшем будущем, должны получать противовирусные препараты, которые не действуют на ВИЧ, такие как пегИНФ- α , адефовир или энтекавир. Несмотря на то что телбивудин не действует на ВИЧ, он не должен применяться в данной ситуации (II-3).

34. Пациенты, у которых запланирована терапия и HBV, и ВИЧ-инфекции, должны получать препараты, активные в отношении обоих вирусов. Предпочтение следует отдавать комбинациям ламивудин + тенофовир или эмтрицитабин + тенофовир (II-3).

35. У пациентов, уже получающих эффективный режим ВААРТ, который не включает в себя препарат, активный против HBV, можно применять пегИНФ- α , адефовир или энтекавир (II-3).

36. У пациентов с резистентностью к ламивудину в терапию следует добавить тенофовир или адефовир (III).

37. При изменении режима ВААРТ не следует прекращать терапию препаратами, активными в отношении HBV, без замены их другим препаратом с активностью против HBV, за исключением случаев, когда у пациента произошла сероконверсия HBeAg, и пациент завершил курс консолидирующей терапии адекватной длительности (II-3).

Противовирусная профилактика у носителей HBV, получающих иммуносупрессивную или цитотоксическую терапию

Возобновление репликации HBV с увеличением уровня HBV ДНК и АЛТ наблюдается у 20–50% носителей HBV, получающих иммуносупрессивную или противоопухолевую химиотерапию. В большинстве случаев обострения гепатита протекают бессимптомно, однако в исследованиях зарегистрированы случаи обострения гепатита с

появлением желтухи и даже развитием печеночной недостаточности и летальных исходов [262–264]. Возобновление репликации HBV наиболее часто наблюдается при использовании режимов химиотерапии, включающих кортикостероиды [265]. Более того, имеются сообщения о реактивации гепатита у HBsAg-положительных пациентов, которые получали внутриартериальную химиоэмболизацию по поводу ГЦК и другие иммуносупрессивные препараты, такие как ритуксимаб для лечения лимфомы, а также инфликсимаб и другие антагонисты фактора некроза опухоли (ФНО) по поводу ревматоидного артрита или воспалительных заболеваний кишечника [264, 266, 267]. В клинических исследованиях, включая 1 контролируемое исследование, показано, что профилактическая терапия ламивудином может уменьшать частоту реактивации HBV, тяжесть сопутствующих обострений гепатита и смертность [264, 268–271]. До начала химиотерапии или иммуносупрессивной терапии у лиц с высоким риском инфицирования HBV должно проводиться тестирование на HBsAg (см. табл. 2). Профилактическая противовирусная терапия должна назначаться носителям HBV в начале курса противоопухолевой химиотерапии или курса иммуносупрессивной терапии ограниченной длительности и продолжаться в течение как минимум 6 мес. после его завершения. В одном исследовании были зарегистрированы случаи вирусологического рецидива после отмены терапии ламивудином у пациентов с высоким уровнем HBV ДНК до начала химиотерапии [272]. HBsAg-положительные лица с уровнем HBV ДНК >2000 МЕ/мл до начала химиотерапии должны продолжать противовирусную терапию до тех пор, пока не будут достигнуты целевые показатели, используемые при лечении ХГВ.

В одном небольшом исследовании у большинства HBsAg-положительных пациентов после трансплантации почек наблюдалось повышение уровня HBV ДНК в сыворотке крови, которое потребовало назначения терапии ламивудином [271]. В проведенных до настоящего времени исследованиях акцент делался на изучении ламивудина. Однако в качестве альтернативных препаратов можно использовать адефовир или энтекавир, особенно у пациентов, которым предполагается проведение курса терапии длительностью >12 мес., при котором имеется более высокий риск развития резистентности к ламивудину. В целом, предпочтение следует отдавать ламивудину и энтекавиру, учитывая их быстрое начало действия и отсутствие нефротоксичности. ИНФ- α не должен использоваться в данной ситуации из-за наличия у него миелосупрессивного эффекта и риска развития обострений гепатита.

Реактивация HBV может наблюдаться у HBsAg-негативных пациентов, но с наличием в крови анти-HBc и анти-HBs, а также пациентов, у которых в крови обнаруживаются только анти-HBc, однако представляет собой редкое явление, поэтому имеющейся в настоящее время информации недостаточно для того, чтобы рекомендовать рутинную профилактику у таких пациентов [262, 264].

Рекомендации по лечению носителей HBV, которым требуется иммуносупрессивная или цитотоксическая терапия:

38. У пациентов с высоким риском инфицирования HBV (см. рекомендацию №1) до начала химиотерапии или иммуносупрессивной терапии должно проводиться тестирование на HBsAg (II-3).
39. Профилактическая противовирусная терапия должна назначаться носителям HBV в начале курса противоопухолевой химиотерапии или курса иммуносупрессивной терапии ограниченной длительности.
 - a. Пациенты с исходным уровнем HBV ДНК <2000 МЕ/мл должны продолжать терапию в течение минимум 6 мес. после завершения химиотерапии или иммуносупрессивной терапии (III).
 - b. Пациенты с высоким исходным уровнем HBV ДНК (>2000 МЕ/мл) должны продолжать терапию до тех пор, пока не будут достигнуты целевые показатели, используемые при лечении ХГВ у пациентов с нормальной функцией иммунной системы (III).
 - c. Можно использовать ламивудин или телбивудин, если предполагаемая длительность терапии составляет <12 мес. (I для ламивудина; III для телбивудина).
 - d. Предпочтение следует отдавать адефовиру или энтекавиру, если предполагаемая длительность терапии составляет >12 мес. Энтекавир характеризуется более быстрым началом действия, чем адефовир, и, возможно, является более подходящим препаратом в данной ситуации (III).
 - e. Следует избегать применения ИНФ- α , учитывая наличие у этого препарата миелосупрессивного эффекта (II-3).

Клинически манифестный острый гепатит В (ОГВ)

В общем, противовирусная терапия не требуется при клинически манифестном ОГВ, поскольку у >95% взрослых с ОГВ и нормальной функцией иммунной системы наступает спонтанное выздо-

рование. Данные, полученные при описании небольших серий случаев с/без сравнения с пациентами, не получавшими лечение (исторический контроль), показали, что ламивудин увеличивает выживаемость пациентов с тяжелым или фульминантным гепатитом В [273, 274]. В одном проспективном рандомизированном контролируемом исследовании ИНФ- α противовирусная терапия не снижала частоту прогрессирования ОГВ в ХГВ, потому что у всех исследованных пациентов наблюдалось выздоровление [275].

Несмотря на отсутствие адекватно спланированных исследований, можно утверждать, что у всех пациентов с фульминантным гепатитом В следует проводить терапию аналогами нуклеозидов, учитывая их безопасность, а также тот факт, что многим из этих пациентов в конечном итоге потребуется трансплантация печени. На конференции НИИ по HBV-инфекции (2006 г.) также было предложено проводить противовирусную терапию у пациентов с затяжным и тяжелым течением ОГВ (увеличение МНО и выраженная желтуха, сохраняющаяся >4 нед.) [4]. Обоснованными препаратами выбора могут быть ламивудин или телбивудин, учитывая их безопасность и скорость действия, а также предполагаемую небольшую продолжительность терапии, за исключением пациентов, которым будет проводиться трансплантация печени. Также можно использовать энтекавир. Адефовир не может считаться оптимальным выбором из-за его медленно-го действия и потенциальной нефротоксичности. ИНФ- α противопоказан из-за наличия риска ухудшения течения гепатита и частых нежелательных явлений при его применении.

Рекомендации по лечению пациентов с клинически манифестным ОГВ

40. Терапия показана только пациентам с фульминантным гепатитом В, а также пациентам с затяжным и тяжелым течением ОГВ (III).
41. Предпочтение следует отдавать ламивудину, телбивудину или энтекавиру (II-3).
 - a. Терапия должна продолжаться до подтверждения исчезновения из крови HBsAg или неопределенно долго у пациентов, которым планируется трансплантация печени (II-1).
 - b. Применение ИНФ- α противопоказано (III).

Список литературы размещен на сайте:
www.m-vesti.ru/kmax/km4-07.html

Комментарий

Предложенные вниманию читателей рекомендации *Американской ассоциации по изучению болезней печени (AASLD)* представляют собой на сегодняшний день наиболее подробное руководство для клиницистов по диагностике и лечению гепатита В. Следует констатировать, что в последнее десятилетие в изучении этого весьма распространенного заболевания достигнут значительный прогресс, обусловленный в первую очередь широким внедрением вакцинации. В лечении хронической HBV-инфекции успехи скромнее, хотя введение в терапевтический арсенал пегинтерферонов и аналогов нуклеозидов существенно улучшило прогноз многих пациентов. Вместе с тем, полная элиминация вируса гепатита В (впрочем, как и других ДНК-вирусов) при хроническом инфицировании наблюдается редко и далеко не всегда обусловлена проводимым лечением. Поэтому задачи противовирусной терапии состоят в подавлении репликации вируса, нормализации биохимических параметров и улучшении гистологической картины печени, а в перспективе – в профилактике развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы.

При ознакомлении с рекомендациями AASLD необходимо обратить внимание на следующие факты.

1. На большей территории России доминирует HBV с генотипом D, характеризующийся высокой частотой мутаций в пресеге- и сеге-регионе генома, что проявляется, по сравнению с другими генотипами: а) доминированием HBeAg-негативных штаммов вируса; б) более низкой сывороточной концентрацией HBV ДНК; в) нередким волнообразным течением болезни. Следует учитывать, что HBe-негативный хронический гепатит В может быть поздней стадией HBV-инфекции, а следовательно, чаще сопровождается более выраженным поражением печени.

2. Для оценки биохимической активности гепатита предложены новые нормы АЛТ: 30 МЕ для мужчин и 19 МЕ для женщин. Это основано на исследованиях по корреляции биохимических и

гистологических изменений при хроническом гепатите В.

3. Наряду с традиционными факторами определения прогноза хронического гепатита В важная роль отводится количественному содержанию HBV ДНК в сыворотке – вирусной нагрузке. Этот показатель коррелирует с вероятностью развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы, в том числе у HBe-негативных пациентов с постоянно нормальной активностью АЛТ.

4. Лечение интерфероном- α может быть рекомендовано «идеальному» пациенту: с коротким анамнезом болезни, отсутствием сопутствующих заболеваний, низкой вирусной нагрузкой, высокой активностью АЛТ, без выраженного фиброза. В России таких больных немного, учитывая доминирование вирусного генотипа D и ряд медико-социальных факторов. Однако назначение интерферона- α позволяет провести фиксированный по времени курс противовирусной терапии и, в случае достижения вирусологического ответа, рассчитывать на его сохранение на протяжении многих лет. Предпочтение целесообразно отдавать пегинтерферону- α ввиду удобства применения и большей эффективности.

5. Из аналогов нуклеозидов в России зарегистрированы ламивудин, энтекавир и телбивудин. При выборе препарата надо учитывать как эффективность, так и порог формирования резистентности к нему вируса, который по имеющимся на сегодняшний день данным наиболее высок у энтекавира.

В заключение считаю необходимым отметить, что вирусные инфекции должны лечиться противовирусными средствами, точно так же как бактериальные инфекции – антибактериальными препаратами. Замена этиотропного лечения суррогатными средствами недопустима. Настоящие рекомендации окажут практикующему врачу существенное подспорье как в определении показаний к терапии, так и в выборе оптимального препарата для конкретного пациента.

А. Буеверов,

старший научный сотрудник клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии ММА им. И.М. Сеченова, эксперт Минздравсоцразвития России.

УДК 616.24-002-036.1

Сравнительный анализ информационной значимости шкал для оценки тяжести состояния больных с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ

В.А. Руднов¹, А.А. Фесенко², А.В. Дрозд²¹ Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург² Медицинское объединение «Новая больница», Екатеринбург, Россия

На основании анализа 300 историй болезни пациентов с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ, выполнена валидация шкал APACHE-II, SOFA, CURB-65, CRB-65, PORT и SMRT-CO. Оценку информационной значимости шкал при прогнозировании исхода определяли с помощью метода ROC-анализа (*Receiver Operating Characteristic analysis*), с построением характеристических кривых зависимости чувствительности от вероятности ложноположительных результатов и измерением площади под ней. Установлено, что специализированные шкалы количественной оценки тяжести (PORT, CURB-

65, CRB-65 и SMRT-CO) и шкала оценки тяжести органной дисфункции (SOFA) обладают сравнимой информационной значимостью в определении популяционного прогноза при тяжелой внебольничной пневмонии. Рассчитанные количественные значения шкал могут играть только вспомогательную роль при определении показаний для госпитализации в ОРИТ. Принятие решения должно быть основано на клинической оценке пациента и на конкретных возможностях лечебного учреждения.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, шкалы оценки степени тяжести.

Comparative Predictive Value of the Severity Assessment Tools in ICU Patients with Community-Acquired Pneumonia

V.A. Rudnov¹, A.A. Fesenko², A.V. Drozd²¹ Ural State Medical Academy, Ekaterinburg, Russia² Medical Center "New Hospital", Ekaterinburg, Russia

Validation of the following assessment tools (APACHE-II, SOFA, CURB-65, CRB-65, PORT, SMRT-CO) was performed based on data obtained from 300 ICU patients with community-acquired pneumonia (CAP). Predictive value of the scores was determined using ROC-analysis (Receiver Operating Characteristic analysis). "Sensitivity-probability of false-negative results" curves were constructed, and areas under the curve (AUC) were also

calculated. Analysis showed that specific severity assessment scores, such as PORT, CURB-65, CRB-65 and SMRT-CO, and Sepsis-related Organ Failure Assessment score (SOFA) had comparable predictive value in patients with severe CAP. The calculated scores might play only an auxiliary role in predicting need for ICU admission. Therefore, decisions should be made based on clinical judgment and taking into account the settings in the given institution.

Key words: community-acquired pneumonia, CAP, severity assessment scores.

Контактный адрес:

Владимир Александрович Руднов

Эл. почта: vrudnov@newhospital.ru

Введение

Попытки разделения больных по тяжести состояния предпринимаются достаточно давно. Одной из первых наиболее удачно решила эту задачу V. Argar. Ее классификация степени тяжести асфиксии новорожденных стала классической и получила всемирное распространение. В последнюю четверть прошлого века в связи с постоянным ростом стоимости медицинской помощи и желанием ее оптимизации наблюдалась отчетливая тенденция в разработке шкал количественной оценки тяжести состояния во многих медицинских специальностях.

В зависимости от целевой популяции шкалы оценки тяжести принято подразделять на общие (APACHE-I-III, SAPS-I-II) и специализированные, предназначенные для какой-либо конкретной нозологии или патологического процесса (Sepsis-score, Injury Severity Score и др.) [1–2].

Начиная с 1997 года стали появляться специализированные шкалы, количественно стратифицирующие по тяжести и прогнозу пациентов с *внебольничной пневмонией* (ВП). Наибольшую популярность среди них приобрели шкалы PORT, CURB-65, CRB-65 [3–4]. К сожалению, до настоящего времени эти шкалы не валидированы с позиций объективизации показаний для госпитализации в *отделения реанимации и интенсивной терапии* (ОРИТ). Между тем, отложенная по времени адекватная интенсивная терапия сопровождается ростом летальности и материальных затрат [5].

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка информационной значимости специализированных шкал и шкал оценки тяжести состояния у пациентов с ВП с позиций предсказания исхода и аргументации показаний для лечения в ОРИТ.

Материал и методы исследования

В основу работы положены проспективный и ретроспективный анализы 300 историй болезни пациентов, госпитализированных ОРИТ 6 крупных ЛПУ Екатеринбурга в период с 01.2005 по 09.2007 гг.

В специально разработанный электронный вариант *индивидуальной регистрационной карты* (ИРК) заносились данные из историй болезни, включающие клинично-лабораторные характеристики, входящие в системы количественной оценки тяжести состояния. В исследование включались пациенты, имевшие весь набор необходимых параметров. У каждого из 300 больных с ВП при поступлении в ОРИТ определялся индекс тяжести по следующим шкалам:

- APACHE-II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation)[1];
- SOFA (Sepsis Organ Failure Assessment) [2];
- CURB-65 (Confusion, Urea, Respiratory rate, Blood) [4, 6];
- CRB-65 (Confusion, Respiratory rate, Blood) [4, 6];
- PORT (Pneumonia Outcomes Research Team) [3];
- SMART-COP [7].

Шкалу SMART-COP, разработанную австралийско-американской группой специалистов в 2006 году, пока еще малоизвестную в России и Европе, приводим полностью (табл. 1). Название шкалы, как и у CURB/CRB, является английской аббревиатурой входящих в нее параметров.

В связи с наличием доказательств сравнимой информационной ценности шкал SMART-COP и ее варианта SMRT-CO (без альбумина и pH артериальной крови) мы в своем исследовании

Таблица 1. Шкала SMART-COP для оценки тяжести ВП

Пороговое значение показателя	Балл
Систолическое АД < 90 мм рт. ст.	2
Мультилобарные инфильтраты на рентгенограмме легких	1
Содержание альбумина в плазме крови < 3,5 г/дл	1
Частота дыхательных движений (ЧДД) при возрасте ≤ 50 лет ≥ 25/мин, при возрасте > 50 лет – ≥ 30/мин	1
Частота сердечных сокращений (ЧСС) ≥ 125 уд/мин	1
Наличие признаков нарушения сознания	1
Оксигенация:	
PaO ₂ < 70 мм рт. ст. при возрасте ≤ 50 лет; < 60 мм рт., при возрасте > 50 лет или SpO ₂ < 94% при возрасте ≤ 50 лет; < 90% при возрасте > 50 лет	2
pH артериальной крови < 7,35	2

использовали «облегченный» вариант [8]. Оценку информационной значимости шкал при прогнозировании исхода определяли с помощью ROC-анализа (*Receiver Operating Characteristic analysis*), с построением характеристических кривых зависимости чувствительности от вероятности ложноположительных результатов и измерением площади под ней. Выбирали оптимальную «точку разделения» – определенное значение шкалы, которое наилучшим образом отражало компромисс между чувствительностью и специфичностью и позволяло оценить прогностическую ценность положительного и отрицательного результатов. В качестве положительного результата (правильно предсказанного) теста в проведенном исследовании рассматривался летальный исход. Расчет обозначенных параметров и построение характеристических кривых выполнялось с помощью программы Medcalc. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Выбор шкалы, наиболее точным образом отражающей исход при ВП, позволяет аргументированно предложить для клинической практики конкретный инструмент, объективно отражающий тяжесть состояния больного. В свою очередь, его использование может служить подспорьем в определении места лечения пациента, в конкретизации подходов к терапии и мониторингу, прогнозированию возможных осложнений.

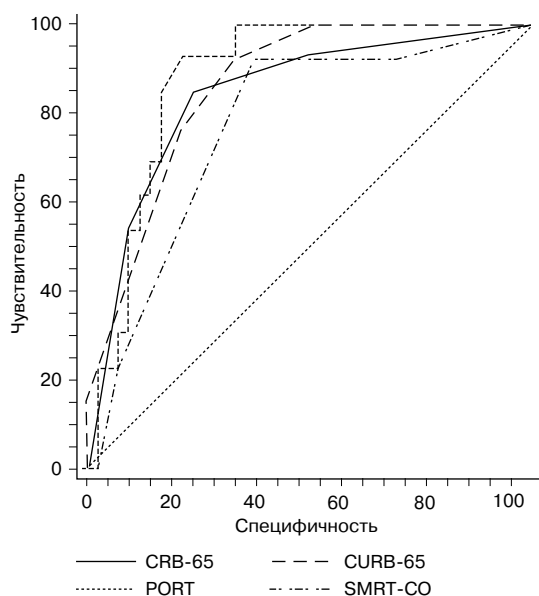


Рис. 1. ROC-кривые специализированных шкал в предсказании исхода внебольничной пневмонии у пациентов ОРИТ (в %).

Результаты ROC-анализа демонстрируют приемлемую информационную ценность для всех специализированных шкал оценки тяжести ВП (рис. 1).

Площади под кривыми во всех случаях были ближе к площади квадрата, чем к диагонали, указывая тем самым на их диагностическую ценность. Диагональ соответствует полной неразличимости исхода при ВП и служит контролем по отношению к диагностическому тесту или системе. Во всех случаях площади под характеристическими кривыми статистически значимо превышали площадь под диагональю, равную 0,5 (табл. 2). В то же время сравнение различий между самими шкалами не показало их статистической значимости.

В этом отношении полученные нами данные отличаются от результатов исследования M. Fine [3] – автора шкалы PORT, в котором было отмечено некоторое значимое преимущество последней над CRB-65 и CURB-65 у госпитализированных пациентов с ВП. В противоположность им немецко-испанская группа, используя дискриминационный анализ, наоборот, доказала преимущество шкалы CURB над PORT [9].

С нашей точки зрения, это различие, возможно, было связано с более высокой тяжестью состояния больных в целом, помещенных в ОРИТ. Так, в американском исследовании пациенты I–III класса PSI составляли 68%, а в нашем – около 20% за счет III класса. Главная задача, которая была адекватно решена создателями шкалы PORT – выявление группы лиц, не требующих стационарного лечения. Очевидно, что система, насчитывающая 20 параметров и имеющая диапазон колебаний более чем 100 баллов, обладает большой способностью в описании всей многовариантной популяции больных ВП. Однако, по мере прогрессирования пневмонии и формирования органно-системных нарушений, характеристики газообмена, гемодинамики и уровня сознания становятся определяющими в прогнозе.

Оценка дискриминирующей способности исхода с помощью неспециализированных для ВП шкал – APACHE-II и SOFA – дала следующие результаты (рис. 2).

Оказалось, шкала APACHE-II вообще не обладала необходимой прогностической способностью в определении исхода ВП, поскольку различие в площади под ее характеристической кривой не имело статистической значимости по отношению к диагонали – $0,71 \pm 0,17$ ($p=0,2$), в то время как площадь под кривой у шкалы SOFA была наибольшей в сравнении и со специализированными шкалами, хотя и без необходимой значимости различий с ними – $0,90 \pm 0,05$ ($0,79–0,96$).

Таблица 2. Сравнительная оценка площади под ROC-кривой специализированных шкал

Шкала	Площадь под ROC-кривой	95% ДИ	p по отношению к 0,5
PORT	0,88±0,06	0,76–0,96	< 0,01
CURB-65	0,86±0,01	0,64–0,87	< 0,01
CRB-65	0,84±0,07	0,72–0,94	< 0,01
SMRT-CO	0,77±0,08	0,64–0,87	< 0,01

Высокая дискриминирующая способность шкалы SOFA, созданной для диагностики и оценки тяжести органно-системной дисфункции при сепсисе, не является неожиданной. ВП, как и любое заболевание инфекционной природы может осложняться развитием синдрома *системной воспалительной реакции* (СВР) – сепсисом, в том числе и с проявлениями органной недостаточности. По-видимому, в силу того, что преобладающая часть больных имели функциональные органные расстройства различной степени тяжести, мы и зарегистрировали высокую информационную ценность шкалы SOFA для больных с ВП, находящихся в ОРИТ.

Результаты недавно опубликованных исследований D. Angus с соавт., известного специалиста из США в области клинической эпидемиологии критических состояний, ретроспективно проанализировавших базу данных PORT, показывают, что сами симптомы СВР (от 2 до 4), вне зависимости от их количества, при отсутствии ПОН не обладают какой-либо значимостью в предсказании неблагоприятного исхода (цит. по [10]).

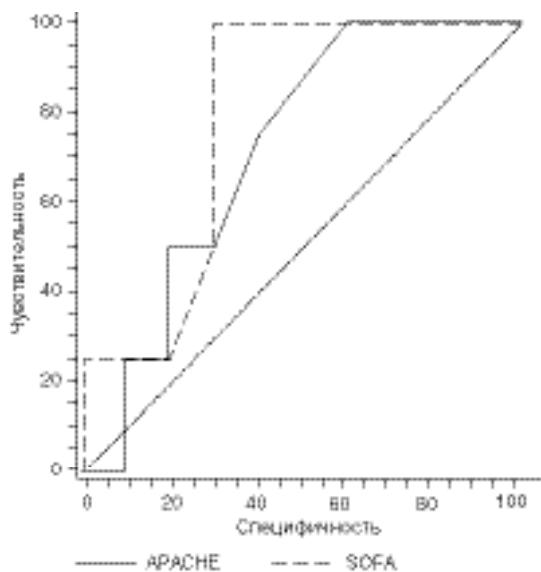


Рис. 2. ROC-кривые шкал APACHE-II и SOFA в предсказании исхода ВП у пациентов ОРИТ (в %).

Получив доказательства способности специализированных шкал оценки тяжести ВП и шкалы SOFA в определении исхода, мы попытались найти оптимальную «точку разделения» – значение для конкретной шкалы, которое с наибольшей долей вероятности служит границей, разделяющей выживших и умерших больных. Результаты анализа представлены в табл. 3.

Известно, что чувствительность и специфичность являются стабильными характеристиками диагностического теста и не зависят от распространенности диагностируемого состояния в общей популяции больных. В то же время на прогностическую ценность положительных и отрицательных результатов влияет число лиц в общей популяции с положительным тестом, т.е. количество погибших (в нашем случае 62 человека – 20%). В этих условиях прогностическая ценность положительного результата теста у всех шкал заметно снижалась относительно чувствительности, а прогностическая ценность отрицательного результата, наоборот, была субмаксимальной. Мы полагаем, когда сравниваемые диагностические системы демонстрируют близкую прогностическую способность, во внимание принимаются их другие свойства, например, доступность для широкого круга специалистов и затратность для ЛПУ. В этом отношении, безусловно, более привлекательно выглядят шкалы CURB, позволяющие легко скринировать больных в максимально широком круге лечебных подразделений. Более того, шкала CRB-65, оценивающая только уровень сознания, частоту дыханий, уровень артериального давления и возраст, не требующая измерения содержания мочевины крови, доступна любому врачу общей практики. Однако следует иметь в виду, что мы не ставили перед собой задачу повышения объективизации критериев для стационарного лечения в целом, поэтому данный вопрос остается открытым и требует специального изучения в наших условиях.

Выбор критериев для госпитализации в ОРИТ

После проведения общей сравнительной оценки количественных систем мы сделали попытку обос-

Таблица 3. Оптимальные «точки разделения» погибших и выживших больных с ВП для специализированных шкал и шкалы SOFA

Шкала	Чувствительность	Специфичность	ПЦПР,%	ПЦОР,%
SOFA >3 баллов	92,3 (63,9–98,7)	81,0 (65,9–91,4)	52,2	96,9
PORT >106 баллов	92,3 (63,9–98,7)	81,0 (65,9–91,4)	60,0	97,1
CURB-65 >1 балла	92,3 (63,9–98,7)	66,7 (50,5–80,4)	46,2	96,6
CRB-65 >1 балла	84,6 (54,5–97,6)	76,2 (60,5–87,9)	52,4	94,1
SMRT-CO >2 баллов	92,3 (63,9–98,7)	61,9 (45,6–76,4)	42,9	96,3

Примечание: ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата; ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата

Таблица 4. Взаимосвязь тяжести состояния по шкале CURB-65 и летальности пациентов с ВП, госпитализированных в ОРИТ

Балл по шкале CURB-65	Летальность, %
0	3,7
1	14,7
2	28,4
3	36,0
4	47,1
5	66,7

Таблица 5. Взаимосвязь тяжести состояния по шкале SMRT-CO и летальности пациентов с ВП, госпитализированных в ОРИТ

Балл по шкале SMRT-CO	Летальность, %
0–2	3,7
3–4	35,3
5–6	50
≥7	100

нования выбора критериев для госпитализации в ОРИТ, используя два подхода.

Первый подход заключается в поиске точек наиболее вероятностного разделения между умершими и выжившими больными. Как следует из табл. 3, таковыми являются следующие значения индексов тяжести состояния: PORT – >106 баллов, CURB-65/CRB-65 – ≥2 баллов, SMRT-CO – выше 2 баллов.

Второй подход заключается в сопоставлении летальности и динамики тяжести состояния по конкретной шкале. Результаты анализа отражены в табл. 4–5.

Обе шкалы демонстрируют плавный прирост летальности по мере увеличения тяжести состояния по обеим шкалам. Вместе с тем, в отличие от

SMRT-CO, при сопоставлении результатов ROC-анализа шкалы CURB-65 и пошаговой летальности можно отметить некоторый диссонанс. Судя по точкам разделения, основанием для госпитализации в ОРИТ должны служить ≥2 баллов по CURB-65, в то время как данные табл. 4 указывают на значение в 1 балл. Сделанные нами предварительные выводы не совпадают с рекомендациями экспертов Британского Торакального Общества, предлагающих рассмотреть необходимость стационарного лечения при данном уровне тяжести состояния и неотложную госпитализацию при наличии 3 баллов и выше, а лечение в ОРИТ – при достижении 4 баллов [6].

Аргументом для подобного заключения служили данные многоцентрового исследования, выполненного в Великобритании, Нидерландах и Новой Зеландии, и ориентирующие на более высокую выживаемость, чем полученная нами: 0 баллов – 0,7%, 1 балл – 3,2%, 2 балла – 13,0%, 4 балла – 41,5%, 5 баллов – 57,0% [11]. Особенно значимая разница наблюдалась у пациентов, набравших по CURB-65 от 1 до 3 баллов.

В то же время, сравнение фактической летальности и тяжести ВП по шкале PORT в наших исследованиях совпадает по всем позициям с данными S. Ewig [9] и отличается от прогноза M. Fine и соавт. только по пятому классу тяжести ВП (табл. 6).

Нам представляется, что для более корректного объяснения заметных различий в летальности больных, стратифицированных по шкале CURB-65, требуется скрупулезная детализация и сопоставление лиц, включенных в исследования, по факторам риска смерти и подходам к интенсивной терапии. Исходные данные для такого анализа отсутствуют. В частности, нет возможности сравнения больных по тяжести органной дисфункции, используемым схемам АБТ, приверженности к протоколу ранней целенаправленной терапии тяжелого сепсиса и шока. А различие по обозначенным компонентам

Таблица 6. Сравнение фактической летальности и тяжести ВП по шкале PORT

Класс риска PORT	Летальность, %		
	Fine M.J. [3]	Ewig S. и соавт. [9]	Собственные данные
I (≤ 70 баллов) до 50 лет	0,1	0	0
II (≤ 70 баллов)	0,6	2	0
III (71–90 баллов)	2,8	3	2
IV (91–130 баллов)	8,2	8	5
V > 130 баллов	29,2	18	16

интенсивной терапии, с позиций современных данных, влияет на исход [12].

Вместе с тем, несмотря на определение математическим путем конкретных значений индексов тяжести, позволяющих принять решение о госпитализации в ОРИТ, мы должны констатировать невозможность «жесткой» реализации данного подхода в условиях клинической практики. Шкалы количественной оценки тяжести состояния, обладая определенной информационной ценностью на уровне популяции больных, демонстрируют ее снижение в индивидуальных случаях. В нашем исследовании подтверждением тому служит установленная прогностическая ценность положительных результатов в пределах 40–60% (см. табл. 3).

Недостатком CURB-65 является недооценка возможности неблагоприятного исхода у больных с тяжелой субкомпенсированной сопутствующей патологией на фоне пневмонии.

Например, пациент 64 лет с пневмонией и декомпенсированной ОДН на фоне ХОБЛ, усталостью дыхательной мускулатуры может иметь расстройства сознания и ЧДД менее 30 в минуту, систолическое АД > 90 мм рт. ст. и нормальное содержание мочевины крови, набирая 1 балл как по CURB-65, так и по CRB-65. Несбалансированность шкалы PORT по возрасту ведет к недооценке тяжести состояния при ВП с шоком или при наличии ОДН у молодых пациентов.

Приведем собственное клиническое наблюдение.

Больная Т., 19 лет, поступила в ОРИТ МО «Новая больница» с диагнозом «Внебольничная правосторонняя нижнедолевая пневмония». Сознание ясное. Температура тела 40°C , ЧД = 30 в минуту, АД – 110/60 мм рт. ст., ЧСС = 130 в минуту, $\text{SpO}_2 = 78\%$. На фоне ингаляции кислорода $\text{SpO}_2 = 88–90\%$. Балл по PORT=49. Необходимость в кислородной поддержке и соответственно мониторинге сохранялась трое суток, в то время как согласно рекомендациям PORT пациенты с баллом менее 70 должны лечиться амбулаторно.

На принятие решения о проведении терапии в условиях ОРИТ будет влиять и система организа-

ции неотложной помощи в конкретном лечебном учреждении, доступность коек ОРИТ. Наличие промежуточных блоков, палат интенсивного ухода, обученного персонала и возможность проведения кислородотерапии с пульсоксиметрическим контролем сможет ограничить поступление в ОРИТ части больных с тяжелой ВП. Однако присутствие таких подразделений в России является пока редким исключением. В связи с этим мы полагаем, что критерии для госпитализации в ОРИТ определяются особенностями организации неотложной помощи в конкретном ЛПУ, городе или стране и экстраполировать рекомендации, вышедшие в Британии и США, для России нельзя.

Действительно, индексы тяжести состояния у наших пациентов зависели от типа и уровня отделения, варьируя по CURB-65 от 1 до 5 баллов и SOFA – от 0 до 12 баллов. Пациенты в поливалентных ОРИТ были более тяжелыми, чем в соматических ОРИТ [13]. Количество больных с синдромом СВР без органной дисфункции варьировало от 12,1 до 37,9%. Безусловно, большая часть из них могла получать лечение и в профильных отделениях при наличии соответствующих условий.

Мы полагаем, что более правильным подходом для определения критериев госпитализации в ОРИТ было бы прогнозирование не только неблагоприятного исхода, но и необходимости в использовании технологий, применяемых в условиях отделений этого типа – мониторинга оксигенации, респираторной и гемодинамической поддержки. Рассчитанные нами в результате анализа конкретные количественные значения шкал тяжести ВП и органной дисфункции могут служить основанием для организации оптимальной терапии и усиленно наблюдения.

Заключение

Специализированные шкалы количественной оценки тяжести (PORT, CURB-65, CRB-65 и SMRT-CO) и шкала оценки тяжести органной дисфункции (SOFA) обладают сравнимой информационной значимостью в определении популяци-

онного прогноза при тяжелой ВП. Установленные количественные значения шкал могут играть только вспомогательную роль при определении показаний для госпитализации в ОРИТ. Принятие решения должно быть основано на клинической оценке

пациента и конкретных возможностях лечебного учреждения. Для подтверждения практической значимости индексов тяжести необходима их валидация в рамках многоцентровых проспективных контролируемых исследований.

Литература

1. Knaus W.A., Draper E.A., Wagner D.P., Zimmerman J.E. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13:818-29.
2. Vincent J.L., Moreno R., Takala J. et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment score) to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22:707-10.
3. Fine M.J. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997; 336:243-50.
4. Lim W.S., Macfarlane J., Boswell T., et al. Study of community-acquired pneumonia aetiology (SCAPA) in adults admitted to hospital: implication for management guidelines. *Torax* 2001; 56:296-301.
5. Leroy O., Smith C., Levy H., et al. A five-year study of severe community-acquired pneumonia with emphasis on prognosis in patients admitted to an intensive care unit. *Intensive Care Med* 1995; 21:24-31.
6. BTS Guidelines for management community-acquired pneumonia in adults – 2004 update. Available at: www.brit-thoracic.org/guidelines. Accessed 30.04.04.
7. Charles P.G.P. Development of a severity assessment tool for predicting need for ICU admission in patients with community-acquired pneumonia (CAP). 46th ICAAC, San Francisco, 2006.
8. Charles P.G.P., Fine M.J., Ramirez J.A., et al. Validation of SMART-COP: a pneumonia severity assessment tool for predicting with patients will need intensive respiratory or inotropic support (IRIS). 47th ICAAC, Chicago, 2007 Abstr.: L1156a.
9. Ewig S., Roux A., Bauer T., et al. Validation of predictive rules and indices of severity for community-acquired pneumonia. *Thorax* 2004; 59:421-7.
10. Dremsizov T., Clermont G., Kellum J., et al. Severe sepsis in community-acquired pneumonia: when does it happen, and do systemic inflammatory response syndrome criteria help predict course? *Chest* 2006; 129:968-78.
11. Lim W.S., van den Eerden M., Laing R., et al. Defining community-acquired pneumonia severity on presentation to hospital: an international derivation and validation study. *Thorax* 2003; 58:377-82.
12. Dellinger R.P., Carlet J., Masur H., et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32:858-73.
13. Руднов В.А., Фесенко А.А., Лещенко И.В., Колотова Г.Б. Анализ результатов интенсивной терапии тяжелой внебольничной пневмонии в отделениях реанимации г. Екатеринбурга. *Уральский медицинский журнал* 2007; (8):50-4.

УДК 618.3-06:618.15-008.87-085

Бактериальный вагиноз при беременности: современное состояние проблемы и значение фармакотерапии

О.В. Решетько, К.А. Луцевич

Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, Россия

Беременность служит фактором риска развития бактериального вагиноза. По данным эпидемиологических исследований, распространенность этого заболевания среди беременных женщин в различных странах мира варьирует от 10 до 40%. В США популяционный риск преждевременных родов в связи с бактериальным вагинозом составляет 30% и оценивается ежегодно в 1 млрд долларов США.

В данной статье подробно рассматривается этиология и эпидемиология данного заболевания. Большое внимание уделено обсуждению вопросов терапии бактериального вагиноза с точки зрения доказательной медицины.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, беременность, диагностика, этиология, лечение.

Bacterial Vaginosis During Pregnancy: Current State of the Problem and the Role of Antimicrobial Chemotherapy

O.V. Reshetko, K.A. Lutsevich

Saratov State Medical University, Saratov, Russia

Pregnancy is an important risk factor for the development of bacterial vaginosis. According to the data of epidemiological studies, the prevalence of this disorder in pregnant women varies from 10% to 40% in different countries. In USA estimated population risk of preterm delivery related to bacterial vaginosis comes to 30% and value at \$ 1 billion annually.

In the present article the etiology and epidemiology of bacterial vaginosis are described in details. Special attention is paid to the discussion of available treatment options.

Key words: bacterial vaginosis, pregnancy, diagnosis, etiology, treatment.

Контактный адрес:Ольга Владимировна Решетько
Эл. почта: Reshetko@yandex.ru

Беременность с ее выраженными изменениями гормонального статуса служит фактором риска развития *бактериального вагиноза* (БВ). Являясь банальным заболеванием с персистирующим течением и оказывая влияние на психологический статус женщины, БВ может приводить к потенциально серьезным и экономически дорогостоящим последствиям, как на индивидуальном, так и на популяционном уровнях. В США популяционный риск преждевременных родов в связи с БВ составляет 30%, что оценивается ежегодно в 1 млрд долларов США [1]. Согласно международным фармакоэпидемиологическим исследованиям, частота потребления используемых в гинекологии антисептиков и антимикробных средств беременными женщинами, у которых одним из частых заболеваний является БВ, оценивается от 8,3% в Финляндии [2] до 23% в Германии [3], 36% во Франции [4] и 44,2% в Дании [5]. Отмечается, что отсутствие доказательств благоприятного эффекта скрининга БВ и его лечения на перинатальный исход может вести к переоценке пользы и возможной недооценке потенциальных рисков, связанных с рутинным лечением БВ во время беременности, что оказывает влияние на потребление антимикробных средств [6, 7].

Экспериментальными и клиническими исследованиями последних лет продемонстрирована возможность БВ-ассоциированных микроорганизмов вызывать воспалительные процессы в верхнем отделе генитального тракта женщины. В результате этого во время беременности инфицируются оболочки плода и амниотическая жидкость, поражается плацента. Однако полная картина миграции данных микроорганизмов на протяжении гестации остается неясной и до сих пор неизвестно, действительно ли БВ может быть причиной неблагоприятных исходов у беременных, когда БВ-ассоциированные микроорганизмы не достигают матки [8, 9]. Заболевание БВ может привести к преждевременным родам (<37 нед гестации) и рождению детей с низкой массой тела (<2500 г) [10–12], *преждевременному разрыву плодных оболочек* (ПРПО) [13], спонтанному аборту [11, 14, 15], росту риска хориоамнионита [16, 17] и послеродового эндометрита [18]. Все это влияет на частоту акушерской и неонатальной патологии [19, 20].

По данным эпидемиологических исследований, распространенность БВ среди беременных женщин в различных странах мира варьирует от 10 до 40% [21]. Ежегодно в США БВ затрагивает примерно от 10 до 35% беременных, главным образом афроамериканок, женщин с низким доходом или с предшествующей *инфекцией, передающейся половым путем* (ИППП) [22]. Европейские исследова-

ния продемонстрировали, что частота выявления БВ у здоровых ранее нерожавших женщин в Финляндии составила 21,4% [23], в Италии БВ выявлялся у 4,9% беременных при отсутствии какой-либо инфекционной симптоматики [24], а в Австрии БВ как моноинфекция или микст-инфекция выявлялся с частотой 8,5% [25]. В Великобритании частота выявления БВ в акушерских клиниках составила 12% [26], причем у беременных в популяции до 10 нед гестации – 14,5% [27]. Согласно российским данным, среди беременных женщин БВ встречается в 10–46% случаев [19].

Существует ограниченная информация относительно экзогенных или поведенческих факторов, приводящих к росту риска распространения БВ во время беременности [28]. Многочисленные исследования подтвердили, по крайней мере, удвоенный риск синдрома БВ среди женщин черной расы, связанный главным образом с влиянием окружающей обстановки, поведенческими факторами и стрессом [29, 30]. Исследование в популяции беременных без учета их расовой принадлежности продемонстрировало распространение БВ в пределах от 10% у женщин с высоким доходом до 35% среди женщин с низким ежемесячным доходом и низким образовательным уровнем [13]. Отмечается также, что хронический стресс у матери остается значимым индикатором заболевания БВ независимо от других социально-демографических и поведенческих факторов [31–33]. Изучена взаимосвязь между психологическими и биологическими маркерами стресса и БВ у беременных женщин. Если с параметрами стресса, в частности состоянием беспокойства (ОШ 2,0; 95% ДИ: 1,2–3,3), пережитым стрессом (ОШ 2,4; 95% ДИ: 1,5–3,9) и общими бытовыми проблемами (ОШ 2,0; 95% ДИ: 1,3–3,2), были связаны высокие риски развития БВ, то после учета влияния других факторов, таких как возраст, раса и доход, отмечалось уменьшение этой связи [34]. По результатам данной работы отсутствовала значимая положительная ассоциация между уровнями гормонов стресса (кортикотропина и кортизола) и риском развития БВ, что противоречило результатам другого исследования [35].

Лечение беременных женщин с БВ, принципиально не отличаясь от такового вне беременности, позволяет снизить вышеуказанные риски, особенно если терапия началась как можно раньше. Благодаря клиническим исследованиям известно, что заболевание БВ может как спонтанно разрешиться, так и рецидивировать, хотя детерминанты этих процессов остаются неизвестными [36]. Важно идентифицировать факторы, приводящие к восходящей инфекции при БВ, когда становится необхо-

димым лечение как нижнего, так и верхнего отделов генитального тракта. Кроме того, антимикробная терапия БВ во время беременности, протекающего как бессимптомно, так и с клиническими проявлениями, должна учитывать заболевание женщин с высоким (преждевременные роды в анамнезе) и низким риском.

Эффективность системного лечения беременных женщин **метронидазолом** с различными режимами дозирования большинством авторов оценивается от 38% до 77% [37–39]. Продемонстрировано выздоровление беременных женщин с БВ в 70% случаев спустя 2–4 нед после лечения комбинацией метронидазола с эритромицином [40]. Метронидазол назначали по 250 мг внутрь 3 раза в сутки в течение 7 дней или 2 г внутрь однократно не ранее второго или третьего триместра беременности [41]. Метаанализ 7 проспективных и 1 ретроспективного исследования результатов назначения беременным женщинам в первом триместре метронидазола, который, согласно классификации Управления США по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (FDA), по действию на плод относится к категории В, не обнаружил увеличения риска его тератогенности [42]. Тем не менее, эффект метронидазола на плод во время любой стадии беременности является предметом обсуждения, хотя наблюдение детей, подвергшихся внутриматочной экспозиции метронидазолом, также не выявило доказательств хронических тератогенных эффектов [43]. С учетом локального характера поражений при БВ у беременных, оптимально проведение местной терапии. В рандомизированном исследовании сравнение системного (по 500 мг 2 раза в сутки в течение 7 дней) и местного (0,75% вагинальный гель по 5 г ежедневно в течение 5 дней) лечения метронидазолом беременных женщин с БВ на ранней стадии гестации показало их эквивалентность в клиническом выздоровлении и в восстановлении доминирования лактобактерий в вагинальной микрофлоре [39].

Клиндамицин (категория В согласно классификации FDA) по 300 мг внутрь 2 раза в сутки в течение 7 дней также может быть использован во время беременности [41]. Системное применение клиндамицина приводило спустя 2–4 нед к излечению 90% беременных с БВ [14, 44] с восстановлением нормальной вагинальной микрофлоры [44]. При местном назначении клиндамицина выздоровление беременных женщин с БВ происходит в 60–80% случаев [6, 7, 45]. Кроме того, в сообщении о результатах сравнительного исследования рецидивы БВ на протяжении беременности отмечались реже при системном применении клиндамицина (7–14%),

чем при использовании метронидазола (38–58%) [37].

Большинство клинических исследований сфокусировано на изучении роли БВ и его терапии в предупреждении преждевременных родов, составляющих даже в развитых странах 6–7% всех родов [46]. Несмотря на многофакторность этиологии преждевременных родов, инфекция является их причиной почти в 40% случаев [47]. Во многих случаях исследователи некорректно относят в одну и ту же категорию преждевременные роды и ПРПО [28]. В ряде работ определяется связь между БВ при беременности и ее исходом. Исследованиями 1990-х годов установлено наличие связи между развитием БВ и спонтанными преждевременными родами с *относительным риском* (ОР) в пределах от 1,5 до 4,0 [11, 48–50]. Различные по методологии эпидемиологические исследования, проведенные в разных этнических группах и слоях общества, также определили у беременных рост ОР недоношенности в пределах от 2,0 до 6,9, что было непосредственно следствием БВ и ассоциировалось с хориоамнионитом [50]. В многоцентровом исследовании по изучению факторов риска преждевременных родов (2929 женщин) показана значимая связь между наличием у женщины БВ и преждевременными родами до 32 нед гестации (ОШ 2,7; 95% ДИ: 1,6–4,6) [51]. Другое исследование, рассматривающее исход беременности, связанный с диагнозом БВ во время первого триместра, продемонстрировало 2,6-кратное увеличение риска преждевременных родов (95% ДИ: 1,3–4,9) и 7,3-кратное – ПРПО (95% ДИ: 1,8–29,4) [23]. Метаанализ работ, рассматривающих роль БВ в риске преждевременных родов среди беременных, дал суммарное отношение шансов 1,6, указывая на 60% увеличение риска [28].

Однако оптимальное время для скрининга БВ во время беременности не определено, хотя предполагается большая эффективность от его проведения в первом триместре, чем в более поздний срок [23]. С увеличением риска преждевременных родов и ПРПО связан и диагностированный во втором триместре БВ, на 83% определяющий риск рождения недоношенных детей [52]. Таким образом, степень риска преждевременных родов и недоношенности наблюдалась тем выше, чем на более ранней стадии гестации выявлялся БВ. Так, если скрининг БВ после 26 нед гестации ассоциировался с 1,4–1,9-кратным увеличением риска преждевременных родов [12, 48, 53–55], то таковой до 16 нед гестации – с 2,0–6,9-кратным [11, 23, 49, 50, 54, 56]. Риск преждевременных родов почти удваивался у женщин с БВ на ранней стадии беременности (21%) по сравнению с теми, у которых заболева-

ние развивалось в конце гестации (11%) [54]. При использовании множественного регрессионного анализа диагностированный до 16 нед гестации БВ ассоциировался с 5-кратным увеличением риска преждевременных родов или поздним выкидышем, независимо от таких хорошо признанных факторов риска, как черная раса и курение [11]. Отмечено повышение риска неблагоприятного исхода беременности у женщин с БВ и при сопутствующей трихомонадной инфекции [57].

Предполагается возрастающий риск спонтанного аборта среди беременных с БВ [11, 14, 15]. В проспективном исследовании, включавшем 738 беременных женщин, пришли к выводу, что при диагностировании БВ на 16–24 нед гестации ОР выкидыша составляет 5,5 [11]. В другом исследовании (228 женщин) такой показатель составлял 5,4 при диагностировании БВ до 20 нед гестации [58]. В исследовании, включавшем 1260 женщин во время второго триместра беременности, ОР спонтанного аборта составил 3,1 при диагностировании БВ до 22 нед гестации [14]. В то же время, в проспективном исследовании (1216 женщин) было установлено, что диагностирование БВ до 16 нед гестации не может точно прогнозировать возможность выкидыша (ОШ 1,2; 95% ДИ: 0,7–1,9), хотя такой риск возрастает со сроком гестации (ОШ 3,5; 95% ДИ: 1,2–10,3), значительно травмируя психику женщин в последующие шесть месяцев после выкидыша [27]. При этом хламидийная инфекция (*Chlamydia trachomatis*) на ранней стадии беременности ассоциируется почти с 3-кратным увеличением риска, сопутствующего БВ, независимо от возраста пациентки [27]. С другой стороны, в двух клинических исследованиях взаимосвязи заболевания БВ и степени риска выкидыша в первом триместре у женщин, подвергшихся экстракорпоральному оплодотворению, были получены противоречивые результаты [15, 59]. N. Liversedge и соавт. [59] не обнаружили значительного влияния БВ на риск выкидыша. В то же время в исследовании, включавшем 867 женщин, лечившихся от бесплодия, обнаружен более чем удвоенный риск спонтанного аборта среди 237 женщин, страдающих БВ, с увеличением возраста матери, наличием прежних родов с мертворождением и положительным ответом на вопрос о курении (ОШ 2,67; 95% ДИ: 1,26–5,63). При этом БВ не влиял на зачатие [15].

Инфекции репродуктивного тракта, приводящие в ряде случаев к преждевременным родам, являются потенциально излечиваемыми, однако часто могут сопровождаться кровотечением. Микроорганизмы, вызывающие БВ, а также *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*, ассо-

циированные с недоношенностью, создают условия, ведущие к цервициту, эрозии шейки матки и/или эндометриту, которые могут быть непосредственной причиной гестационного кровотечения, определяющего тяжесть инфекции [60]. Отмечается, что у 60% женщин с кровотечениями в первом триместре наблюдалась связь с присутствием у них БВ (ОШ 1,5; 95% ДИ: 1,0–2,3), *Trichomonas vaginalis* (ОШ 2,3; 95% ДИ: 1,3–4,2) и *C. trachomatis* (ОШ 2,7; 95% ДИ: 1,4–5,1). Частота преждевременных родов возрастала среди женщин с кровотечениями в первом триместре на фоне БВ (ОШ 4,4; 95% ДИ: 2,0–9,5) или БВ с сопутствующим инфицированием *T. vaginalis* (ОШ 3,0; 95% ДИ: 1,0–8,8) [61]. Полученные данные подтверждают результаты более ранних работ, демонстрируя значимую связь между распространением таких обычных инфекций, как БВ и трихомониаз, с преждевременными родами [11–13]. Микроорганизмы, ассоциированные с БВ, были выделены из эндометриальной полости у 60% женщин с послеродовым эндометритом [13, 18, 62]. Эндометрит продемонстрирован у 45% женщин с БВ в отсутствие *C. trachomatis* и *N. gonorrhoeae* и без признаков болезненности верхнего отдела генитального тракта [60]. Антимикробная терапия у женщин с БВ и кровотечением оказывала меньший эффект по сравнению с таковой у женщин только с инфекцией (ОШ 0,52 и 0,37 соответственно), предполагая, что кровотечение является маркером более обширного или раннего вовлечения в патологический процесс эндометрия и трофобласта [61].

Высокий риск преждевременных родов и рождение детей с низкой массой тела отмечается у женщин с БВ с содержанием в вагинальной культуре *Bacteroides* spp., *Mycoplasma hominis* и *Gardnerella vaginalis* [12, 13, 53, 63]. Хотя природа нарушения нормоценоза во время беременности плохо изучена, имеются сообщения о спонтанном его разрешении в конце беременности [26, 64]. Однако это не приводит к уменьшению риска преждевременных родов [64, 65]. Предполагается, что формирование риска неблагоприятного исхода беременности происходит гораздо раньше и не является обратимым под воздействием последующего спонтанного разрешения нарушенной микрофлоры влагалища или позднего лечения антибактериальными средствами. Следовательно, во время беременности для оптимального времени скрининга с целью определения риска и последующего лечения женщин важно знание природы нарушения вагинальной микрофлоры.

В большинстве эпидемиологических исследований для постановки диагноза БВ используются лабораторные критерии Nugent [28], когда подсчиты-

ваются и оцениваются три морфотипа: *Lactobacillus*, *Mobiluncus* и *Gardnerella*. Для *Lactobacillus* шкала оценки от 0 до 4, где 0 указывает, что при микроскопии в поле зрения было обнаружено 30 или более микроорганизмов, а 4 – на их отсутствие в образце. Напротив, для *Gardnerella* оценка 0 указывает на отсутствие микроорганизмов, 4 – обнаружено 30 или более клеток. Для *Mobiluncus* шкала подсчета от 0 до 2, оценка 2 указывает, что в образце идентифицировано 5 или более клеток. Таким образом, согласно критериям Nugent, ранжирующим от 0 до 10, общая оценка 7 или более свидетельствует о наличии БВ, оценка от 4 до 6 рассматривается промежуточным состоянием, а от 0 до 3 – нормальным [66].

В ряде исследований, оценивающих во время беременности БВ-ассоциированную вагинальную микрофлору, продемонстрирована значительная вариабельность полученных результатов. Тем не менее, показано, что при наличии клиники БВ чаще определяются *G. vaginalis*, *M. hominis* и *Prevotella* spp. [12, 67–69]. M.L. Delaney и A.B. Onderdonk [70], используя критерии Nugent, определили количественное увеличение в вагинальной культуре беременных женщин с БВ *G. vaginalis*, *Prevotella* spp. и *Peptostreptococcus* spp., а в группе женщин с промежуточной микрофлорой присутствовали равные количества *Lactobacillus* spp. и *G. vaginalis* как свидетельство существования переходной фазы. Согласно критериям Nugent, распространение нормальной, промежуточной или БВ-ассоциированной микрофлоры у беременных женщин составляло 68, 21 и 11% соответственно. Показано, что среди бактерий, вовлеченных в процесс заболевания БВ, существуют синергические отношения [71], что может объяснять наряду с ростом уровня *G. vaginalis* последующий количественный рост *Prevotella* spp. и *Peptostreptococcus* spp. при любых нарушениях баланса в экосистеме влагаллищной микрофлоры. Наблюдалась слабая отрицательная корреляция между количеством *Lactobacillus* spp. и оценкой по шкале Nugent. Это свидетельствует, что уровень *Lactobacillus* spp. значительно не уменьшается во время БВ, а скорее всего, происходит перераспределение внутри данного морфотипа между каталазопозитивными и каталазонегативными видами. С другой стороны, значимая положительная корреляция между количеством *G. vaginalis* и *Prevotella* spp., а также *Prevotella* spp. и *Peptostreptococcus* spp. и оценкой по шкале Nugent предполагает, что присутствие *Peptostreptococcus* spp. может быть индикатором вагинального здоровья во время беременности [70].

Недостаточно исследована взаимосвязь между

колонизацией влагаллица лактобактериями и исходом беременности. Для прогнозирования преждевременных родов разработана и валидирована математическая модель, использующая определение общего микробиологического пейзажа во влагаллице после 20 нед гестации [72]. Предполагается, что защитный эффект вагинальных лактобацилл не ограничивается только популяцией женщин с высоким риском. В проспективном обследовании 1958 женщин с одноплодной беременностью колонизация влагаллица лактобактериями наблюдалась у 95% женщин, родивших спустя 37 нед гестации; у 90% – родивших между 33 и 36 нед и только у 80% – родивших при 33 нед [73]. При исследовании вагинальных мазков, собранных в популяции беременных с высоким риском на 20-й неделе гестации, идентифицированы H_2O_2 -продуцирующие лактобациллы видов *L. crispatus*, *L. gasseri* и *L. jensenii* [74]. Высказано предположение, что каталазопозитивные штаммы *L. crispatus* или *L. jensenii* могут рассматриваться в качестве пробиотиков, так как эти штаммы не только продуцируют каталазу, но также в норме присутствуют во влагаллице во время беременности [74, 75].

Определение риска преждевременных родов традиционно основано на истории предыдущих родов, что не совсем надежно. Другие подходы, помимо диагностирования БВ [12], включают определение состояния шейки матки [76] и присутствие биохимических маркеров [77]. Наиболее активно изучается присутствие в цервикагинальном секрете фетального фибронектина, имеющего большую прогностическую ценность по сравнению с диагностированием БВ или биохимическими маркерами [78]. В норме фетальный фибронектин до 16–20 нед гестации обнаруживается в шейке матки и влагаллице. Положительный тест на цервикагинальный фетальный фибронектин в начале третьего триместра связан с ростом риска преждевременных родов в 3,8–8,9 раза в общей популяции беременных [79, 80] и в 3,6–20,9 раз среди женщин с симптомами преждевременных родов или ПРПО [81–83]. Отмечается, что следствием связанных с БВ воспалительных процессов фетальных мембран является высвобождение фибронектина в цервикагинальное пространство, хотя взаимосвязь между БВ и уровнем фетального фибронектина может быть опосредована и через независимые, пока еще не установленные, механизмы [84]. Изучив связь между содержанием цервикагинального фетального фибронектина (трижды измеряя его уровень между 7 и 38 нед гестации) и БВ-ассоциированной микрофлорой, A.R. Goffeng и соавт. [85] обнаружили, что ОР заболевания БВ составляет 9,7

(95% ДИ: 2,0–46,5). В многоцентровом исследовании с участием почти 3000 женщин показано, что у беременных с БВ по сравнению с таковыми без БВ на 23–24 нед гестации было почти двойное увеличение уровня фетального фибронектина (ОШ 1,9; 95% ДИ: 1,3–2,8) [86]. В другом исследовании, включавшем женщин между 24 и 29 нед гестации, также наблюдалась положительная связь между содержанием фетального фибронектина и БВ, но только среди курящих женщин (ОШ 7,8; 95% ДИ: 2,2–27,8) [84].

Отмечается взаимосвязь между присутствием БВ-ассоциированных микроорганизмов, инфицированностью амниотической жидкости и риском преждевременных родов [53]. В то же время присутствие каталазопозитивных лактобактерий негативно ассоциировано с синдромом инфицированности околоплодных вод, предполагая защиту беременных женщин против восходящего инфицирования хориоамниотических мембран и полости матки [74, 87]. О роли воспаления в развитии преждевременных родов свидетельствует появление провоспалительных цитокинов и простагландинов, которые присутствуют в значительных концентрациях в амниотической жидкости женщин с БВ, родивших преждевременно. Как у беременных, так и небеременных женщин с синдромом БВ в выделениях из цервикального канала на фоне увеличения концентрации бактериального эндотоксина возрастают уровни провоспалительных цитокинов – интерлейкинов: ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и ИЛ-8. В то же время уровень ИЛ-6, обладающего как про-, так и противовоспалительными свойствами, существенно не изменяется [88]. ИЛ-1 β , являясь сильным провоспалительным цитокином, продуцируется многочисленными типами клеток и известен как регулятор биосинтеза простагландинов внутриматочной тканью [89]. В последние годы выдвинуто предположение о связи между периодонтитом, БВ и преждевременными родами [90]. Приблизительно у 50% беременных женщин обнаруживается периодонтит [91] и у 15% – БВ [12], но только у 12% наблюдаются преждевременные роды [92]. Низкая частота случаев преждевременных родов по сравнению с частотой периодонтита и БВ во время беременности предполагает участие других факторов, например генетическую предрасположенность. Это находит подтверждение в наблюдении, что у женщин с высоким риском возможен при последующей беременности трехкратный риск преждевременных родов, несмотря на профилактические мероприятия. В ряде работ исследована взаимосвязь между генетической предрасположенностью к преждевременным родам и полиморфизмом генов, кон-

тролирующих распространение и интенсивность продукции цитокинов. Идентификация женщин с генетической предрасположенностью, отвечающих на анаэробную инфекцию ростом воспалительного повреждения тканей, позволяет для уменьшения риска БВ, периодонтита и преждевременных родов целенаправленно применять лекарственное воздействие (антимикробные или противовоспалительные средства) [90]. Для лучшего понимания влияния лечения на исходы родов рекомендуется в клинических исследованиях в качестве конечных точек антимикробной терапии БВ оценивать не только микробиологический, но и воспалительный профиль заболевания [39].

Проведенные в последние годы пренатальные клинические исследования, нацеленные на терапию БВ у беременных для предупреждения преждевременных родов, привели к противоречивым результатам [38, 40, 45, 62, 93, 94]. В опубликованных клинических исследованиях использовались различные методологические подходы и диагностические тесты нарушенной микрофлоры генитального тракта, а также различные дозы, пути введения и режимы назначения антимикробных средств беременным женщинам с различной степенью риска осложнений. В ряде работ рассматривалось влияние системной антимикробной терапии как без успешного результата [7, 13, 93], так и со статистически значимым благоприятным эффектом [14, 40, 62]. Однако результаты указанных работ были подвергнуты критике вследствие малой выборки [62], или эффект обнаруживался только при анализе *post hoc* [40]. В одном из исследований отсутствовала рандомизация [14]. В другой работе для диагноза БВ использовали присутствие *G. vaginalis* и критерии Nugent. Однако это не позволило включить в исследование от 30 до 50% женщин с колонизацией *G. vaginalis*, но без БВ и, хотя наблюдалась тенденция к благоприятному эффекту лечения, численность выборки была недостаточна для демонстрации статистической значимости результатов [93]. J.C. Carey и соавт. [38] в крупном рандомизированном исследовании нестандартного назначения внутрь метронидазола (дважды по 2 г, повторно спустя 48 ч) беременным с бессимптомным течением БВ не смогли показать его благоприятный эффект в отношении предотвращения преждевременных родов и связанных с ними неблагоприятных исходов. Однако эта широко цитируемая работа вызвала серьезные критические замечания [95]. По результатам исследования было включено только 22% полученных данных лечения беременных. Женщины, жаловавшиеся на вагинальные симптомы, были исключены из иссле-

дования, т.е. клинически проявляющийся БВ не изучался. Отсутствовало лечение женщин до 16 нед гестации и 50% из них были подвергнуты лечению после 20 нед гестации. Наблюдалась 8-недельная задержка от постановки диагноза до начала лечения, в течение которой у 25% беременных вагинальная микрофлора возвращалась к норме. Женщины из группы плацебо имели крайне высокую степень ответа на него (37%) по сравнению с другими исследованиями с плацебо (10%), что не находит объяснения. Поскольку метронидазол активен в отношении анаэробов, отсутствовала его активность против аэробов и микоплазм, достигающих верхнего отдела генитального тракта.

Несмотря на очевидность эпидемиологического доказательства связи между БВ и риском преждевременных родов, рандомизированные исследования местного применения клиндамицина при БВ, так же как лечение системными антибактериальными средствами (например, эритромицином, амоксициллином или метронидазолом), не дали однозначного свидетельства благоприятного эффекта [96–98]. Противоречивость полученных результатов в исследованиях системной терапии БВ возможно связана с различными терапевтическими подходами для беременных с клинически проявляющимся или бессимптомным течением заболевания с учетом группы риска [28]. Если у беременных женщин, страдающих БВ с клиническими проявлениями, лечение ведет к облегчению симптомов, то в отношении предупреждения нежелательных исходов (например, преждевременных родов, ПРПО) благоприятный эффект терапии однозначно не определен. Связь между лечением бессимптомных БВ-позитивных беременных женщин и возможной редукцией нежелательных исходов также остается неясной. В одном из ранних исследований терапия БВ у беременных женщин проводилась амоксициллином внутрь с благоприятным эффектом относительно риска преждевременных родов [99]. В трех плацебо-контролируемых рандомизированных клинических исследованиях также отмечено уменьшение риска преждевременных родов после лечения метронидазолом, однако в двух из них уменьшение наблюдалось только в малочисленной группе беременных с высоким риском и бессимптомным течением БВ [40, 62, 93]. Лечение метронидазолом и эритромицином беременных женщин с бессимптомным течением БВ во втором триместре и риском преждевременных родов, приводило к уменьшению числа случаев преждевременных родов (спустя 2–4 нед после терапии у 70% женщин наблюдалось бактериологическое выздоровление) [40]. Системное применение метронидазола у паци-

енток с БВ и риском преждевременных родов в плацебо-контролируемом двойном слепом исследовании показало уменьшение случаев недоношенности (18% против 39%) и ПРПО (5% против 33%) [62].

Однако в ряде исследований показано отсутствие эффективности метронидазола в предупреждении риска преждевременных родов в группе женщин с высоким риском и бессимптомным течением БВ или трихомониаза. В этих работах риск определялся до лечения путем скрининга общей популяции беременных на нарушение вагинальной микрофлоры [16, 38, 93, 100, 101] или присутствие фетального фибронектина в цервикальном секрете [46, 102]. Кроме того, отмечается даже больший риск в развитии случаев преждевременных родов, связанный с лечением метронидазолом по сравнению с плацебо (ОШ от 1,6 до 2,0) [46, 100, 101]. Результаты другого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования с участием 900 беременных (23–24 нед гестации), имевших различные гинекологические инфекции, показали, что преждевременные роды наблюдались у 62% женщин, получавших метронидазол, и у 39%, получавших плацебо [46]. Также в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании назначение 715 беременным (21–25 нед гестации) с бессимптомным течением БВ и положительным тестом на цервикальный или вагинальный фетальный фибронектин применение комбинации метронидазола и эритромицина не уменьшало риска преждевременных родов и не улучшало исходы у новорожденных [102].

Метаанализ рандомизированных контролируемых исследований лечения БВ у беременных не обнаружил благоприятного эффекта в отношении риска нежелательного исхода беременности в смешанной группе женщин [103]. Кроме того, назначение метронидазола внутрь не приводило к уменьшению частоты преждевременных родов среди беременных с бессимптомным течением БВ, независимо от группы риска [38, 104]. Раздельный метаанализ беременных из разных групп риска показал, что скрининг и лечение БВ в группе низкого риска приводят к достоверному снижению частоты преждевременных родов (ОШ 0,73; 95% ДИ: 0,55–0,98), в то время как в группе высокого риска и смешанной группе этот благоприятный эффект не наблюдался. Полученные результаты в совокупности с другими данными позволяют предположить, что преждевременные роды у женщин из групп низкого и высокого рисков не являются проявлением одного и того же синдрома [105].

В связи с тем, что среди беременных с БВ, получавших местное лечение, не было продемонстриро-

вано уменьшения частоты преждевременных родов, несмотря на адекватное лечение, или даже наблюдалась тенденция к их росту, увеличению случаев рождения детей с низкой массой тела или перинатальных инфекций [6, 45, 56, 94, 106], в 2002 г. Центрами по контролю за заболеваниями (CDC, США) было рекомендовано отказаться от местного применения крема (2%) клиндамицина для лечения БВ во время беременности [107]. Доступные данные предполагают, что женщины с персистирующим или рецидивирующим БВ после местного назначения клиндамицина во время беременности имеют бóльший риск преждевременных родов, чем женщины, получавшие плацебо [108]. В двух рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях применяли интравагинально крем (2%) клиндамицина в течение 7 дней и не обнаружили благоприятного эффекта в уменьшении риска преждевременных родов [45, 56]. Однако 100% женщин в одном исследовании [56] и 60% – в другом [45] были подвергнуты лечению только после 20 нед гестации. К этому времени микроорганизмы из влагалища могли уже достигнуть отпадающей оболочки матки и оставаться недоступными для местной антибиотикотерапии. Предполагается, что системная терапия необходима для полной эрадикации БВ-ассоциированных микроорганизмов, как из нижнего, так и верхнего отделов генитального тракта, таким образом предотвращая нежелательные исходы беременности [6, 56].

С другой стороны, показано, что 3-дневный курс аппликации вагинального крема (2%) клиндамицина у беременных с БВ, проведенный в начале второго триместра (до 20 нед гестации), снижал на 60% частоту преждевременных родов по сравнению с плацебо [109]. Отмечается наибольшая эффективность вагинального крема клиндамицина у женщин во время наибольшей колонизации генитального тракта нарушенной микрофлорой [108]. Делается вывод, что для достижения благоприятного эффекта в исходе беременности лечение БВ с использованием антибактериальных средств интравагинально должно начинаться как можно раньше. А еще лучше совместное применение системной и местной терапии [56, 109].

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что в большинстве исследований для терапии БВ использовали клиндамицин или метронидазол, причем вследствие большей активности против БВ-ассоциированных микроорганизмов, возможно, следует отдать предпочтение клиндамицину. Несмотря на то, что под влиянием клиндамицина в большей степени происходит эрадикация вла-

галищных лактобацилл, чем их сохранение, это дает дополнительную выгоду, если следствием БВ является инфицированность лактобацилл фагами [110]. Отмечается важность использования рациональной антимикробной терапии у восприимчивых к БВ женщин на ранней стадии гестации (<20 нед) или даже во время планирования беременности [110]. В двух рандомизированных контролируемых исследованиях с использованием клиндамицина интравагинально [111] или внутрь [25] сделаны сходные выводы. Применение клиндамицина на ранней стадии беременности (<22 нед гестации) значительно уменьшает случаи преждевременных родов (ОШ 2,5; 95% ДИ: 1,2–5,1 [111]; ОШ 2,4; 95% ДИ: 1,2–3,6 [25]). Слишком позднее лечение во время беременности (>20 нед) значимо не уменьшает частоту преждевременных родов, возможно вследствие необратимого воспалительного поражения тканей [109]. Обнаружено, что терапия клиндамицином в начале беременности уменьшала риск нежелательных исходов беременности у 819 женщин с БВ, оцениваемого по критериям Nugent (≥ 6) [112]. Наблюдалось значимое уменьшение частоты случаев ранних преждевременных родов (<33 нед гестации; ОШ 0,14; 95% ДИ: 0,02–0,95). Это тот гестационный срок, при котором высоки неонатальная заболеваемость и смертность, лежащие в основе финансового бремени для системы здравоохранения и психосоциальной цены для родителей [113].

Использование в Великобритании программы скрининга БВ предполагает ежегодную экономию £35 000 000 за счет уменьшения суммарных затрат в неонатальной интенсивной терапии после расчета стоимости скрининга (700 000 женщин, стоимость одного теста £5) и лечения БВ интравагинальным кремом клиндамицина (£12 лечение одной женщины; 105 000 женщин) [113]. Чистая общая экономия может быть гораздо больше, если учитывать селективный скрининг и других инфекций генитального тракта матери, ведущих в неонатологии, а в дальнейшем и в педиатрической практике – к тяжелым последствиям относительно здоровья ребенка и к возможной его инвалидности [113]. Таким образом, несмотря на противоречивость полученных результатов, клиндамицин внутрь может рассматриваться как средство выбора для женщин с нарушенной вагинальной флорой во время беременности. Уменьшая риск позднего выкидыша и спонтанных преждевременных родов, поддерживая в норме вагинальную флору у $2/3$ леченых женщин на протяжении всей беременности, клиндамицин к тому же хорошо переносится [44, 111].

Обзор современных данных свидетельствует о противоречивости пользы рутинного скрининга

БВ и ассоциированных с ним инфекций для предупреждения нежелательных исходов у беременных [96, 98, 114], в частности в популяции с низким риском [38]. В связи с этим рекомендуется проводить скрининг беременных на трихомониаз и БВ только при наличии в анамнезе эпизодов спонтанного прерывания беременности или преждевременных родов. С другой стороны, не рекомендуется скрининг вульвовагинального кандидоза, часто сопутствующего БВ, из-за отсутствия ассоциации между вагинальной колонизацией *Candida* и частотой преждевременных родов [115]. Сообщая результаты нерандомизированного исследования, J.A. McGregor и соавт. [14] рекомендуют для уменьшения случаев преждевременных родов проводить скрининг распространенных инфекций генитального тракта. Микробиологическое исследование вагинального содержимого у 233 беременных женщин между 14 и 18 нед гестации обнаружило, что колонизация *Bacteroides* spp., *Trichomonas vaginalis* или *Ureaplasma* spp. с большой вероятностью приводила к развитию спонтанного прерывания беременности или преждевременных родов [13]. Однако такое детальное исследование без доказанной целесообразности дорогостояще, сложно, требует много времени. Подчеркивается, что скрининг беременных на присутствие БВ и ассоциированных с ним инфекций должен быть быстрым, недорогим и точным в идентификации нарушенной микрофлоры генитального тракта, а следовательно, в определении группы женщин с высоким риском. Результаты последних исследований свидетельствуют, что антимикробная терапия, основанная на таком скрининге, может уменьшать частоту преждевременных родов до 60% [25, 109, 111, 112]. Однако объективное доказательство присутствия инфекции может быть получено только на базе стандартного метода анализа вагинальных мазков, в частности по методу Nugent [109, 111]. Следовательно, создание и использование в клинической практике целостной программы скрининга инфекций репродуктивного тракта и их лечения ведет к значительному уменьшению частоты преждевременных родов и поздних спонтанных аборт в общей популяции беременных женщин [25, 113].

Исследования, направленные как на предотвращение преждевременных родов, так и на задержку их прогрессирования в большинстве случаев показали отсутствие эффективности [97]. Следует отметить, что стандартное лечение беременных с БВ может быть эффективным в уменьшении частоты случаев других сопутствующих инфекций репродуктивного тракта, в частности хламидиоза и гонореи. Хотя в одном из исследований лечение

хламидиоза репродуктивного тракта у беременных не уменьшало риска преждевременных родов [116]. С другой стороны, существующие режимы терапии ИППП репродуктивного тракта матери с различной степенью эффективности в предупреждении частоты случаев преждевременных родов могут излечивать и сопутствующий БВ. Использование комбинации метронидазола с эритромицином внутрь в течение одной недели наиболее эффективно для охвата большинства всех возможных микроорганизмов, изолированных из верхнего отдела генитального тракта беременных с риском спонтанных преждевременных родов [9, 40]. В ранних исследованиях лечение таких беременных обычно проводили антибиотиками групп пенициллинов и цефалоспоринов или эритромицином. У женщин с отсутствием повреждения фетальных мембран и с угрозой преждевременных родов такая антибактериальная терапия обычно не задерживала роды, не уменьшала риск преждевременных родов и не улучшала неонатальный исход [117]. В исследованиях, направленных не только на лечение БВ, у женщин с угрозой преждевременных родов, применение антибактериальной терапии (метронидазол и ампициллин внутрь в течение 4 дней) пролонгировало беременность [118]. Кроме того, наблюдалось увеличение на 200–300 г среднего веса новорожденных, уменьшение случаев преждевременных родов и снижение неонатальной заболеваемости [119]. Лечение антибиотиками, включавшее тетрациклин, эритромицин и клиндамицин, также вело к увеличению веса новорожденных, что в большей степени связывают с лечением сопутствующей инфекции *Ureaplasma urealyticum*, чем БВ [120]. Метаанализ результатов рандомизированных контролируемых исследований по антибактериальной терапии угрозы преждевременных родов при отсутствии повреждения фетальных мембран показал в этой ситуации пролонгацию беременности (средневзвешенная разница 5,4 дней; 95% ДИ: 0,9–9,8 дней). Отсутствовал эффект снижения степени недоношенности, респираторного дистресс-синдрома или сепсиса у новорожденных, хотя отмечалось значимое уменьшение некротизирующего энтероколита (ОШ 0,33; 95% ДИ: 0,13–0,88). Метаанализ также обнаружил повышение смертности в связи с недоношенностью или ее последствиями (ОШ 2,43; 95% ДИ: 0,92–6,43) и увеличение перинатальной смертности в группе получавших антибиотики (ОШ 3,36; 95% ДИ: 1,21–9,32). В то же время антибиотикотерапия значительно уменьшала материнскую инфекцию (хориоамнионит или эндометрит) (ОШ 0,68; 95% ДИ: 0,48–0,98).

Таким образом, отсутствует однозначное доказательство пользы антибактериальной терапии в случае угрозы преждевременных родов при целостности фетальных мембран [121]. Это получило подтверждение и в крупномасштабном многоцентровом исследовании (ORACLE II; n=6300) влияния антибактериальных средств у женщин с угрозой преждевременных родов, а следовательно, и с возрастанием риска недоношенности, когда использование одной комбинации ампициллина с клавулановой кислотой или в сочетании с эритромицином не приводило к благоприятным исходам у матери или новорожденного [122]. Следовательно, рутинная антибактериальная терапия в случае угрозы преждевременных родов вряд ли может быть рекомендована при отсутствии других факторов риска, в частности повреждения фетальных мембран.

Метаанализ результатов рандомизированных контролируемых исследований по антибактериальной терапии угрозы преждевременных родов с повреждением фетальных мембран показал в этой ситуации эффективность лечения в пролонгации беременности и уменьшении материнской и неонатальной заболеваемости, связанных с инфекцией [123]. Это подтверждено в крупномасштабном многоцентровом исследовании (ORACLE I; n=4826) [124]. Хотя применение одной комбинации аминопенициллинов с клавулановой кислотой или в сочетании с эритромицином увеличивало длительность беременности, оно также способствовало возрастанию частоты у новорожденных некротизирующего энтероколита. Таким образом, имеющиеся доказательства, что внутриматочная инфекция связана с долгосрочным нежелательным исходом беременности, и отсутствие свидетельств, связанных с опасностью лечения эритромицином, ведут к необходимости стандартного профилактического лечения в этой ситуации. Однако в клинической практике в этой ситуации не должна применяться комбинация аминопенициллинов с клавулановой кислотой [124]. Применительно к БВ результаты анализа последних систематических обзоров

применения при беременности антибактериальных средств дают ряд свидетельств [98, 125, 126]. Так, назначение макролидов и клиндамицина во втором триместре ассоциировано с низким уровнем частоты случаев преждевременных родов, в то время как использование только метронидазола связано с увеличением риска преждевременных родов в популяции беременных с высоким риском (ОШ 1,31; 95% ДИ: 1,08–1,58) [125]. С другой стороны, не найдено доказательств в поддержку использования антимикробной терапии БВ и трихомониоза при беременности для уменьшения риска преждевременных родов или связанной с ними заболеваемости у женщин с низким или высоким риском [98]. Отмечается, что антибактериальная терапия БВ при беременности ведет к клиническому и микробиологическому выздоровлению, но имеется мало доказательств, что скрининг и лечение всех беременных женщин с бессимптомным течением БВ может предотвращать преждевременные роды и их последствия. Однако предполагается, что терапия до 20 нед гестации может уменьшать риск частоты преждевременных родов, что требует в дальнейшем дополнительных исследований [126].

Таким образом, гетерогенность полученных в рандомизированных клинических исследованиях результатов лечения БВ и эффективности в предупреждении частоты преждевременных родов является трудно объяснимой. Результаты вышеприведенных исследований предполагают дальнейший поиск в области скрининга и последующей антимикробной терапии БВ. Делается вывод, чем дольше нарушенная колонизация влагалища остается без лечения, тем выше вероятность восходящей инфекции, которая инициирует приводящий к преждевременным родам воспалительный процесс. Как результат, лечение во время беременности должно начинаться как можно раньше, не позже начала второго триместра, с использованием антибактериальных средств местного действия или для получения более благоприятного исхода комбинаций системных и местных препаратов.

Литература

1. Koumans E.H., Kendrick J.S. Preventing adverse sequelae of bacterial vaginosis: a public health program and research agenda. *Sex Transm Dis* 2001; 28:292-7.
2. Malm H., Martikainen J., Klaukka T., Neuvonen J. Prescription drugs during pregnancy and lactation – a Finnish register-based study. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59:127-33.
3. Egen-Lappe V., Hasford J. Drug prescription in pregnancy: analysis of a large statutory sickness fund population. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60:659-66.
4. Lacroix I., Damase-Michel C., Lapeyre-Mestre M., Montastruc J.L. Prescription of drugs during pregnancy in France. *Lancet* 2000; 356:1735-6.
5. Olesen C., Steffensen F.H., Nielson L.G., et al. Drug use in first pregnancy and lactation: a population-based survey among Danish women. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; 55:139-44.
6. Kekki M., Kurki T., Pelkonen J., et al. Vaginal clindamycin in preventing preterm birth and periparturient infections in asymptomatic women with bacterial vaginosis: a randomized, controlled trial. *Obstet Gynecol* 2001; 97:643-8.

7. Vermeulen G.M., van Zwet A.A., Bruinse H.W. Changes in the vaginal flora after two percent clindamycin vaginal cream in women at high risk of spontaneous preterm birth. *Br J Obstet Gynaecol* 2001; 108:697-700.
8. Peipert J.F., Montagna A.G., Cooper A.S., Sung C.J. Bacterial vaginosis as a risk factor for upper genital tract infection. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:1184-7.
9. Goldenberg R.L., Hauth J.C. Andrews W.W. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342:1500-7.
10. Govender L., Hoosen A.A., Moodley J., et al. Bacterial vaginosis and associated infections in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1996; 55:23-8.
11. Hay P.E., Lamont R.F., Taylor-Robinson D., et al. Abnormal bacterial colonization of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *Br Med J* 1994; 308:295-8.
12. Hillier S.L., Nugent R.P., Eschenbach D.A., et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. *N Engl J Med* 1995; 333:1737-42.
13. Minkoff H., Grunebaum A.N., Schwarz R.H., et al. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:965-72.
14. McGregor J.A., French J.I., Parker R., et al. Prevention of premature birth by screening and treatment of common genital tract infections: results of a prospective controlled evaluation. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:157-67.
15. Ralph S.G., Rutherford A.J., Wilson J.D. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester cohort study. *Br Med J* 1999; 319:220-3.
16. Hillier S.L., Martius J., Krohn M., et al. A case-control study of chorioamnionic infection and histological chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med* 1988; 319:972-8.
17. Gibbs R. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:460-3.
18. Hillier S., Kiviat N.B., Hawes S.E., et al. Role of bacterial vaginosis-associated microorganisms in endometritis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:435-41.
19. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Этиопатогенез, диагностика и современные направления в лечении бактериального вагиноза. *РМЖ* 2002; 18:795-7.
20. Bhutta Z.A., Darmstadt G.L., Hasan B.S., Haws R.A. Community-based interventions for improving perinatal and neonatal health outcomes in developing countries: A review of the evidence. *Pediatrics* 2005; 115:519-617.
21. McGregor J.A., French J.I. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55(Suppl. 1):1-19.
22. Rauh V.A., Culhane J.F., Hogan V.K. Bacterial vaginosis: a public health problem for women. *J Am Med Womens Assoc* 2000; 55:220-2.
23. Kurki T., Sivonen A., Renkonen O.V., et al. Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 1992; 80:173-7.
24. Cristiano L., Rampello S., Noris C., et al. Bacterial vaginosis: prevalence in an Italian population of asymptomatic pregnant women and diagnostic aspects. *Eur J Epidemiol* 1996; 12:383-90.
25. Kiss H., Petricevic L., Husslein P. Prospective randomized controlled trial of an infection screening programme to reduce the rate of preterm delivery. *Br Med J* 2004; 329:371-5.
26. Hay P.E., Morgan D.J., Ison C.A., et al. A longitudinal study of bacterial vaginosis during pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:1048-53.
27. Oakeshott P., Hay P., Hay S., et al. Association between bacterial vaginosis or chlamydial infection and miscarriage before 16 weeks' gestation: prospective community based cohort study. *Br Med J* 2002; 325:1334-8.
28. Nelson D.B., Macones G. Bacterial vaginosis in pregnancy: current findings and future directions. *Epidemiol Rev* 2002; 24:102-8.
29. Schmid G.P. The epidemiology of bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 67:S17-S20.
30. Goldenberg R.L., Klebanoff M.A., Nugent R., et al. Bacterial colonization of the vagina during pregnancy in four ethnic groups: vaginal infections and prematurity study group. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:1618-21.
31. Culhane J.F., Rauth V., McCollum K.F., et al. Maternal stress is associated with bacterial vaginosis in human pregnancy. *Matern Child Health* 2001; 5:127-34.
32. Culhane J.F., Rauth V., McCollum K.F., et al. Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:1272-6.
33. Harville E.W., Hatch M.C., Zhang J. Perceived life stress and bacterial vaginosis. *J Womens Health (Larchmt)* 2005; 14:627-33.
34. Harville E.W., Savitz D.A., Dole N., et al. Psychological and biological markers of stress and bacterial vaginosis in pregnant women. *Br J Obstet Gynaecol* 2007; 114:216-23.
35. Ruiz R.J., Fullerton J., Brown C.E., Schoolfield J. Relationships of cortisol, perceived stress, genitourinary infections, and fetal fibronectin to gestational age at birth. *Biol Res Nurs* 2001; 3:39-48.
36. Hay P.E. Recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 1998; 16:769-73.
37. McDonald H.M., O'Loughlin J.A., Vigneswaran R., et al. Bacterial vaginosis in pregnancy and efficacy of short-course oral metronidazole treatment: a randomized placebo controlled trial. *Obstet Gynecol* 1994; 84:343-8.
38. Carey J.C., Klebanoff K., Hauth J., et al. Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnancy women with asymptomatic bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2000; 342:534-40.
39. Yudin M.H., Landers D.V., Meyn L., Hillier S.L. Clinical and cervical cytokine response to treatment with oral or vaginal metronidazole for bacterial vaginosis during pregnancy: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 2003; 102:527-34.
40. Hauth J.C., Goldenberg R.L., Andrews W.W., et al. Reduced incidence of preterm delivery with metronidazole and erythromycin in women with bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 1995; 333:1732-6.
41. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease treatment guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46:72-3.

42. Burtin P., Taddio A., Artburnu O., et al. Safety of metronidazole in pregnancy: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:525-9.
43. Thapa P.B., Whitlock J.A., Brockman W.K.G., et al. Prenatal exposure to metronidazole and risk of childhood cancer: a retrospective cohort study of children younger than 5 years. *Cancer* 1998; 83:1461-8.
44. Ugwumadu A., Reid F., Hay P., Manyonda I. Natural history of bacterial vaginosis and intermediate flora in pregnancy and effect of oral clindamycin. *Obstet Gynecol* 2004; 104:114-9.
45. Joesoef M.R., Hillier S.L., Wiknjosastro G., et al. Intravaginal clindamycin treatment for bacterial vaginosis: effects on preterm delivery and low birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1527-31.
46. Shennan A., Crawshaw S., Briley A., et al. A randomized controlled trial of metronidazole for the prevention of preterm birth in women positive for cervicovaginal fetal fibronectin: the PREMETS Study. *Br J Obstet Gynaecol* 2006; 113:65-74.
47. Lettieri L., Vintzileos A.M., Rodis J.F., et al. Does "idiopathic" preterm labor resulting in preterm birth exist? *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:1480-5.
48. Meis P.J., Goldenberg R.L., Mercer B., et al. The preterm prediction study: significance of vaginal infections. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1231-5.
49. Holst E., Goffeng A.R., Andersch B. Bacterial vaginosis and vaginal microorganisms in idiopathic premature labor and association with pregnancy outcome. *J Clin Microbiol* 1994; 32:176-86.
50. Martius J., Krohn M.A., Hillier S.L., et al. Relationships of vaginal *Lactobacillus* species, cervical *Chlamydia trachomatis*, and bacterial vaginosis to preterm birth. *Obstet Gynecol* 1988; 71:89-95.
51. Goldenberg R.L., Iams J.D., Mercer B.M., et al. The Preterm Prediction Study: the value of new vs standard risk factors in predicting early and all spontaneous preterm births. *Am J Public Health* 1998; 88:233-8.
52. Purwar M., Ughade S., Bhagat B., et al. Bacterial vaginosis in early pregnancy and adverse pregnancy outcome. *J Obstet Gynecol Res* 2001; 27:175-81.
53. Gravett M.C., Nelson P., DeRouenn T., et al. Independent associations of bacterial vaginosis and *Chlamydia trachomatis* infection with adverse pregnancy outcome. *JAMA* 1986; 256:1899-903.
54. Riduan J.M., Hillier S.L., Utomo B., et al. Bacterial vaginosis and prematurity in Indonesia: association in early and late pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:175-8.
55. Wennerholm U.B., Holm B., Mattsby-Baltzer I., et al. Fetal fibronectin, endotoxin, bacterial vaginosis and cervical length as predictors of preterm birth and neonatal morbidity in twin pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104:1398-404.
56. McGregor J.A., French J.I., Jones W., et al. Bacterial vaginosis is associated with prematurity and vaginal fluid mucinase and sialidase: results of a controlled trial of topical clindamycin cream. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1048-60.
57. Mullick S., Watson-Jones D., Beksinska M., et al. Sexually transmitted infections in pregnancy: prevalence, impact on pregnancy outcomes, and approach to treatment in developing countries. *Sex Transm Infect* 2005; 81:294-302.
58. Donders G.G., Van Bulck B., Caudron J., et al. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:431-7.
59. Liversedge N., Turner A., Horner P.J., et al. The influence of bacterial vaginosis on *in vitro* fertilization and embryo implantation during assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 1999; 14:2411-5.
60. Korn A.P., Bolan G., Padian N., et al. Plasma cell endometritis in women with symptomatic bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 1995; 85:387-90.
61. French J. I., McGregor J. A., Draper D., et al. Gestational bleeding, bacterial vaginosis, and common reproductive tract infections: risk for preterm birth and benefit of treatment. *Obstet Gynecol* 1999; 93:715-24.
62. Morales W.J., Schorr S., Albritton J. Effect of metronidazole in patients with preterm birth in preceding pregnancy and bacterial vaginosis: a placebo-controlled, double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:345-9.
63. Chin B.M., Lamont R.F. The microbiology of preterm labor and delivery. *Contemp Rev Obstet Gynaecol* 1997; 9:285-96.
64. Gratocos E., Figueras F., Barranco M., et al. Spontaneous recovery of bacterial vaginosis during pregnancy is not associated with an improved perinatal outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77:37-40.
65. Rosenstein I.J., Morgan D.J., Lamont R.F., et al. Effect of intravaginal clindamycin cream on pregnancy outcome and on abnormal vaginal microbial flora of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8:158-65.
66. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29:297-301.
67. Donders G.G., Bosmans E., Dekeersmaecker A., et al. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:872-8.
68. Rosenstein I.J., Morgan D.J., Sheehan M., et al. Bacterial vaginosis in pregnancy: Distribution of bacterial species in different gram-stain categories of the vaginal flora. *J Med Microbiol* 1996; 45:120-6.
69. Thorsen P., Jensen I.P., Jeune B., et al. Few microorganisms associated with bacterial vaginosis may constitute the pathologic core: a population-based microbiologic study among 3596 pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:580-7.
70. Delaney M.L., Onderdonk A.B. Nugent score related to vaginal culture in pregnant women. *Obstet Gynecol* 2001; 98:79-84.
71. Cauci S., Scrimin F., Driussi S., et al. Specific immune response against *Gardnerella vaginalis* hemolysin in patients with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 187:877-81.
72. Onderdonk A.B., Lee M.L., Lieberman E., et al.

- Quantitative microbiologic models for preterm delivery. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1073-9.
73. Usui R., Ohkuchi A., Matsubara S., et al. Vaginal lactobacilli and preterm birth. *J Perinat Med* 2002; 30:458-66.
 74. Wilks M., Wiggins R., Whiley A., et al. Identification and H₂O₂ production of vaginal lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. *J Clin Microbiol* 2004; 42:713-7.
 75. Vallor A.C., May A.M.A., Hawes S.E., Hillier S.L. Factors associated with acquisition of or persistent colonization by, vaginal lactobacilli:role of hydrogen peroxide production. *J Infect Dis* 2001; 184:1431-6.
 76. Welsh A., Nicolaides K. Cervical screening for preterm delivery. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 14:195-202.
 77. Goldenberg R.L., Iams J.D., Mercer B.M., et al. The Preterm Prediction Study:toward a multiple-marker test for spontaneous pre-term birth. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:643-51.
 78. Honest H., Bachmann L.M., Gupta J.K., et al. Accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin test in predicting risk of spontaneous preterm birth:systematic review. *Br Med J* 2002; 325:301-11.
 79. Goldenberg R.L., Mercer B.M., Meis P.J., et al. The preterm prediction study:fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1996; 87:643-8.
 80. Hellemans P., Gerris J., Verdonk P. Fetal fibronectin detection for prediction of preterm birth in low risk women. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:207-12.
 81. Lockwood C.J., Senyei A.E., Dische M.R., et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991; 325:66-74.
 82. Iams J.D., Casal D., McGregor J.A., et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:141-5.
 83. Peaceman A.M., Andrews W.W., Thorp J.M., et al. Fetal fibronectin as a predictor of preterm birth in patients with symptoms:a multicenter trial. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:13-8.
 84. Pastore L.M., Royce R.A., Jackson T.P., et al. Association between bacterial vaginosis and fetal fibronectin at 24-29 weeks' gestation. *Obstet Gynecol* 1999; 93:117-23.
 85. Goffeng A.R., Holst E., Milsom I. Fetal fibronectin and microorganisms in vaginal fluid of healthy pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996; 75:520-5.
 86. Goldenberg R.L., Thom E., Moawad A.H., et al. The preterm prediction study:fetal fibronectin, bacterial vaginosis, and peripartum infection. *Obstet Gynecol* 1996; 87:656-60.
 87. Hitti J., Hillier S.L., Agnew K.J., et al. Vaginal indicators of amniotic fluid infection in preterm labour. *Obstet Gynecol* 2001; 97:211-9.
 88. Mattsby-Baltzer I., Platz-Christensen J.J., Hosseini N., Rosen P. IL-1 β , IL-6, TNF α , fetal fibronectin, and endotoxin in the lower genital tract of pregnant women with bacterial vaginosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77:701-6.
 89. Dinarello C.A., Wolff S.M. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328:106-13.
 90. Pretorius C., Jagatt A., Lamont R.F. The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis, and preterm birth. *J Perinat Med* 2007; 35:93-9.
 91. Boggess K.A. Pathophysiology of preterm birth:emerging concepts of maternal infection. *Clin Perinatol* 2005; 32:561-9.
 92. Martin J.A., Hamilton B.E., Sutton P.D., et al. Births: final data for 2004. *Natl Vital Stat Rep* 2006; 55:1-101.
 93. McDonald H.M., O'Loughlin J.A., Vigneswaran R., et al. Impact of metronidazole therapy on preterm birth in women with bacterial vaginosis flora (*Gardnerella vaginalis*):a randomized, placebo controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104:1391-7.
 94. Vermeulen G.M., Bruinse H.W. Prophylactic administration of clindamycin 2% vaginal cream to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women with an increased recurrence risk:a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106:652-7.
 95. Lamont R.F. Antibiotics for the prevention of preterm birth. *N Engl J Med* 2000; 342:581-3.
 96. Brocklehurst P., Hannah M., McDonald H. Interventions for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2:CD000262.
 97. Goldenberg R.L. The management of preterm labor. *Obstet Gynecol* 2002; 100:1020-37.
 98. Okun N., Gronau K.A., Hannah M.E. Antibiotics for bacterial vaginosis or *Trichomonas vaginalis* in pregnancy:a systematic review. *Obstet Gynecol* 2005; 105:857-68.
 99. Duff P., Lee M., Hillier S., et al. Amoxicillin treatment of bacterial vaginosis during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1991; 77:431-5.
 100. Odendaal H.J., Popov I., Schoeman J., et al. Preterm labour – is bacterial vaginosis involved? *S Afr Med J* 2002; 92:231-4.
 101. Klebanoff M., Carey J., Hauth J.C., et al. Failure of metronidazole to prevent preterm delivery among pregnant women with asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection. *N Engl J Med* 2001; 345:487-93.
 102. Andrews W.W., Sibai B.M., Thom, E.A., et al. Randomized clinical trial of metronidazole plus erythromycin to prevent spontaneous preterm delivery in fetal fibronectin-positive women. *Obstet Gynecol* 2003; 101:847-55.
 103. Guise J.M., Mahon S.M., Aickin M., et al. Screening for bacterial vaginosis in pregnancy. *Am J Prevent Med* 2001; 20(Suppl. 1):62-72.
 104. Goepfert A.R., Goldenberg R.L., Andrews W.W., et al. The preterm Prediction Study:association between cervical interleukin 6 concentration and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184:483-8.
 105. Varma R., Gupta J.K. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy:multiple meta-analyses and dilemmas in interpretation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 124:10-4.
 106. Kurkinen-Rätty M., Vuopala S., Koskela M., et al. A randomized controlled trial of vaginal clindamycin for early pregnancy bacterial vaginosis. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107:1427-32.
 107. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51:1-82.

108. Rosenstein I.J., Morgan D.J., Lamont R.F., et al. Effect of intravaginal clindamycin cream on pregnancy outcome and on abnormal vaginal microbial flora of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8:158-65.
109. Lamont R.F., Duncan S.L.B., Mandal D., Bassett P. Intravaginal clindamycin to reduce preterm birth in women with abnormal genital tract flora. *Obstet Gynecol* 2003; 101:516-22.
110. Lamont R.F. Can antibiotics prevent preterm birth – the pro and con debate? *Br J Obstet Gynaecol* 2005; 112:67-73.
111. Ugwumadu A., Manyonda I., Reid F., Hay P. Effect of early oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery in asymptomatic women with abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis: a randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 361:983-8.
112. Larsson P.G., Fahraeus L., Carlsson B., et al. Late miscarriage and preterm birth after treatment with clindamycin: a randomized consent design study according to Zelen. *Br J Obstet Gynaecol* 2006; 113:629-37.
113. Morgan D.J., Taylor-Robinson D. Late miscarriage and preterm birth after treatment with clindamycin: a randomized consent design study according to Zelen. *Br J Obstet Gynaecol* 2006; 113:1483.
114. Leitich H., Brunbauer M., Bodner-Adler B., et al. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:752-8.
115. Cotch M.F., Hillier S.L., Gibbs R.S., Eschenbach D.A. Epidemiology and outcomes associated with moderate to heavy *Candida* colonization during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:374-80.
116. Martin D., Eschenbach D., Cotch M., et al. Double-blind placebo-controlled treatment trial of *Chlamydia trachomatis* endocervical infections in pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1997; 5:10-7.
117. Gibbs R.S., Eschenbach D.A. Use of antibiotics to prevent preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:375-80.
118. Norman K., Pattinson R., de Souza J., et al. Ampicillin and metronidazole treatment in preterm labour: a multicentre randomized controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:404-8.
119. Svare J., Langhoff-Roos J., Anderson L.F., et al. Ampicillin-metronidazole treatment in idiopathic preterm labour: a randomised controlled multicentre trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104:892-7.
120. Eschenbach D.A., Nugent R.P., Rao A.V., et al. A randomized placebo-controlled trial of erythromycin for the treatment of *Ureaplasma urealyticum* to prevent premature delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164:734-42.
121. King J., Flenady V. Antibiotics for preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 2: CD000246.
122. Kenyon S.L., Taylor D.J., Tarnow-Mordi W. Broad spectrum antibiotics for spontaneous preterm labor: The ORACLE II randomized trial. *Lancet* 2001; 357:989-94.
123. Kenyon S., Boulvain M. Antibiotics for preterm premature rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 2: CD001058.
124. Kenyon S.L., Taylor D.J., Tarnow-Mordi W. Antibiotics did not prevent adverse outcomes after preterm, prelabour of fetal membranes: The ORACLE I randomized trial. *Lancet* 2001; 357:979-88.
125. Morency A.M., Bujold E. The effect of second-trimester antibiotic therapy on the rate of preterm birth. *J Obstet Gynaecol Can* 2007; 29:35-44.
126. McDonald H., Brocklehurst P., Gordon A. Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy (Archive). *Cochrane Database of Syst Rev* 2007; 1: CD000262.

УДК 616.98:579.882

Генерализация инфекции у больных с урогенитальным хламидиозом

Н.А. Зигангирова¹, И.М. Петяев², Ю.П. Пашко¹, Е.Ю. Моргунова¹,
Л.Н. Капотина¹, Л.В. Диденко¹, Т.И. Юдина¹, С.В. Шубин³, Э.К. Джикидзе⁴,
И.М. Аршба⁴, А.Л. Гинцбург¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия;

² Cambridge Therapeutics Ltd, Кембридж, Великобритания;

³ Институт ревматологии РАМН, Москва, Россия;

⁴ ГУ НИИ медицинской приматологии, Сочи-Адлер, Россия

При хламидийной инфекции нижних и верхних отделов мочеполовой системы, а также при другой ее локализации наблюдалась циркуляция *Chlamydia trachomatis* в крови больных. У 92,3% больных с подтвержденной хламидийной инфекцией в крови *C. trachomatis* была выявлена при использовании 2 тестов: культурального метода и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выявляемые в крови больных хламидии обладали инфекционными свойствами, что может указывать на наличие еще мало изученного гематогенного пути распространения *C. trachomatis* в организме. Изучение диагностической значимости детекции возбудителя в сыворотке крови показало, что при острой хламидийной инфекции нижних отделов мочеполовой системы возбудитель одинаково эффективно выявлялся как в тканях слизистой, так и в сыворотке крови. В случае хронических инфекций урогенитального тракта,

а также при экстрагенитальной патологии частота обнаружения *C. trachomatis* в сыворотке была существенно выше: в 22,5% случаев по сравнению с 6,4% в соскобном материале при хроническом течении инфекции и в 54,9% случаев по сравнению с 31,3% в соскобном материале у артрологических больных. Возможность выявления *C. trachomatis* в сыворотке крови в случае хронических и осложненных форм хламидиоза является принципиально новым подходом для прямого определения возбудителя вне зависимости от локализации очага инфекции. В равной мере такой диагностический подход обоснован и при скрининговых обследованиях бессимптомных больных.

Ключевые слова: *Chlamydia trachomatis*, урогенитальный хламидиоз, бактериемия, гематогенный путь, персистирующие формы хламидий.

Контактный адрес:
Наиля Ахатовна Зигангирова
Тел./ факс: 499 193 61 36
Эл. почта: zigangirova@mail.ru

Generalization of Genital Chlamydia Infection

N.A. Zigangirova¹, I.M. Petyaev², Yu.P. Pashko¹, E.Yu. Morgunova¹, L.N. Kapotina¹, L.V. Didenko¹, T.I. Yudina¹, S.V. Shubin³, E.K. Gikidze⁴, I.M. Arshba⁴, A.L. Gintzburg¹

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

² Cambridge Theranostics Ltd, Cambridge, UK

³ Institute of Rheumatology of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

⁴ Research Institute of Primate Medicine, Sochi-Adler, Russia

Our study showed that chlamydiae were present in the blood from patients with genital and other chlamydial infections. Blood samples tested were positive for *C. trachomatis* in 92.3% of patients with confirmed chlamydial infection when culture and *polymerase chain reaction* (PCR) were used concomitantly. Isolated chlamydiae strains were able to cause infection, indicating the hematogenous spread of *C. trachomatis* in the human body. The pathogen was present in both the genital tract mucosa and the serum in patients with acute genital chlamydial infection. However, *C. trachomatis* was isolated much more frequently from the serum than the genital

specimens in patients with chronic genital infection or extragenital infection (25.5% vs 6.4% in chronic infection; 54.9% vs 31.3% in arthritis). Therefore, serum testing for *C. trachomatis* in patients with chronic or complicated forms of chlamydial infection is a novel approach to direct detection of the pathogen regardless of site of infection. This approach may also be appropriate for the screening of asymptomatic patients.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, genital chlamydia infection, persistence, bacteremia, hematogenous spread, persistent Chlamydiae.

Введение

Урогенитальная хламидийная инфекция является самой распространенной бактериальной инфекцией, передаваемой половым путем. По данным ВОЗ, заболеваемость урогенитальным хламидиозом за период с 2000 по 2005 гг. в развитых странах имеет тенденцию к возрастанию. Например, в Швеции заболеваемость выросла с 218 до 376 случаев на 100 тыс. населения. И это несмотря на активно предпринимаемые меры по контролю за этим заболеванием, к числу которых, в первую очередь, относится принципиальное улучшение диагностики благодаря внедрению амплификационных технологий и проведению государственных программ скрининга.

В нашей стране заболеваемость в 2003 г. была зафиксирована на уровне 100 новых случаев на 100 тыс. населения, что, по мнению специалистов, не отражает истинной, более неблагоприятной ситуации [1].

Широкое распространение хламидиоза связано с тем, что мало- и бессимптомные случаи, а также хронические хламидиозы плохо диагностируются, при этом последние представляют собой серьезную проблему с точки зрения выбора антибактериальной терапии [2–5].

Известно, что после перенесенного острого хламидиоза в большинстве случаев развивается хроническая инфекция, приводящая к нарушениям репродуктивной функции, внутриутробному инфицированию плода, патологии новорожденных [6,

7–9]. Это негативно сказывается на показателях перинатальной и детской смертности и на показателях состояния здоровья населения в целом. Помимо поражений урогенитального тракта, хламидиоз сопровождается развитием серьезных заболеваний экстрагенитальной локализации, таких как синдром Рейтера, офтальмохламидиоз, перигепатит, холецистит, тазовый перитонит. Возникает вопрос о путях распространения хламидий в организме. Известно, что основным путем распространения хламидий является каналикулярный. Гематогенный и лимфогенный пути характерны лишь для возбудителя венерической лимфогранулемы – *C. trachomatis* серовар LGV [10]. Однако случаи экстрагенитальной локализации хламидиозов и внутриутробное заражение плода трудно объяснить только каналикулярным путем распространения урогенитальных серовариантов *C. trachomatis*.

Развитие хронических хламидиозов определяется в большей степени адаптационными свойствами патогена и образованием его персистирующих форм, способных длительно выживать в условиях макроорганизма, поражать различные органы и ткани, модифицировать клеточный ответ, инактивируя защитные реакции организма. Среди них – подавление апоптоза, модуляция сигнальных путей клетки, деградация или хроническая гиперактивация транскрипционных факторов и др.

К настоящему времени детально охарактеризованы персистирующие формы хламидий, индуцированные *in vitro* на моделях клеточных культур под влиянием различных неблагоприятных воздей-

ствий [11, 12]. Их молекулярная характеристика позволила показать, что переход в персистирующее состояние регулируется, в значительной степени, на уровне транскрипции генов [12–14]. Были охарактеризованы специфические «паттерны» персистенции, связанные со снижением уровня экспрессии генов, кодирующих антигенные детерминанты, с нарушением процесса деления клеток, увеличением уровня метаболической зависимости от клетки хозяина и в то же время сохранением или усилением экспрессии генов, кодирующих факторы, модулирующие клеточный ответ [12].

Атипичные, персистирующие формы *C. trachomatis* очень часто выявляются и в клиническом материале при хроническом течении инфекции. Они могут быть выделены из материала соскоба слизистой урогенитального тракта или конъюнктивы и детектированы с помощью амплификационных методов [4, 5, 11]. Применение иммунофлуоресцентного и культурального методов существенно лимитировано из-за утраты персистирующими формами основных антигенов, в результате чего они плохо выявляются при окрашивании стандартными наборами моноклональных антител. Так как персистирующие *in vivo* хламидии практически не культивируются, это состояние патогена еще мало изучено, как с точки зрения биологических, так и молекулярно-биологических характеристик [15, 16].

Материал и методы исследования

Культуральный метод. Для культивирования *C. trachomatis* использовали монослой клеток McCoу. 1 мл сыворотки крови центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 45 мин при температуре 4 °С, осадок ресуспендировали в 1 мл транспортной среды (RPMI с добавлением 5% фетальной сыворотки, глюкозы, амфотерицина В и гентамицина). Заражение проводили в 24-луночном планшете. После заражения планшет центрифугировали при 3000 об/мин при температуре 30 °С в течение 1 часа. После инкубации в термостате (37 °С, 5% CO₂) в течение 2 часов удаляли среду и добавляли 1 мл среды с циклогексимидом. Планшет помещали в термостат (37 °С, 5% CO₂) на 72 часа. Выявление хламидий проводили двумя методами: РИФ с моноклональными антителами к ЛПС и белку МОМР, меченными ФИТЦ, и Real-time PCR с ДНК, выделенной из культуры клеток.

Метод ультратонких срезов (трансмиссионная электронная микроскопия). Препарат фиксировали по методу Ито–Карновски [17]: буферный раствор (фосфатный буфер, рН 7,8) пикриновой кислоты и глютаральдегида, с дополнительной фиксацией 1% раствором четырехоксида осмия на

какодилатном буфере и уранилацетатом (1% водный раствор), обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (50, 70, 96 и 100%), заливали в метакрилатную смолу LR White по описанной методике [18]. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB 3 с толщиной срезов 200–300 Å, помещали на никелевые сетки с формваровой подложкой.

Ультратонкие срезы окрашивали по методу E.S. Reynolds [19] и анализировали в электронном микроскопе JEM-100В.

Выделение ДНК. Для выделения ДНК из культуры клеток материал из лунки переносили в пробирку и центрифугировали при 13 000 об/мин в течение 30 мин при температуре 4 °С. Отбирали 800 мкл надосадочной жидкости. Осадок ресуспендировали в 200 мкл оставшегося супернатанта. Выделение ДНК проводили набором QIAamp DNA Blood Mini Extraction Kit (QIAGEN, Inc). ДНК выделяли из 1 мл сыворотки.

Выделение РНК из культуры клеток. Из лунки с инфицированными клетками удаляли среду и добавляли 175 мкл лизирующего буфера из набора SV Total RNA Isolation Kit (Promega). Переносили пробу в пробирку и далее выделяли в соответствии с протоколом.

Real-time PCR (ПЦР в реальном времени). Для детекции и количественного определения *C. trachomatis* в образцах использовали метод Real-time PCR. В качестве мишени была выбрана последовательность ДНК из криптоической плазмиды. Для амплификации ДНК *C. trachomatis* в локусе pLGV440 с помощью программ Primer3 и Oligo38 были определены праймеры и TaqMan зонд: CPf-5'-GGG ATT CCT GTA ACA ACA AGT CAG G-3', CPf-5'- CCT CTT CCC CAG AAC AAT AAG AAC AC-3', CHt- ROX-CTC CCA GAG TAC TTC GTG CAA GCG CTT TGA –BHQ2.

Проверку специфичности выбранных праймеров и зондов проводили с использованием поисковой системы BLAST, а также в ПЦР на образцах ДНК следующих видов микроорганизмов: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*.

При оптимизации ПЦР подбирали концентрации компонентов реакционной смеси и температурный режим амплификации, обеспечивающие максимальную чувствительность и специфичность обнаружения ДНК хламидий.

Для получения количественного стандарта амплификационные фрагменты криптоической плазмиды клонировали в составе вектора pGEM-

Таблица 1. Последовательности праймеров, выбранных для анализа экспрессии генов *C. trachomatis*

Ген	Белок	Праймеры
<i>16 S rRNA</i>	–	forward 5'-GGCGTATTTGGGCATCCGAGTAACG-3' reverse 5'-TCAAATCCAGCGGGTATTAACCGCCT-3'
<i>groEL</i>	HSP60	forward 5'-TCTGCGAACGAAGGATATGA-3' reverse 5'-ATAGTCCATTCCTGCGCCAGG-3'
<i>omp1</i>	МOMP	forward 5'-CGTTCGTTGCAGACTTACCA-3' reverse 5'-GTTCCCTCGCATAACCGAATGT-3'
<i>omcA</i>	OMP3	forward 5'-GTTGCTTCGAAGATCCATGC-3' reverse 5'-GGGCCATGTTTTAGCATCTTG-3'
<i>omcB</i>	OmcB	forward 5'-CTGCAACAGTATGCGCTTGT-3' reverse 5'-CACGCTGTCCAGAAGAATGA-3'
<i>pmpA</i>	PmpA	forward 5'-GCATTTAGCGGCAATACCAT-3' reverse 5'-TGACAATGCCATGACAGGAT-3'
<i>pmpB</i>	PmpB	forward 5'-GAAGGCGGTGCTATCTTCTCTC-3' reverse 5'-TCGCTTGCTGTTTTGAGCTTTAG-3'
<i>pmpC</i>	PmpC	forward 5'-CACCTACGACAACACCAACG-3' reverse 5'-GGAGCAATATCACCCGTCAG-3'
<i>pmpD</i>	PmpD	forward 5'-GTTAGACCAAATTCGAGATC-3' reverse 5'-AAGATTCTCCGTCACGAGGA-3'
<i>pmpE</i>	PmpE	forward -СТААСТГСТАТСТСГАТААСС-3' reverse 5'-TCACGAATCTCCACGGTAGG-3'

Т. Концентрация положительного контрольного образца составляла 1 мкг/мл.

Для контроля ингибирования реакции в тест-систему был также введен внутренний положительный контроль (плазмидная ДНК рTgt2, праймеры и зонд, меченный красителем Cy5).

ПЦР в реальном времени проводили на приборе «АНК-32» (Институт аналитического приборостроения, Санкт-Петербург). Мы использовали мультиплексную TaqMan ПЦР с двумя различными зондами, содержащими различные флуоресцентные метки на 5'-конце и гасители флуоресценции на 3'-конце.

Объем реакционной смеси составлял 25 мкл и включал: 2,5 мкл 10× ПЦР буфера, 62 мкМ MgCl₂, 6,2 мкМ DNTP, по 5 пмоль праймеров, 2,5 пмоль зонда, 2,5 ед. термостабильной полимеразы, 10 мкл ДНК. Температурно-временной профиль был следующим: денатурация 95° спиртом – 300 с; цикл (50), включающий отжиг 62° спиртом – 20 с и элонгацию 95° спиртом – 50 с.

Для количественного анализа была создана калибровка плазмиды с известной концентрацией. Метод позволял стабильно детектировать 30 копий плазмиды, что соответствует 3 хламидиям, так как одна клетка содержит 6–10 копий плазмид.

ОТ-ПЦР. Для постановки реакции обратной транскрипции использовали праймер Random hexamer и фермент M-MLV (фирма Силекс). ПЦР с полученной кДНК проводили с выбранными прай-

мерами на определенные гены (табл.1). Детекцию ДНК проводили с помощью электрофореза в агарозном геле.

Выделение ДНК из тканей. Образцы тканей гомогенизировали в 1 мл 1% раствора PBS. Полученную суспензию в объеме 300 мкл лизировали при температуре 55 °С в течение 4 часов в 300 мкл лизирующего буфера с протеиназой К (набор QIAamp DNA Blood Mini Extraction Kit, QIAGEN, Inc). Далее выделение ДНК проводили по протоколу.

Результаты исследования

Выделение *C. trachomatis* культуральным методом из сыворотки крови больных с хламидийной инфекцией. Была обследована группа больных из 40 человек с диагнозом урогенитального хламидиоза. Диагноз был поставлен на основании выявления ДНК возбудителя с помощью ПЦР в соскобном материале из уретры или цервикального канала, либо на основании положительных результатов в культуральном тесте. С целью выявления *C. trachomatis* в сыворотке крови у этих больных использовали культуральный метод.

Заражение клеток McCoу образцами сывороток проводили по стандартной методике. Через 72 часа после заражения клетки окрашивали моноклональными антителами к белку МOMP и к ЛПС. В 31 случае из 40 проанализированных сывороток был получен положительный результат. Во всех пре-

паратах выявлялись единичные, мелких и средних размеров, внутриклеточные хламидийные включения. Такие включения окрашивались используемыми моноклональными антителами значительно слабее, чем типичные включения *C. trachomatis*. По морфологии и интенсивности окрашивания моноклональными антителами выделяемые из сыворотки крови хламидии были подобны тем, которые выделяются из соскобов урогенитального тракта от больных при хронической форме инфекции. Для таких персистирующих форм *C. trachomatis*, выделяемых из клинического материала, показано снижение экспрессии ряда поверхностных антигенов, в том числе белка наружной мембраны МОМР [12].

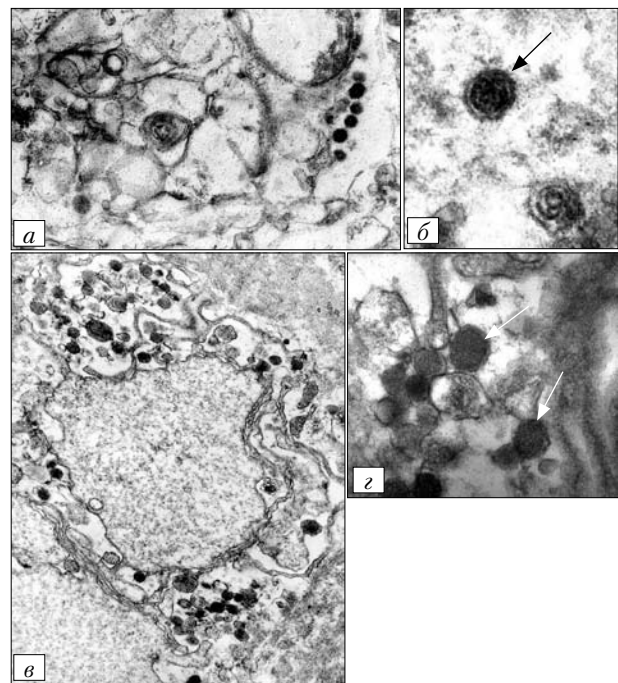
Для подтверждения результатов культурального метода и повышения специфичности выявления *C. trachomatis* детекцию возбудителя в культуре клеток, помимо стандартного метода иммунохимического анализа, проводили также с помощью ПЦР. Для этого из монослоя инфицированных клеток через 72 часа после инкубации выделяли ДНК и тестировали в ПЦР. При использовании видоспецифической тест-системы к последовательности криптогической плазмиды *C. trachomatis* в 37 образцах были получены положительные результаты. 28 образцов из 31 положительного в культуральном тесте были подтверждены с помощью ПЦР. Еще в 9 образцах среди тех, в которых не удавалось выявить включения после окрашивания моноклональными антителами, также была детектирована ДНК *C. trachomatis*. Это свидетельствует о том, что оценка результатов культурального теста с помощью ПЦР в случае выявления атипичных форм хламидий является более информативной и, безусловно, строго специфичной по сравнению с традиционным окрашиванием моноклональными антителами. Связано это с тем, что выделяемые от больных хламидии формировали включения измененной морфологии со слабо окрашивающимися структурами, что существенно снижало возможность их иммунохимического выявления.

В дальнейшем детекцию результатов культурального теста проводили с использованием двух методов: иммунофлуоресценции и ПЦР, в т.н. формате «расширенного золотого стандарта». Образцы учитывались как положительные только в тех случаях, когда получали положительный результат в ПЦР. При этом иммунофлуоресцентное окрашивание также было необходимо, так как позволяло оценивать состояние патогена, выделяемого от больных. Тем самым, применение метода «расширенного золотого стандарта» дает возможность дифференцировать различные формы инфекции: острую и хроническую. Во всех проанализирован-

ных нами случаях выделенные из сыворотки крови клинические изоляты *C. trachomatis* характеризовались измененной морфологией внутриклеточных включений, характерной для персистирующих форм.

Выросшие после первичного заражения клеток атипичные формы *C. trachomatis* были культивируемы, т.е. формировали включения при последующих пассажах в культуре клеток. Включения, вырастающие на 1-м и 2-м пассажах, имели такую же измененную морфологию, на 3-м пассаже в некоторых случаях наблюдали более яркое окрашивание анти-МОМР моноклональными антителами, что может свидетельствовать о восстановлении синтеза белка МОМР у персистирующих форм клинических изолятов при культивировании *in vitro*.

Таким образом, впервые было экспериментально установлено, что у больных с подтвержденным диагнозом урогенитального хламидиоза нижних отделов мочеполовой системы в 92,5% случаев в крови циркулирует *C. trachomatis*. Возбудитель характеризовался инфекционностью, вызывая зара-



Микрофотограмма ультратонкого среза препарата элементарных телец *C. trachomatis* серовар L-2 и элементарных телец, выделенных из сыворотки крови больного. а – *C. trachomatis* серовар L-2 – общий вид, ув. 35 000; б – *C. trachomatis* серовар L-2, ув. 60 000; в – элементарные тельца, выделенные из сыворотки больного (общий вид), ув. 32 000; г – элементарные тельца, выделенные из сыворотки больного, ув. 60 000.

Таблица 2. Анализ экспрессии генов *C. trachomatis* с помощью ОТ-ПЦР у клинических изолятов, полученных из сыворотки крови больных

Ген	Белок	Результат ОТ-ПЦР
16S рРНК	–	+
<i>groEL</i>	HSP60	+
<i>omp1</i>	МOMP	+
<i>omcA</i>	OMP3	+
<i>omcB</i>	OmсВ	–
<i>ptpA</i>	PmpA	–
<i>ptpB</i>	PmpB	+
<i>ptpC</i>	PmpC	–
<i>ptpD</i>	PmpD	+
<i>ptpE</i>	PmpE	+

жение клеток *in vitro*, т. е. можно говорить о наличии у этих больных хламидийной бактериемии. Выделяемые из сыворотки крови больных хламидии имели признаки, характерные для атипичных, персистирующих форм возбудителя, у которых изменена морфология внутриклеточных включений и экспрессия генов, кодирующих ключевые хламидийные антигены.

Электронно-микроскопическая характеристика циркулирующих в крови хламидий. Образцы сывороток больных (n=3), положительных на присутствие в них *C. trachomatis*, в объеме 15–20 мл центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 1 часа. Осадок фиксировали для приготовления ультратонких срезов по стандартной методике. Во всех образцах выявляли присутствие клеток, имеющих характерную для элементарных телец хламидий структуру (рисунок). У клеток четко выявлялась двухслойная мембрана клеточной стенки и электронно-плотная цитоплазма. Размеры клеток колебались в диапазоне от 0,2 до 0,3 мкм, т.е. в сыворотке крови больных с урогенитальным хламидиозом были выявлены элементарные тельца – внеклеточные инфекционные формы хламидий.

Анализ экспрессии генов, кодирующих белки наружной мембраны, у клинических изолятов *C. trachomatis* методом ОТ-ПЦР. Для анализа генной экспрессии у *C. trachomatis*, циркулирующих в крови больных, выделяли РНК из культуры клеток, зараженных образцами сывороток через 48 часов после инфицирования. Для постановки ОТ-ПЦР были выбраны праймеры к генам, кодирующим 8 белков наружной мембраны *C. trachomatis*, к гену белка теплового шока 60 кДа (HSP 60) и гену, кодирующему 16S рРНК. Результаты свидетельствовали о том, что выде-

ляемые из сыворотки крови атипичные формы хламидий метаболически активны (табл. 2). Было показано, что у них выявляется экспрессия генов, кодирующих 16S рРНК и HSP 60. Анализ экспрессии ряда генов, кодирующих белки наружной мембраны, позволил выявить 5 транскрибируемых генов, среди них: *omp1*, *omcA*, *ptpB*, *ptpD* и *ptpE*.

Для 3 генов экспрессия не была выявлена, в том числе для гена, кодирующего родоспецифический белок OmсВ. Как было ранее показано, для индуцированных в условиях *in vitro* персистирующих форм *C. trachomatis* [12, 13] отсутствие экспрессии этого гена является маркером персистентного состояния, так как белок OmсВ экспрессируется на поздних стадиях типичного жизненного цикла хламидий, при образовании внеклеточных форм, и не выявляется при внутриклеточном персистировании. Выяснение, экспрессируется ли этот богатый цистеином белок наружной мембраны элементарных телец у циркулирующих в крови форм *C. trachomatis*, будет более детально исследоваться в дальнейшем.

Выделение *C. trachomatis* из сыворотки крови с помощью количественного варианта ПЦР. Выявление хламидийной бактериемии у больных с урогенитальным хламидиозом позволило в дальнейшем разработать метод детекции *C. trachomatis* в сыворотке крови с помощью количественного варианта ПЦР. Для этого была отработана методика выделения ДНК из 1 мл сыворотки. Был разработан метод количественной детекции ДНК на основе Real-time PCR с использованием TaqMan зондов.

Было показано, что ДНК *C. trachomatis* выделялась из сыворотки крови в количестве от 10^2 до 5×10^3 геном-эквивалентов на 1 мл (ГЭ/мл). Специфичность выявления ДНК *C. trachomatis* в клинических образцах была подтверждена секвенированием полученных ампликонов. Кроме того, проводили амплификацию ДНК с использованием в качестве мишеней разных областей генома *C. trachomatis*: фрагменты генов *ompA*, *omcB*, 16S рРНК, *groEL*. При использовании всех праймеров были получены положительные результаты.

Выявляемая с помощью ПЦР ДНК с большой долей вероятности присутствует в составе целых бактериальных клеток, а не в свободном виде. Об этом свидетельствуют результаты экспериментов по обработке ферментом ДНК-азой образцов сыворотки до выделения ДНК. Было показано, что фермент не влияет на количество выделяемой ДНК из образцов до и после обработки ДНК-азой.

Количество выявляемой в сыворотке крови больных ДНК было существенно меньше, чем в соскобном материале. Это было показано при обсле-

Таблица 3. Сравнение количества геном-эквивалентов (ГЭ) *C. trachomatis*, выявляемых при прямом выделении из сыворотки и после культивирования в культуре клеток при использовании метода Real-time PCR

Больной	ГЭ <i>C. trachomatis</i> в 1 мл сыворотки крови	ГЭ <i>C. trachomatis</i> , выделенных из культуры клеток, после заражения монослоя 1 мл сыворотки крови
2	2,54×10 ²	1,36×10 ⁶
6	8,21×10 ²	2,54×10 ⁴
9	4,21×10 ²	4,41×10 ⁴
15	2,78×10 ²	3,27×10 ⁵
19	3,05×10 ²	9,21×10 ⁴

довании группы больных с урогенитальным хламидиозом. У 15 пациентов одновременно анализировали образец соскоба и сыворотку крови при использовании одной и той же системы Real-time PCR. Если количество выявляемой в соскобном материале ДНК составляло от 6×10² до 5×10⁴ ГЭ на пробу, то в сыворотке у этих же больных ДНК присутствовала в количествах от 10² до 2×10³ ГЭ/мл.

Использование для анализа в ПЦР сыворотки крови отличается от тестирования соскобных образцов тем, что появляется возможность определять бактериальную нагрузку благодаря применению количественного варианта ПЦР для стандартного объема образца. Определение хламидийной нагрузки у больных может оказаться важным диагностическим критерием, а также является принципиально важным для оценки эффективности проводимой терапии.

Сравнение эффективности выделения *C. trachomatis* из сыворотки крови больных культуральным методом и ПЦР. Проводили параллельное выделение *C. trachomatis* из сыворотки крови больных с симптомами урогенитальной инфекции двумя методами: культуральным и ПЦР. Всего было обследовано 197 пациентов. В 102 (51,8%) случаях возбудитель был выделен при использовании культурального метода в формате «расширенного золотого стандарта». Прямое

выявление *C. trachomatis* в сыворотке крови с помощью ПЦР дало меньшее количество положительных результатов – 87 (44,2%). Это, вероятно, связано с тем, что количество бактерий в сыворотке некоторых пациентов достаточно мало, что находится за пределами чувствительности ПЦР. В то же время, полученные результаты указывают на то, что в культуральном тесте, при заражении клеток, происходит накопление бактерий, так как циркулирующие в крови формы хламидий характеризуются культивируемостью или инфекционностью. Так, при использовании количественного варианта Real-time PCR и при сравнении количества выделяемых ГЭ хламидий при прямом выделении из сыворотки крови и после культивирования в клетках количество бактерий возрастало на 2–4 порядка (табл. 3).

Параллельное выявление *C. trachomatis* в соскобах и сыворотке крови методом ПЦР у больных с различными формами урогенитальной и экстрагенитальной инфекции. Для исследования были выбраны две группы больных с проявлениями урогенитальной инфекции: с острыми инфекциями нижних отделов мочеполовой системы – 13 человек и с хроническими инфекциями нижних и верхних отделов мочеполовой системы – 267 человек, а также группа больных с артритами – 51 человек и 124 человека с бессимптомным течением заболевания.

Таблица 4. Сравнение эффективности выделения *C. trachomatis* из соскобного материала и из сыворотки крови больных с различными формами урогенитального хламидиоза методом ПЦР

Группы больных	Число (%) больных, у которых <i>C. trachomatis</i> выявлена в соскобном материале	Число (%) больных, у которых <i>C. trachomatis</i> выявлена в сыворотке крови
С острыми инфекциями нижних отделов мочеполовой системы (n = 13)	11 (84,6)	12 (92,3)
С хроническими инфекциями нижних и верхних отделов мочеполовой системы (n = 267)	24 (6,4)	60 (22,5)
С артритами (n = 51)	16 (31,3)	28 (54,9)
С бессимптомным течением хламидиоза (n = 124)	4 (4,9)	24 (19)

У всех пациентов проводили одновременное исследование образцов соскобного материала и сыворотки крови на присутствие *C. trachomatis* методом ПЦР с использованием одной и той же системы (табл. 4).

В группе больных с острой формой уретрита и цервицита выявление ДНК *C. trachomatis* было практически одинаковым: в 84,6% случаев в соскобном материале и в 92,3% – в сыворотке крови. Однако в группе с хроническими формами инфекции, такими как хронический уретрит, простатит, цервицит, сальпингоофорит, хламидии удавалось выявлять в сыворотке крови значительно в большем проценте случаев (22,5%) по сравнению с выявлением в соскобном материале (6,4%).

Отдельно была проанализирована группа больных из 44 человек с хроническими заболеваниями урогенитального тракта и осложненными формами восходящей инфекции, у которых были собраны данные анамнеза за последние 10 лет. В соскобном материале методом ПЦР *C. trachomatis* была обнаружена у 5 человек. В сыворотке крови у этих больных методом ПЦР или культуральным методом в сочетании с ПЦР *C. trachomatis* была обнаружена у 26 человек. У всех 5 пациентов, положительных по соскобному материалу, *C. trachomatis* выявлялась также и в сыворотке. Хламидиоз в анамнезе за последние 2–10 лет был у 20 человек. Среди них *C. trachomatis* в сыворотке была обнаружена у 14 человек, в соскобе – у 3.

Таким образом, впервые было обнаружено, что у пациентов с хроническими и осложненными формами заболеваний урогенитального тракта, у которых в анамнезе был поставлен диагноз «хламидиоз», в сыворотке крови в 70% присутствует возбудитель. При этом *C. trachomatis* в соскобном материале выявлялась значительно реже – в 15% случаев.

Более эффективное выявление возбудителя в сыворотке крови было показано также для группы больных с артрологической патологией: в соскобе из урогенитального тракта *C. trachomatis* была выявлена у 16 (31,3%) пациентов, а в образцах сыворотки – у 28 (54,9%) больных.

Из 124 обследованных человек без выраженных клинических симптомов в 4 (4,9%) случаях *C. trachomatis* детектировалась в соскобном материале и в 24 (19%) случаях – в сыворотке крови.

Таким образом, при острой хламидийной инфекции нижних отделов мочеполовой системы возбудитель одинаково эффективно выявляется как в тканях слизистой, так и в сыворотке крови. В случае хронических инфекций урогенитального тракта, а также при экстрагенитальной патологии

частота обнаружения *C. trachomatis* в сыворотке была существенно выше. Это связано с тем, что в случае локальной и восходящей инфекции патоген не всегда доступен для анализа при использовании соскобного материала, при этом, как было выявлено, возбудитель присутствует в организме больного и может быть обнаружен в сыворотке крови.

Выявление *C. trachomatis* в сыворотке крови у обезьян рода макак при патологии беременности и родов. При обследовании обезьян макак-резус (*Macaca mulatta*) и макак яванских (*Macaca fascicularis*), инфицированных *C. trachomatis*, было выявлено, что возбудитель с одинаковой частотой выявлялся как в соскобном материале, так и в сыворотке крови. Из 20 самок с установленным диагнозом урогенитального хламидиоза на основании выявления *C. trachomatis* с помощью метода ПЦР в урогенитальном тракте и сыворотке крови, у 40% наблюдали патологию беременности и родов, приводящую к самопроизвольным абортam и мертворождениям. У погибших при патологических родах самок в 100% (n=4) возбудитель выявляли в тканях матки при использовании метода ПЦР и иммунофлуоресценции. Обследование органов погибших детенышей позволило показать наличие возбудителя в легких, печени и почках в 85% исследованных образцов.

Обсуждение результатов исследования

Впервые получены экспериментальные данные о возможности циркуляции *C. trachomatis* в крови больных. При хламидийной инфекции нижних и верхних отделов мочеполовой системы, а также при другой ее локализации наблюдается хламидийная бактериемия. У 92,3% больных с подтвержденной хламидийной инфекцией в крови выявлялась *C. trachomatis*.

На основании полученных данных можно предположить, что в ходе хламидийной инфекции, которая развивается в слизистой оболочке урогенитального тракта, а также в тканях суставов, хламидии способны попадать в кровь, преодолевая гистогематический барьер, и циркулировать там вне клеток. Присутствие *C. trachomatis* в сыворотке крови, по всей видимости, свидетельствует о наличии очага инфекции, как в тканях мочеполовой системы, так и иной локализации. Выявляемые в крови больных хламидии обладают инфекционными свойствами, что может указывать на наличие еще мало изученного гематогенного пути распространения *C. trachomatis* в организме.

Возможность гематогенного пути распространения возбудителя урогенитального хламидиоза, до сих пор не обнаруженного, объясняет развитие

экстрагенитальной патологии, например, артритов, среди которых доля хламидийной этиологии составляет около 40% [20, 21].

Выявленный гематогенный путь распространения *C. trachomatis* придает особую актуальность проблеме внутриутробного инфицирования плода при урогенитальном хламидиозе. Многими клиническими данными доказан высокий риск заражения плода *C. trachomatis* от инфицированной матери, который достигает 60–70% [8, 9, 22]. При этом очевидно, что наблюдаемые случаи внутриутробной инфекции с тяжелым диссеминированным поражением фетоплацентарной системы и жизненно важных органов плода (мозга, печени, легких) не могут быть обусловлены только восходящей (через плодные оболочки) инфекцией или интранатальным заражением при прохождении через родовые пути. Полученные нами экспериментальные данные при спонтанной хламидийной инфекции у обезьян рода макак доказывают возможность внутриутробного заражения плода. У самок с хламидийной бактериемией в 40% случаев наблюдали патологию беременности, приводящую к гибели плода. В 85% обследованных образцов из органов погибших детенышей выделяли *C. trachomatis*. Полученные первоначальные данные указывают на необходимость проведения дальнейших исследований роли внутриутробного инфицирования плода при хламидийной инфекции.

Была проведена оценка диагностической значимости выявления возбудителя урогенитального хламидиоза в сыворотке крови. С этой целью больных обследовали с помощью общепринятого теста постановки диагноза – выявления *C. trachomatis* в соскобах слизистой уретры или цервикального канала методом ПЦР. Одновременно проводили исследование образцов сыворотки этих больных при использовании той же ПЦР тест-системы. В обследование были включены 4 группы пациентов: с острой, хронической инфекцией, с артритами и лица с бессимптомным течением хламидиоза. Было показано, что во всех группах возбудитель чаще выявлялся в сыворотке крови, чем в урогенитальном тракте, особенно у пациентов с хроническим и бессимптомным течением, что указывает на то, что возбудитель не всегда доступен в очаге инфекции, так как при урогенитальном хламидиозе значительная роль принадлежит восходящей и экстрагенитальным инфекциям. Тем самым выявление *C. trachomatis* в сыворотке крови больных, особенно в случаях хронических и осложненных форм хламидиоза, имеет важное диагностическое значение, предлагая принципиально новый подход прямого выявления возбудителя вне зависимости от лока-

лизации очага инфекции. В равной мере такой диагностический подход обоснован и при скрининговых обследованиях бессимптомных больных.

В проведенных исследованиях на клиническом материале показано, что развитие хронической хламидийной инфекции сопровождается пролиферацией и распространением патогена в организме. Совершенно очевидно, что успешное длительное выживание возбудителя возможно благодаря наличию механизмов ухода от защитных факторов макроорганизма. И действительно, у выделяемых от больных хламидий наблюдали значительное изменение в составе основных антигенов. Так, у персистирующих хламидий, циркулирующих в крови, существенно снижалось количество иммунохимически выявляемого белка наружной мембраны МОМР, являющегося основным антигеном.

Хорошо известно, что характерной особенностью хламидиозов является возможность развития хронических состояний после перенесенного заболевания. Это определяется в большей степени адаптационными свойствами патогена и образованием его персистирующих форм, способных длительно выживать в условиях макроорганизма. Персистирующие формы хламидий определяются как жизнеспособные, но некультивируемые внутриклеточные формы бактерий, у которых блокирован процесс формирования инфекционных внеклеточных форм [11]. В силу того, что такие персистирующие формы очень часто выявляются в материалах от больных, многие хламидиологи склонны рассматривать такое внутриклеточное состояние как третью форму существования хламидий, т.е. как персистирующие формы, наряду с элементарными и ретикулярными тельцами [12].

Что же происходит в инфицированном организме и каким образом поддерживается персистентная инфекция, обусловленная внутриклеточными формами, в течение длительного времени? Известно, что *C. trachomatis* колонизирует преимущественно эпителиальные клетки, значит внутриклеточная инфекция обречена на естественную элиминацию. Одним из механизмов поддержания персистентной инфекции является ее активация, т.е. образование инфекционных элементарных тел при изменении условий, вызвавших формирование персистенции.

Мы показали наличие еще одного механизма распространения и поддержания хронической инфекции. Выявляемые в крови больных формы хламидий являются четвертой формой их существования, которая представляет собой инфекционную внеклеточную форму персистентного состояния. Инфекционность циркулирующих в крови хламидий была продемонстрирована при посеве на

чувствительные линии клеток. Из сыворотки крови больных с подтвержденным диагнозом урогенитального хламидиоза микробиологически выделялись атипичные включения, по морфологии и антигенной структуре идентичные персистирующим вариантам. Окраска моноклональными антителами к МOMP указывала на практически полное отсутствие этого основного антигена в составе клеточной стенки персистирующих форм. Выросшие атипичные включения характеризовались способностью к пролиферации, так как они давали рост таких же

атипичных включений в пассажах. Видовая принадлежность таких трудно детектируемых иммунохимическими методами хламидий подтверждалась с помощью ПЦР с праймерами к разным областям генома и секвенированием ампликонов.

Выявленная модель персистенции, формируемая *in vivo*, позволит исследовать конкретные молекулярные механизмы, обеспечивающие персистенцию патогена, что заложит основу для создания стратегии лечения, профилактики и диагностики хронических хламидиозов.

Литература

1. Гомберг М. А. Персистенция хламидийной инфекции. Клинико-морфологическая характеристика, иммунные механизмы развития, терапия. Автореф дисс докт мед наук М.: 2003.
2. Senn L., Hammerschlag M.R., Greub G. Therapeutic approaches to Chlamydia infections. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6:2281-90.
3. Wang S.A., Papp J.R., Stamm W.E., Peeling R.W., Martin D.H., Holmes K.K. Evaluation of antimicrobial resistance and treatment failures for *Chlamydia trachomatis*: a meeting report. *J Infect Dis* 2005; 191:917-23.
4. Дмитриев Г. А. Урогенитальные хламидийные инфекции. Подходы к диагностике и терапии. Оригинальные статьи ИППП 2002; (2):18-21.
5. Епифановский А.И., Сидоровия С.Ю., Бармина Г.В. и др. Диагностическое значение маркеров хламидийной инфекции при осложненной, неосложненной и бессимптомной формах урогенитального хламидиоза. Оригинальные статьи ИППП 2003; (3):21-3.
6. Darville T. *Chlamydia trachomatis* infections in neonates and young children. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16:235-44.
7. Kucinskiene V., Sutaite I., Valiukeviciene S., Milasauskiene Z., Domeika M. Prevalence and risk factors of genital *Chlamydia trachomatis* infection. *Medicina (Kaunas)* 2006; 42:885-94.
8. Mardh P. A. Influence of infection with *Chlamydia trachomatis* on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002; 16:847-64.
9. Савичева А.М., Бошмакова М.А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. Под ред. Э.К. Айламазяна. Н. Новгород: Изд-во НГМА; 1998. – 182 с.
10. Pathela P., Blank S., Schillinger J.A. Lymphogranuloma venereum: old pathogen, new story. *Curr Infect Dis Rep* 2007; 9:143-50.
11. Mpriga P., Ravaoarino M. *Chlamydia trachomatis* persistence: an update *Microbiol Res* 2006; 161:9-19.
12. Hogan R.J., Mathews S.A., Mukhopadhyay S., Summersgill J.T., Timms P. Chlamydial persistence: beyond the biphasic paradigm. *Infect Immun* 2004; 72:1843-55.
13. Polkinghorne A., Hogan R.J., Vaughan L., Summersgill J.T., Timms P. Differential expression of chlamydial signal transduction genes in normal and interferon gamma-induced persistent *Chlamydia pneumoniae* infections. *Microbes Infect* 2006; 8:61-72.
14. Wehrli W., Meyer T.F., Jungblut P.R., Muller E.C., Szczepek A.J. Action and reaction: *Chlamydia pneumoniae* proteome alteration in a persistent infection induced by iron deficiency. *Proteomics* 2004; 4:2969-81.
15. Gerard H.C., Whittum-Hudson J.A., Schumacher H.R., Hudson A.P. Synovial *Chlamydia trachomatis* up regulates expression of a panel of genes similar to that transcribed by *Mycobacterium tuberculosis* during persistent infection. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:281-4.
16. Рюмин Д.В. Особенности патогенеза, течения и лечения персистирующего урогенитального хламидиоза у супружеских пар и его последствия. Дисс. канд. мед. наук. М.: 1999. 132 с.
17. Ito S., Karnovsky M.J. Proteolytic Microdissection of smooth-surfaced vesicles of liver microsomes. *Cell Biol* 1969; 39:168-9.
18. Newman G. R., Jasani B., Williams E. D. A simple post-embedding system for the rapid demonstration of tissue antigens under the electron microscope. *Histochem J* 1983; 15:543-5.
19. Reynolds E.S.J. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Cell Biol* 1963; 17:208-212.
20. Rihl M., Zeidler H. The molecular pathogenesis of *Chlamydia*-induced arthritis: where do we stand. *Curr Rheumatol Rep* 2007; 9: 4-5.
21. Villareal C., Whittum-Hudson J.A., Hudson A.P. Persistent Chlamydiae and chronic arthritis. *Arthritis Res* 2002; 4:5-9.
22. Кебу Т.И., Джикидзе Э.К., Чикобава М.Г., Аршба И.М. Спонтанная урогенитальная инфекция у обезьян рода макак. *ЖМЭИ М.*:2006; 7-91 с.

УДК [616.24-002-02:579.8]-078

Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области

И.С. Тартаковский¹, А.Л. Гинцбург¹, Д.О. Михайлова⁴, З. Д. Бобылева⁴,
В.В. Романенко³, Т.И. Карпова¹, Ю.С. Аляпкина¹, Е.П. Омон⁴, Ю.М. Романова¹,
О.Л. Воронина^{1,5}, В.Г. Лунин¹, С.Б. Яцишина², Г.А. Шипулин², Ю.Е. Дронина¹

¹ ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия

² ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

³ ФГУ Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области, Екатеринбург, Россия

⁴ Министерство здравоохранения Свердловской области, Екатеринбург, Россия

⁵ Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

За последние годы достигнут качественный прогресс в диагностике и профилактике легионеллеза, основанный на внедрении в практику современных стандартов лабораторной диагностики и количественном мониторинге возбудителя в потенциально опасных объектах окружающей среды. Применение международных стандартов лабораторной диагностики во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области позволило в сжатые сроки установить этиологический диагноз. Особое значение имело применение иммунохроматографического метода для выявления антигена легионелл в моче, входящего в стандарты диагностики ВОЗ, что позволило подтвердить диагноз для больных, находившихся в реанимационном отделении, в течение 30 минут. Анализ потенциально опасных объектов окружающей среды в Верхней Пышме с

помощью бактериологических методов и ПЦР в реальном времени позволил установить достаточно широкое распространение *Legionella* spp. в водных образцах из различных источников, преимущественно в некультивируемом состоянии. Эпидемически значимые изоляты *Legionella pneumophila* выделяли значительно реже и предварительный скрининг образцов с помощью ПЦР в реальном времени хорошо коррелировал с результатами культурального исследования. Применение современных стандартов молекулярного типирования легионелл, разработанных Европейской рабочей группой по легионеллезу, позволил охарактеризовать аллельный профиль выделенных штаммов.

Ключевые слова: легионеллез, лабораторная диагностика, профилактика, мониторинг, ПЦР в реальном времени, окружающая среда, молекулярное типирование.

Контактный адрес:
Игорь Семенович Тартаковский
123098, Москва, Россия
ул. Гамалеи 18
НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи РАМН

Use of Laboratory Standards for Diagnosis of Legionellosis during the Outbreak of Pneumonia in Verhnyaya Pyshma (Sverdlovsk Region)

I.S. Tartakovskiy¹, A.L. Gintzburg¹, D.O. Mikhailova⁴, Z.D. Bobyleva⁴, V.V. Romanenko³, T.I. Karpova¹, Yu.S. Alyapkina¹, E.P. Omon⁴, Yu.M. Romanova¹, O.L. Voronina^{1,5}, V.G. Lunin¹, S.B. Yatzishina², G.A. Shipulin², Yu.E. Dronina¹

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

² Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

³ Sverdlovsk Regional Center for Hygiene and Epidemiology, Ekaterinburg, Russia

⁴ Ministry of Health of Sverdlovsk region, Ekaterinburg, Russia

⁵ Institute of Biochemistry named under A.N. Bach, Moscow, Russia

Over the last years there was a significant improvement in diagnostics and prophylaxis of legionellosis that is due to introduction of current standards of laboratory diagnosis and quantitative analysis of the pathogen in the environmental objects. Use of international laboratory standards during the outbreak of pneumonia in Verhnyaya Pyshma (Sverdlovsk region) made it possible to determine etiology in timely manner. Because of the use of immunochromatography (one of the WHO standard methods) for detecting legionellae antigen in urine, ICU patients had their diagnosis confirmed in 30 min. Analysis of the environmental objects in Verhnyaya

Pyshma using culture and real-time PCR demonstrated the wide distribution of *Legionella* spp. in water samples from the different sources. Epidemic *Legionella pneumophila* strains were isolated less frequently, and preliminary screening using real-time PCR showed a good correlation with the culture results. Allele profile of isolates was characterized by the molecular typing according to the modern standards (developed by European Working Group on Legionellosis).

Key words: legionellosis, laboratory diagnosis, prophylaxis, surveillance, real-time PCR, environment, molecular typing.

Введение

Несмотря на то, что легионеллезная инфекция известна уже более 30 лет, достаточно хорошо изучены различные аспекты биологии и экологии возбудителя, разработаны методы диагностики и лечения, тем не менее легионеллез часто по традиции продолжают относить к категории недавно открытых и малоизученных инфекций. Во многом эта ситуация объясняется тем, что до недавнего времени легионеллез оставался труднодиагностируемой инфекцией. Даже в США, стране «первооткрывательнице» легионелл в конце 90-х годов прошлого века, техникой бактериологического выделения легионелл из клинического материала владели сотрудники не более 50% клинических микробиологических лабораторий [1].

Качественные изменения произошли в 1999 г., когда Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ), проанализировав опыт применения различных методов диагностики в странах с относительно высоким уровнем заболеваемости легионеллезом и при крупных эпидемических вспышках инфекции, подготовила стандарты лабораторной диагностики легионеллеза [2]. С 2002 г. эти же стандарты приняты в качестве диагностических критериев Европейской рабочей группой по легионеллезу [3].

В соответствии с упомянутыми стандартами диагноз легионеллеза в случае острой инфекции

нижних дыхательных путей (клинически и рентгенологически подтвержденной) считается установленным:

- при выделении легионелл из отделяемого респираторного тракта или легочной ткани;
- при 4-кратном или более нарастании титра специфических антител к *Legionella pneumophila* в реакции непрямой иммунофлюоресценции;
- при определении специфического растворимого антигена легионелл в моче иммуноферментным или иммунохроматографическим методом.

При отсутствии сыворотки крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня антител к *L. pneumophila* (1:128 и выше) в одиночной сыворотке методом непрямой иммунофлюоресценции позволяет считать диагноз легионеллеза предположительно установленным. Аналогичным образом интерпретируются результаты, полученные на основании выявления возбудителя или его ДНК в респираторном секрете или легочной ткани с помощью прямой иммунофлюоресценции или *полимеразной цепной реакции* (ПЦР).

Стандарты лабораторной диагностики легионеллеза распространяются лишь на случаи заболеваний, вызванных штаммами *L. pneumophila* серогруппы 1. В то же время более 80% спорадических и групповых случаев легионеллеза вызваны штам-

мами данной серогруппы, а при крупных внебольничных вспышках легионеллеза этиологическое значение штаммов 1-й серогруппы показано в 98% случаев.

За менее чем 10-летний период стандартизации диагностики произошел качественный скачок в выявлении легионеллеза в мире. Так, ежегодно регистрируемое Европейской рабочей группой количество случаев легионеллеза выросло с 1160 в 1994 г. до 4588 в 2004 г. Причем основной рост произошел, начиная с 2000 г., т. е. после введения вышеупомянутых стандартов [4]. Резко возросло и число выявляемых ежегодно групповых случаев и эпидемических вспышек инфекции – не менее 100 в год. Наиболее крупные и значимые из них представлены в табл. 1.

Основная роль в повышении эффективности диагностики легионеллеза принадлежит методу определения легионеллезного антигена в моче больных.

Еще в начале 80-х годов прошлого века было показано, что в самом начале болезни (2–3-е сутки) антиген возбудителя можно обнаружить в моче больного легионеллезом, причем сам возбудитель в моче отсутствует. Антиген термостабилен и может быть выявлен в течение примерно 30 дней после начала заболевания. В 1989 г. метод был стандартизован компаниями Binox (США) и Biotest (Германия), испытан 14 лабораториями Европейских стран (включая лабораторию легионеллеза ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН) [5] и был рекомендован в качестве высокоспецифичного и чувствительного метода, позволяющего поставить окончательный диагноз на первой неделе заболевания.

Если непосредственно после введения стандарта определения антигена *L. pneumophila* в моче данный метод использовали для диагностики менее чем в 5% случаев, то в настоящее время метод применяют для постановки окончательного диагноза более чем в 90% подтвержденных случаев легионеллезной инфекции [4, 6]. Превосходство данного метода над традиционными, включенными в стандарт бактериологическим и серологическим методами состоит, прежде всего, в сроках исследования. Бактериологический метод занимает не менее 4–5 суток, причем требуются инвазивные процедуры для получения материала (бронхоскопия, биопсия), так как из мокроты, особенно после начала этиотропной терапии, возбудитель удается выделить далеко не всегда. Выявление диагностического нарастания титров антител в реакции непрямой иммунофлюоресценции возможно лишь на третьей неделе заболевания, когда проведен

курс антибиотикотерапии и исход заболевания обычно уже ясен. Необходимость исследования парных сывороток определяет ретроспективный характер диагностики легионеллеза данным методом.

Метод определения легионеллезного антигена в моче обычно применяется в двух модификациях: иммуноферментный и иммунохроматографический тест. Они сопоставимы по чувствительности, специфичности, времени анализа и применяются в зависимости от задач исследования. Иммуноферментный метод позволяет количественно оценить наличие антигена и проверить одновременно более 80 образцов мочи, что важно при расследовании крупных эпидемических вспышек легионеллеза. В то же время срок хранения тест-системы не превышает 6 мес. Иммунохроматографические разовые тесты в индивидуальной упаковке хранятся не менее 2 лет, не требуют дополнительного оборудования и используются для быстрой диагностики спорадических и групповых случаев легионеллезной инфекции.

Высокая эффективность стандартов лабораторной диагностики легионеллеза была продемонстрирована при расследовании эпидемической вспышки пневмоний в Верхней Пышме.

Материал и методы исследования

Материал от больных пневмонией (сыворотка крови, моча, аутопсийный материал легочной ткани) был собран в городской больнице (Верхняя Пышма) и доставлен для исследования в специализированные лаборатории Екатеринбурга и Москвы. Определение ранних IgM-антител к *L. pneumophila* серогруппы 1 проводили в Екатеринбургском диагностическом центре с помощью тест-системы Vircell (Испания). Мочу больных на присутствие растворимого антигена *L. pneumophila* серогруппы 1 исследовали с помощью 2 иммунохроматографических тест-систем – Binox и SAS (США) и иммуноферментной тест-системы Biotest (Германия) в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Аутопсийный материал легочной ткани исследовали с помощью количественной модификации ПЦР с видоспецифическими праймерами на *mip*-ген *L. pneumophila* в ЦНИИ эпидемиологии. Выделение культуры легионелл из клинического материала и ее последующую идентификацию проводили в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи на среде ВМРА (Oxoid, Великобритания).

Образцы окружающей среды (вода и смывы биопленок) в Верхней Пышме были отобраны сотрудниками Центра гигиены в Свердловской области и исследовались в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи в соответствии с «Методическими указаниями по выяв-

Таблица 1. Наиболее значимые эпидемические вспышки легионеллеза в последние годы

Год	Страна	Количество заболевших (умерших)
1999	Голландия	242 (25)
1999	Бельгия	93 (5)
2000	Австралия	98 (8)
2001	Норвегия	28 (9)
2002	Испания	470 (9)
2002	Англия	179 (7)
2003	Морской круиз «Ocean Monarch»	9 (2)
2003-2004	Франция	86 (17)
2004	Швеция	32 (3)
2005	Норвегия	55 (10)
2006	Испания	122 (6)
2007	Россия, Верхняя Пышма	190 (5)

лению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды» [7]. Для количественного определения ДНК легионелл в объектах окружающей среды с помощью ПЦР в реальном времени были выбраны следующие праймеры и флуоресцентные зонды: для выявления *Legionella* spp. – из последовательности гена, кодирующего 16S рРНК, для выявления *L. pneumophila* – из последовательности гена *tip*. Выбранные флуоресцентные зонды были линейными по типу TaqMan и содержали различные флуорофоры на 5'-конце и соответствующие им гасители на 3'-конце. Молекулярно-генетическое типирование выделенных штаммов легионелл осуществляли в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи в соответствии с STB протоколом Европейской рабочей группы по легионеллезу [8].

Результаты исследования

В середине июля 2007 г. в Верхней Пышме Свердловской области была выявлена эпидемическая вспышка легионеллезной инфекции, которая продолжалась около 3 недель. За период вспышки за медицинской помощью обратились более 200 человек с подозрением на легионеллезную пневмонию. Окончательный диагноз установлен 190 больным, этиологический диагноз подтвержден для 74 пациентов, в 5 случаях имел место летальный исход [9]. Большая часть случаев заболеваний приходилась на период с 15 по 25 июля. Бактериологические и вирусологические исследования, проводившиеся специалистами Минздравсоцразвития и Роспотребнадзора Свердловской области, позволили к 25 июля исключить из числа возможных

этиологических агентов все потенциальные возбудители респираторных инфекций и пневмоний, за исключением легионелл. В пользу легионеллезной этиологии вспышки свидетельствовали и предварительные результаты эпидемиологического расследования, показавшие, что начало вспышки, с учетом инкубационного периода заболевания, составлявшего от 2 до 10 дней, коррелирует с запуском воды в систему горячего водоснабжения города после нескольких недель ремонтно-профилактических работ (ремонт СуГРЭС, опрессовки).

Предварительный диагноз легионеллеза был поставлен 27 июля по результатам исследования сывороток крови 59 больных пневмонией с помощью иммуноферментной тест-системы для обнаружения иммуноглобулинов класса М к *L. pneumophila* серогруппы 1 (Vircell, Испания). Ранние IgM-антитела к *L. pneumophila* серогруппы 1 были выявлены у 25 больных. Метод определения ранних IgM-антител к возбудителю легионеллеза не входит в стандарты лабораторной диагностики инфекции, так как в первую неделю заболевания возможны как выявление IgM-антител, так и полное их отсутствие, особенно у пациентов с выраженным иммунодефицитом, а также перекрестные реакции с некоторыми возбудителями респираторных инфекций [10]. Тем не менее, положительные результаты исследований данным методом у 42,4% обследованных позволили с высокой степенью вероятности предположить у них легионеллез.

При последующем применении стандартов лабораторной диагностики легионеллеза в качестве первого шага было выбрано применение иммунохроматографического метода для определения легионеллезного антигена в моче больных. Образцы мочи были взяты у группы наиболее тяжелых больных, находившихся в реанимационном отделении (8 человек). Исследование на выявление легионеллезного антигена в моче каждого больного было проведено 29 июля с помощью двух типов иммунохроматографических тест-систем: Binax Now и SAS Legionella test (США). В течение 30 мин положительные результаты, продублированные обеими тест-системами, были получены для 5 больных. Еще у двух пациентов при использовании тест-системы Binax Now были получены положительные результаты, но при применении SAS Legionella test результаты были сомнительными. У одного больного отрицательные результаты были получены при использовании обеих тест-систем. Параллельно 29 июля секционный материал от 2 умерших больных был исследован с помощью количественной модификации ПЦР с видоспецифическими праймерами на *tip* ген *L. pneumophila*. ДНК возбудителя

Таблица 2. Методы лабораторной диагностики, применявшиеся для установления диагноза легионеллезной инфекции во время эпидемической вспышки пневмоний в Верхней Пышме 27-29 июля 2007 г.

Метод	Исследуемый материал	Обследуемый контингент больных	Количество образцов	Позитивные образцы (%)	Время, затраченное на исследование	Место проведения исследования
Определение антигена иммунохроматографическим методом*	Моча	Пациенты реанимации	8	7 (88%)	30 мин	НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (Москва)
Выделение культуры легионелл*	Секционный материал (легочная ткань)	Умершие	2	1 (50%)	5 сут	НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (Москва)
ПЦР	Секционный материал (легочная ткань)	Умершие	2	2 (100%)	4 ч	ЦНИИ эпидемиологии (Москва)
Определение IgM антител	Сыворотка крови	Все госпитализированные с диагнозом пневмония	59	25 (42,4%)	4 ч	Клинико-диагностический центр (Екатеринбург)

Примечание:* – метод входит в стандарт диагностики легионеллеза и рекомендован ВОЗ для постановки окончательного диагноза легионеллезной инфекции.

в высокой концентрации была выявлена в образцах легочной ткани пациентов, умерших от легионеллезной пневмонии.

Поскольку иммунохроматографический метод определения антигена в моче рекомендован ВОЗ и Европейской рабочей группой по легионеллезу для окончательного подтверждения диагноза легионеллезной инфекции и положительные результаты, полученные данным методом, были дополнены с помощью ПЦР материала аутопсии, то 29 июля 2007 г. можно считать датой окончательного подтверждения легионеллезной этиологии вспышки инфекции (табл. 2).

Следующим шагом применения стандартов стало использование бактериологического метода для исследования секционного материала (легочная ткань) от трех пациентов, умерших от пневмонии, и исследование 67 образцов мочи на наличие антигена с помощью количественного иммуноферментного метода (Biotest, Германия), взятых у больных 30 июля.

Применение иммуноферментного метода позволило в течение 4 ч количественно выявить легионеллезный антиген в 33 образцах мочи. Причем в образцах мочи, исследованных ранее иммунохроматографическим методом, от 7 тяжелых больных легионеллезом, находившихся в реанимационном отделении, концентрация антигена была особенно велика, превосходя уровень рекомендованного положительного контроля в 8–10 раз.

Культура *L. pneumophila* серогруппы 1 была выделена из легочной ткани 1 из 3 умерших пациентов

после 5 дней культивирования на буферном угольно-дрожжевом агаре (BCYE) с селективной добавкой, содержащей цефамандол, полимиксин и анизомицин (модификация данной среды называется также ВМРА) [10]. Последующая идентификация культуры с помощью бактериологических тестов, латекс-агглютинации, иммунофлюоресценции и ПЦР заняла 2 суток.

Помимо сбора клинического материала 30 июля были взяты на исследование образцы воды и смывы биопленок в местах наиболее вероятного присутствия легионелл в системе водоснабжения Верхней Пышмы и прилегающих окрестностей. Образцы исследовали бактериологически и с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в соответствии с «Методическими указаниями по выявлению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды». Результаты ПЦР в реальном времени свидетельствуют о широком распространении *Legionella* spp. в природных и хозяйственных водных системах Верхней Пышмы. Вместе с тем, выделение культур *Legionella* spp. лишь из одного образца воды подтверждает низкую концентрацию непатогенных видов легионелл, находящихся в воде преимущественно в некультивируемом состоянии. Присутствие *L. pneumophila* выявляли значительно реже, но в данном случае корреляция ПЦР и результатов бактериологических исследований была более выражена (табл. 3). В течение первой недели исследований культура *L. pneumophila* серогруппы 1 была выделена из биопленки с поверхности дренажного канала теплопункта 1.

Таблица 3. Результаты исследования образцов окружающей среды в Верхней Пышме с помощью ПЦР-РВ на наличие *Legionella* spp. и *Legionella pneumophila* (образцы воды и смывы биопленок взяты 30.07.2007 г.)

Описание образца	Результаты оценки методом ПЦР-РВ		Выделенная культура
	<i>Legionella</i> spp.	<i>Legionella pneumophila</i>	
Пробы воды от 30.07.07			
Дренажная вода теплопункта 1	+	–	<i>L. pneumophila</i> серогруппа 1**
Обводной трубопровод в теплопункте 2	+	–	
Дренажный колодец, промывная вода после фильтра, СУГРЭС	+	–	
Сбросный канал теплой воды	+	–	
Вода из трубы подающего трубопровода теплопункта 1	–	–	
Вода из колодца 1	+	–	<i>Legionella</i> spp.*,**
Вода из колодца 2	+	–	
Вода из фонтана № 1	+	–	
Вода из фонтана № 2	+	–	
Вода техническая промышленного предприятия	+	+	<i>L. pneumophila</i> серогруппа 3**
Смывы биопленок от 30.07.07			
Смыв с поверхности дренажного канала теплопункта 1	+	+	<i>L. pneumophila</i> серогруппа 1
Смыв из дренажной трубы из теплопункта 2	–	–	
Смыв из дренажного колодца, СУГРЭС	+	–	
Смыв из дренажного колодца над кромкой воды, СУГРЭС	–	–	
Внутренняя поверхность трубы подающего трубопровода теплопункта 1	–	–	
Смыв с сетки дренажного канала теплопункта 1	+	–	
Смыв с душевой сетки в квартире больного 1	–	–	
Смыв с душевой сетки в квартире больного 2	+	+	<i>L. pneumophila</i> серогруппа 3**

Примечание: * – изоляты выделены в сентябре-октябре 2007 г. при повторном исследовании концентратов образцов, хранившихся при 4°C с использованием обработки кислотным буфером;

** – изоляты *Legionella* spp.

При повторном исследовании в сентябре-октябре 2007 г. образцов воды и биопленок, хранившихся при 4 °С в концентрированном виде, с измененным режимом кислотной обработки, были выделены еще несколько культур *L. pneumophila* (см. табл. 3, табл. 4). Изолят *L. pneumophila* серогруппы 1 был выделен из воды дренажного канала теплопункта 1. Еще 2 культуры *L. pneumophila* серогруппы 3 были выделены, соответственно, из смыва с душевой сетки в квартире больного легионеллезом и из технической воды промышленного предприятия. Три изолята *Legionella* spp. были выделены из одного из технических колодцев системы канализации Верхней Пышмы.

Для 5 штаммов *L. pneumophila*, выделенных в районе вспышки легионеллеза, был определен аллельный профиль по протоколу STB EWGLI.

В качестве референтного использовали штамм *L. pneumophila* Philadelphia-1 (ATCC 33152).

Результаты молекулярного типирования представлены в табл. 5, где отражены номера известных последовательностей базы данных EWGLI, которым в 100% соответствует нуклеотидная последовательность фрагментов генов выделенных штаммов. Из табл. 5 видно, что все 5 штаммов уникальны и отличаются между собой по последовательностям секвенированных фрагментов ДНК. По мишени *asd* идентичны штаммы Pyshma-2 и Pyshma-5, наибольшие отличия наблюдаются между штаммами Pyshma-3 и Pyshma-4. По мишени *flaA* идентичны Pyshma-2 и Pyshma-4. Наименьшее сходство имеют референтный штамм и Pyshma-3. По фрагменту *pilE* сходны 3 штамма: Pyshma-1, Pyshma-2 и Pyshma-3, а штамм Pyshma-5 идентичен референт-

Таблица 4. Изоляты *L. pneumophila* и *Legionella* spp., выделенные при расследовании эпидемической вспышки легионеллеза в Верхней Пышме

Изолят	Серогруппа <i>L. pneumophila</i>	Исследуемый материал	Срок выделения, сутки
Pyshma 1	1	Легочная ткань (секционный материал)	5
Pyshma 2	1	Смыв биопленки с поверхности дренажного канала теплопункта	8
Pyshma 3	3	Смыв с поверхности сетки душа в квартире заболевшего легионеллезом*	6
Pyshma 4	1	Дренажная вода*	7
Pyshma 5	3	Техническая вода*	7
Pyshma 6**			6
Pyshma 7**		Вода из колодца 1 системы городского водоснабжения*	6
Pyshma 8**			8

Примечание: * – изоляты выделены в сентябре-октябре 2007 г. при повторном исследовании концентратов образцов, хранившихся при 4 °С с использованием обработки кислотным буфером.

** – изоляты *Legionella* spp.

Таблица 5. Аллельный профиль проанализированных штаммов

Штамм	Номер аллеля					
	flaA	pilE	asd	mip	mompS	proA
Philadelphia-1, ATCC 33152	3	4	1	1	14	4
Pyshma-1	2	10	18	10	2	9
Pyshma-2	6	10	3	28	9	1
Pyshma-3	6	10	15	3	19	4
Pyshma-4	6	6	3	28	9	4
Pyshma-5	1	4	3	1	1	5

ному Philadelphia-1. Мишень mip продемонстрировала идентичность Pyshma-2 и Pyshma-4, proA – полное совпадение последовательностей штаммов Philadelphia-1, Pyshma-3 и Pyshma-4. Фрагменты гена mompS совпадают по последовательности у штаммов Pyshma-2 и Pyshma-4.

По полному набору аллелей наибольшее сходство с референтным имеет штамм Pyshma-5, также относящийся к первой серогруппе. Из штаммов, выделенных в районе вспышки заболевания, наибольшее сходство имеют штаммы Pyshma-2 и Pyshma-4.

Полученные результаты свидетельствуют о достаточно широком распространении *L. pneumophila* и *Legionella* spp. в водопроводной и хозяйственной воде в Верхней Пышме. Гетерогенность популяции возбудителя в водных системах характерна для легионелл, находящихся в своей естественной среде обитания. Селекция наиболее эпидемически значимых клонов возбудителя, по-видимому, может происходить как в составе биопленок, так и при непосредственном контакте с альвеолярными макрофагами человека, приводя к наиболее тяжелым случаям пневмоний.

Заключение

Применение различных методов лабораторной диагностики легионеллеза при расследовании эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма подтвердило ключевую роль и высокую эффективность метода определения антигена легионелл в моче больных. Возможность получения достоверного результата, позволяющего поставить окончательный диагноз легионеллезной инфекции в течение 1–3 ч, открывает принципиально новые возможности для быстрой корректировки антибиотикотерапии больных с использованием макролидов, для организации эффективного эпидемиологического расследования и профилактических мероприятий.

Выделение культуры из клинического материала остается «золотым стандартом» диагностики, но требует не менее 6–7 дней. Кроме того, возможности этого метода, как и ПЦР, ограничены необходимостью инвазивных процедур, связанных с получением материала бронхоскопии и биопсии. При исследовании секционного материала от пациентов данные ограничения отсутствовали, но спе-

циальные требования к взятию и транспортировке материала на легионеллез могли оказать влияние на результаты бактериологического исследования. Культура выделена лишь из материала от одного пациента. Метод определения IgM-антител в сыворотке крови, так же как и различные модификации ПЦР, не входят в стандарты лабораторной диагностики, но их применение сыграло положительную роль для постановки предполагаемого диагноза или в качестве дополнительного подтверждающего теста. Быстрый анализ эпидемиологической ситуации с учетом возможных путей передачи возбудителя в сочетании с грамотным применением современных алгоритмов лабораторной диагностики легионеллеза позволил в течение 3 дней (27–29 июля) установить окончательный этиологический диагноз эпидемической вспышки.

Анализ распространения возбудителя в потенциально опасных водных системах Верхней Пышмы показал достаточно высокую эффективность сочетания бактериологических методов и ПЦР-РВ. Культуры легионелл были выделены в 5 образцах

окружающей среды, а с помощью ПЦР-РВ присутствие легионелл показано в 13 из 18 образцов. Результаты подтверждают необходимость организации количественного профилактического мониторинга легионелл в потенциально опасных водных объектах с особым акцентом на выявление наиболее эпидемически значимых штаммов *L. pneumophila* серогруппы 1.

Внедрение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза с особым акцентом на выявление антигена легионелл в моче больных в первые дни заболевания, наряду с организацией мониторинга возбудителя в потенциально опасных водных системах в Российской Федерации, позволит не только быстро и достоверно выявлять спорадические случаи и эпидемические вспышки легионеллезной этиологии, осуществлять своевременное и эффективное лечение больных, но и обеспечит своевременное выявление потенциальных очагов легионеллезной инфекции и проведение необходимых противоэпидемических мероприятий.

Литература

1. Edelstein P.H. Antimicrobial therapy for Legionnaires Disease: time for a change. *Ann Intern Med* 1998; 129:328-9.
2. WHO recommended surveillance standarts. 1999.
3. European Guidelines for Control and Prevention of travel associated Legionnaires Disease. 2002.
4. Legionella and the prevention of Legionellosis. WHO. 2006.
5. Harrison T., Uldum S., Alexieu-Daniel S., et al. Multi-center evaluation of the biotest legionella urinary antigen test. *Clin Microbiol Infect* 1998; 4:359-65.
6. Тартаковский И.С., Тежежникова Н.Д., Карпова Т.И. Легионеллез: проблемы и перспективы лабораторной диагностики. *Проблемы особоопасных инфекций* 2005; (2):17-23.
7. Методические указания по выявлению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды. МУК 4.2.22-17-07. 2007.
8. Gaia V., Norman Fry N. K., Afshar B., et al. Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*. *J Clin Microbiol* 2005; 43:2047-52.
9. Михайлова Д.О., Лещенко И.В., Бобылева З.Д., Скляр М.С., Бубнова Е.М. Первая вспышка легионеллезной инфекции в Свердловской области. Алгоритм диагностики и лечения. *Уральский Медицинский Журнал* 2007; 8:4-10.
10. Harrison T. Taylor A. A laboratory manual for Legionella. John Wiley & Sons Ltd. 1988.

УДК 578.832А

Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вируса гриппа А, характеризующихся различной чувствительностью к римантадину, на основе нуклеотидной последовательности М2 белка

М. Ротанов¹, Т.В. Гребенникова^{1, 2}, Е.И. Бурцева², Е.С. Шевченко²¹Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Российского Университета Дружбы Народов, Москва, Россия²НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва, Россия

Представлены результаты молекулярно-генетического анализа эпидемических штаммов вируса гриппа А, подтипов А(Н1N1) и А(Н3N2), выделенных в разные годы и характеризующихся различной чувствительностью к римантадину. Анализ проводили на основе последовательностей гена М2 белка вируса гриппа А. Для выявления мутаций в вирусном геноме проанализировано 15 штаммов подтипа А(Н3N2) и 16 А(Н1N1), изолированных на территории Российской Федерации с 1995 по 2007 гг. Анализ получен-

ных нуклеотидных последовательностей гена М2 белка позволил идентифицировать мутации, ответственные за резистентность к римантадину. Помимо известных мутаций, для каждого подтипа вируса были выявлены и дополнительные мутации, которые могут рассматриваться в качестве новых маркеров для идентификации штаммов, устойчивых к римантадину.

Ключевые слова: вирус гриппа А, римантадин, мутации.

Molecular and Genetic Analysis of Influenza A Viruses with Different Sensitivity to Rimantadine, Based on the M2 Protein Gene Sequence

M. Rotanov¹, T.V. Grebennikova^{1, 2}, E.I. Burtseva², E.S. Shevchenko²¹Department of pharmaceutical and toxicological chemistry, Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russia²D.I.Ivanovsky Research Institute of Virology, RAMS, Moscow, Russia

The paper presents the results of molecular analysis of epidemic strains of influenza A in different years and within subtypes H1 and H3, manifesting different sensitivity to rimantadine. Analysis was performed on the influenza A virus M2 protein gene sequence. In order to detect mutations in the viral genome, analysis was performed on 15 strains of subtype A(H3N2) and 16 strains of subtype A(H1N1), isolated at the Russian Federation in

1995–2007. Analysis of registered nucleotide sequences of the M2 protein enabled to identify mutations conferring resistance to rimantadine. Apart from known mutations, additional mutations were detected for each subtype which may be considered as new markers for the identification of rimantadine-resistant strains.

Key words: influenza A virus, rimantadine, mutations.

Контактный адрес:
Марина Ротанов
Email: mrotanov@mail.ru

Введение

Грипп – острое респираторное заболевание, распространенное по всему миру, на сегодняшний день является одной из наиболее актуальных медицинских и социальных проблем [1].

Ежегодно инфекциями верхних дыхательных путей заболевают 5–15% населения земного шара, а 250–500 тыс. умирают от различных осложнений [2]. Мониторинг этиологической структуры *острых респираторных вирусных инфекций* (ОРВИ) на разных стадиях эпидемического процесса показал, что в целом по России за эпидсезон по гриппу и ОРВИ в 2006–2007 гг., по данным Минздравсоцразвития России, заболевания гриппозной этиологии составили 8,1% среди общего количества обследованных больных. В период эпидемий частота заболеваний гриппозной этиологии достигала 12–16% [3].

Возбудители гриппа – РНК-содержащие вирусы, относящиеся к роду вирусов гриппа А и В, семейства Orthomyxoviridae. Высокая контагиозность и исключительная изменчивость поверхностных белков вирусов гриппа являются причинами его повсеместного распространения.

Эпидемиологическая ситуация по гриппу особенно обострилась в последние годы, когда появились случаи заражения людей вирусом гриппа птиц. Возникновение реассортантов между вирусами птиц и людей представляет собой реальную угрозу появления нового пандемического вируса [4].

В качестве основного метода борьбы с гриппом *Всемирной Организацией Здравоохранения* (ВОЗ) рекомендована вакцинация, однако эффективность ее ограничена в связи со способностью вируса гриппа подвергаться быстрым и непредсказуемым мутациям. Кроме того, при чрезвычайных эпидемических ситуациях невелика вероятность выпуска достаточного количества вакцин для защиты всего населения. Учитывая изложенное, в условиях приближающейся пандемии, незаменимую роль в защите населения будут играть этиотропные химиопрепараты. На сегодняшний день в мире для лечения и профилактики гриппа применяются препараты адамантанового ряда (**амантадин** и **римантадин**) и ингибиторы нейраминидазы (**занамивир** и **осельтамивир**) [5]. Для терапии ОРВИ и гриппа в Российской Федерации активно применяется препарат **Арбидол**, для которого установлена эффективность в отношении вирусов гриппа А и В [6].

Препараты адамантанового ряда относятся к первому поколению препаратов, эффективных против вируса гриппа А. Амантадин, благодаря дофаминергическому действию, применяется и в качестве

противопаркинсонического средства, а для терапии гриппа в большей степени нашел применение его структурный аналог – римантадин, в силу его меньшей токсичности. Мишенью препарата является мембранный белок вируса гриппа – М2, который отвечает за локальные изменения рН, необходимые для высвобождения нуклеокапсида на различных стадиях вирусной транскрипции [7, 8]. В процессе применения возможно развитие резистентности, частота которой к 5-му дню лечения может достигать 30% [9], однако в педиатрической практике описаны случаи, в которых доля резистентных штаммов А(Н3N2) в исследуемой группе достигала 80% [10]. Кроме того, за последние годы доля естественно циркулирующих штаммов, резистентных к адамантанам, составляет порядка 100% в странах Азии и достигает 90% и более в некоторых регионах США [11]. Исследования, проведенные среди циркулирующих эпидемических штаммов вирусов гриппа А в Российской Федерации, также свидетельствуют о прогрессирующем увеличении в популяции числа штаммов, резистентных к римантадину [12].

Следует отметить, что римантадин эффективно ингибировал репродукцию 3 вариантов высоковирулентного вируса гриппа птиц А(Н5N1), выделенных в 2004 году во время вспышек гриппа в Новосибирске и Кургане от диких и домашних птиц [13].

Во всем мире ведутся систематические наблюдения за изменениями в геноме вируса, связанными с резистентностью к противовирусным препаратам. Молекулярно-генетический анализ позволяет не только дать сведения о чувствительности циркулирующих штаммов к тому или иному препарату, но и охарактеризовать эволюционные изменения в геноме вируса. Среди эпидемических штаммов, циркулирующих в Российской Федерации, данный вид наблюдения до сих пор не доступен как метод регулярного контроля за чувствительностью к противогриппозным средствам. Такая информация необходима для системного мониторинга эпидемических штаммов и является ключевым звеном в разработке эффективной тактики борьбы, как с известными, так и новыми штаммами вируса гриппа.

В данной статье представлены результаты анализа аминокислотной последовательности М2 белка эпидемических штаммов вирусов гриппа с различной чувствительностью к римантадину по данным, предварительно полученным *методом иммуноферментного анализа* (ИФА) [14].

Материал и методы исследования

Штаммы, исследованные в данной работе, были получены из Лаборатории этиологии и эпи-

демологии гриппа (ГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН). Проанализировано 15 штаммов гриппа подтипа А(Н3N2) (2006-2007 гг.) и 16 А(Н1N1) (1995-2007 гг.), изолированных на территории Российской Федерации. Данные образцы также были ранее охарактеризованы методом ИФА.

Выделение вирусной РНК проводили с использованием тризола согласно методике производителя (Sigma, США).

Синтетические олигонуклеотиды. Подбор олигонуклеотидов (праймеров) проводили на компьютере Power Macintosh 6100/66 с помощью программы Amplify 1,0. Поскольку РНК сегмент, ответственный за синтез М2 белка, состоит из двух фрагментов (26 и 268 пар оснований), для проведения *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) были подобраны 2 пары праймеров. Праймеры имели специфичные места посадки в М2 гене для штаммов обоих подтипов. Синтез олигонуклеотидных праймеров произведен в ЗАО «Синтол» (Москва).

ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ/ПЦР) проводили на амплификаторе Терцик («ДНК-Технология», Россия), используя следующие параметры: 50 °С – 40 мин, 1 цикл; 95 °С – 5 мин, 52 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин, 1 цикл; 95 °С – 30 с, 52 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин, 28 циклов; 95 °С – 30 с, 52 °С – 30 с, 72 °С – 7 мин, 1 цикл. Реакционная смесь с конечным объемом 50 мкл содержала 10 мкл РНК, 10 пмоль каждого праймера, 2,5 ед. полимеразы TaqI (Life Technology, США), по 250 мкл каждого dNTP, 2,5 ед. обратной транскриптазы MMLV (Life Technology, США), 10 mM трис-НСl (рН 9,0 при 25 °С), 50 mM KCl, 0,1% Triton X-100, 1,5 mM MgCl₂.

Электрофорез ДНК в агарозном геле проводили, используя Трис-ацетатный буфер, содержащий этидия бромид в концентрации 0,4-0,5 мкг/мл. Гели анализировали, используя ультрафиолетовый трансиллюминатор ($\lambda=254$ нм).

Выделение ДНК фрагментов из геля проводили, используя набор реагентов фирмы Fermentas (США), согласно методике производителя.

Подготовка образцов к секвенированию проводилась на амплификаторе «Hybaid» (США), используя следующие параметры: 96 °С – 5 мин, 1 цикл; 96 °С – 30 с, 52 °С – 10 с, 60 °С – 4 мин, 25 циклов. Реакционная смесь с конечным объемом 10 мкл содержала 3,2 пмоль праймера, 2–10 нг ДНК матрицы, буфер – 5x трис-НСl (рН 9,0 при 25 °С), MgCl₂, Terminator Ready Reaction Mix (Applied Biosystems, США).

Секвенирование М2 фрагмента генома штаммов проводили на автоматическом секвенаторе ABI

Prism 3130 (Applied Biosystems, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Анализ нуклеотидных и соответствующих аминокислотных последовательностей проводили с помощью специализированного программного пакета DNASTAR (DNASTAR Inc., США).

Результаты исследования

По данным литературы, на сегодняшний день для штаммов, резистентных к римантадину, известны аминокислотные замены в следующих положениях гидрофобной области М2 белка: 26, 27, 30, 31, 34 [15, 16]. В табл. 1 представлены результаты секвенсов изученных нами штаммов.

Из общего числа эпидемических штаммов, полученных для анализа, резистентностью обладало 23,5% А(Н1N1) и 66,7% А(Н3N2) штаммов. Видно, что для всех штаммов обоих подтипов, которые по результатам ИФА оказались резистентными, выявлена замена в 31-м положении: аспарагин – серин. Известно, что эта замена является наиболее частой для штаммов, резистентных к римантадину. Не была выявлена ни одна из ранее описанных мутаций (26-, 27-, 30- и 34-е положения). Однако для каждого подтипа вируса выявлены замены, которые встречаются совместно с мутацией в 31-м положении. В табл. 2 представлены участки выравнивания аминокислотных последовательностей штаммов подтипа А(Н3N2), в которых присутствуют сопутствующие замены. Очевидно, что для штаммов подтипа А(Н3N2) замена аспарагин – серин совместно встречается с заменой в 51-м положении (изолейцин – валин), что показано на примере 10 резистентных штаммов.

Для штаммов подтипа А(Н1N1) замены аспарагин/20/серин и серин/31/аспарагин являются сопутствующими в 75% случаев (табл. 3). Следует отметить, что в табл. 3 представлены только замены, выявленные у большинства чувствительных/резистентных штаммов одного подтипа, однако для каждого штамма были найдены и собственные единичные мутации. Изучение этих мутаций проводится для более углубленного исследования молекулярно-генетических основ резистентности.

Обсуждение результатов исследования

Резкое увеличение количества штаммов, резистентных к римантадину, наблюдается с 2003 года, что многие страны заставило отказаться от применения данной группы препаратов в качестве химио-профилактических и терапевтических средств для лечения гриппа А. Это в первую очередь касается США и стран Азии, где уровень резистентности к данной группе средств на сегодняшний день пре-

Таблица 1. Аминокислотные замены в штаммах А(Н1N1) и А(Н3N2), изолированных в 1995–2007 гг.

Штамм	Подтип	Характеристика штамма по результатам ИФА*	Мутации в М2 белке
А/Москва/1/95		ч	Отсутствуют
А/Москва/3/95		ч	То же
А/Москва/4/95		ч	->
А/Москва/3/98		ч	->
А/Москва/6/98		ч	->
А/Москва/8/98		ч	->
А/Москва/9/98		ч	->
А/Москва/11/98		ч	->
А/Москва/17/98	Н1N1	ч	->
А/Новгород/37/98		ч	->
А/Новгород/33/98		ч	->
А/Липецк/71/00		ч	->
А/Липецк/68/00		ч	->
А/Москва/19/07		р	Ser31Asn, Asn20Ser
А/Москва/117/07		р	То же
А/Москва/124/07		р	->
А/Москва/27/07		р	Ser31Asn
А/Москва/57/06		р	Ser31Asn, Ile51Val
А/Калининград/27/06		р	То же
А/Рост-на-Дону/1/06		р	->
А/Ставрополь/2/06		р	->
А/Москва/56/06		ч	Отсутствуют
А/Москва/60/06		ч	То же
А/Калининград/29/06		ч	->
А/Рост-на-Дону/2/06	Н3N2	ч	->
А/Липецк/68/06		ч	->
А/Москва/26/07		р	Ser31Asn, Ile51Val
А/Москва/30/07		р	То же
А/Москва/39/07		р	->
А/Москва/2/07		р	->
А/Москва/17/07		р	->
А/Москва/72/07		р	->

Примечание: * р – резистентный к римантадину штамм, ч – чувствительный к римантадину штамм.

вышает 95%. Однако последние сообщения CDC (США) по данным, обработанным на январь 2007 года, указывают на мировую тенденцию снижения количества штаммов, резистентных к римантадину, среди вирусов подтипа А(Н3N2) (92% – в 2005–2006 гг., 44% – в 2006–2007 гг.) и А(Н1N1) (15,5% – в 2005–2006 гг., 3% – в 2006–2007 гг.) [11].

Тенденция снижения чувствительности к препаратам адамантанового ряда наблюдается и среди вирусов гриппа А, циркулировавших в Российской

Федерации: 9,5% в сезоне 2002–2003 гг., 38% – в 2004–2005 гг., 44% – в 2005–2006 гг. [12]. На данный момент римантадин остается включенным в список препаратов, рекомендованных Министерством здравоохранения и социального развития в качестве основных противогриппозных средств [3]. Ясно, что целесообразность дальнейшего применения римантадина в практике здравоохранения будет определена итогами эпидемического сезона в 2007–2008 гг.

Таблица 2. Примеры аминокислотных последовательностей штаммов подтипа А(Н3N2)

Штамм	Аминокислотная последовательность	
	Позиция 31	51
А/Калининград/27/06	PLVVAANIIGILHLILWILDRLFFKCVYRLFKHGLK	
А/Ставрополь/2/06	PLVVAANIIGILHLILWILDRLFFKCVYRLFKHGLK	
А/Москва/30/07	PLVVAANIIGILHLILWILDRLFFKCVYRLFKHGLK	
А/Москва/60/06	PLVVAASIIIGILHLILWILDRLFFKCIYRLFKHGLK	
А/Калининград/29/06	PLVVTASIIIGILHLILWILDRLFFKCIYRLFKHGLK	
А/Липецк/68/06	PLVVAASIIIGILHLILWILDRLFFKCIYRLFKHGLK	

Таблица 3. Примеры аминокислотных последовательностей штаммов подтипа А (Н1N1)

Штамм	Аминокислотная последовательность	
	Позиция 20	31
А/Москва/124/07	WGCRCSDDSDPLVVAANIIGIVHLILWIIDRLFSKSIYR	
А/Москва/117/07	WGCRCSDDSDPLVVAANIIGIVHLILWIIDRLFSKSIYR	
А/Москва/19/07	WGCRCSDDSDPLVVAANIIGIVHLILWIIDRLFSKSIYR	
А/Липецк/71/00	WGCRCONDSDPLVVAASIIIGILHLILWIIDRLFSKSIYR	
А/Липецк/68/00	WGCRCONDSDPLVVAASIIIGILHLILWIIDRLFSKSIYR	
А/Новгород/37/98	WECRCNGSSDPLVVAASIIIGVMHLILWIIDRLFFKCIYR	

Мировая система контроля изменений в геноме вируса гриппа направлена на регулярный мониторинг за изменениями в генах, кодирующих синтез белков-мишеней противовирусных лекарственных средств. Первые мутации, ответственные за устойчивость к препаратам адамантанового ряда, были описаны еще в 80-х годах прошлого столетия [15–17], после чего сообщения о результатах вирусологических методов определения чувствительности к римантадину стали подкрепляться молекулярно-генетическим анализом. Важность анализа молекулярных особенностей гена М2 белка подчеркнута на последней конференции, посвященной возможностям контроля за гриппозной инфекцией в мире (Options for the Control of Influenza VI, июнь 2007, Канада).

Анализ генов основных белков-мишеней должен проводиться не только с целью определения уровня чувствительности циркулирующих штаммов к той или иной группе препаратов. Учитывая чрезвычайно высокую изменчивость вирусного генома, анализ аминокислотной последовательности должен быть направлен и на выявление новых мутаций во всех генах, которые должны сопоставляться с новыми свойствами вируса. По предварительным результатам, римантадин-устойчивые штаммы, имеющие мутацию S31N, способны более интенсивно размножаться в культуре клеток МДСК. Кроме того, определение нуклеотидной последовательности всех 8 сегментов вирусного

генома выявило, что замены в генах, кодирующих поверхностные белки вируса гриппа – нейраминидазу и гемагглютинин, встречаются совместно с мутацией S31N [18].

Новая группа препаратов, эффективных против всех подтипов вируса гриппа, в том числе и А(Н5N1), представлена ингибиторами вирусного белка – нейраминидазы. Резистентность к препаратам данной группы во всем мире находится на низком уровне – около 2% [19]. Однако при ВОЗ уже создана отдельная система наблюдения за чувствительностью к ингибиторам нейраминидазы (Neuraminidase Inhibitor Susceptibility Network), поскольку на данный момент *осельтамивир считается препаратом выбора при лечении людей, зараженных вирусом гриппа птиц* [20].

Полученные нами результаты представляют начальный этап мониторинга генетических особенностей эпидемических штаммов вируса гриппа, циркулирующих в Российской Федерации, который ранее не был распространенным из-за недоступности современных методов молекулярно-генетического анализа. Присутствие мутации в 31-м положении во всех штаммах, которые методом ИФА были охарактеризованы как резистентные, позволяет и в будущем считать ее основным показателем чувствительности/резистентности при молекулярно-генетическом анализе. Мутация, выявленная во всех штаммах подтипа А(Н3N2) (изолейцин/51/ валин), позволяет рассматривать

ее в качестве потенциального маркера резистентности в силу ее совместного присутствия с заменой S31N.

В дальнейшем планируется более полная молекулярно-генетическая характеристика данных штаммов, которая в первую очередь будет направ-

лена на определение аминокислотных замен в генах нейраминидазы и гемагглютинина для сопоставления их свойств применительно к эффективности основных противовирусных препаратов и идентификации новых молекулярных маркеров резистентности.

Литература

1. Грипп. Руководство для врачей. Под ред. Карпущина Г. И. СПб.: Гиппократ; 2001. - 360 с.
2. World Health Organization. Fact sheet №211; March 2003; Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en>
3. Информационное письмо Минздравсоцразвития России от 13.06.2007. № 0100/6026-07-32 «Об итогах эпидсезона по гриппу и ОРВИ в 2006-2007 гг. и прогнозе на сезон 2007-2008 гг.»
4. Ленева И.А., Шустер А.М. Противовирусные химиопрепараты: эффективность против вирусов гриппа А подтипа H5N1. Вопросы вирусологии 2006; 5:4-7.
5. World Health Organization. WHO consultation on priority public health interventions before and during an influenza pandemic. Working group three - Antivirals-their use and availability; 2004 March 16-18; Geneva, Switzerland. Available from http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/final.pdf
6. Глушков Р.Г., Фадеева Н.И., Ленева И.А. и др. Молекулярно-биологические особенности действия Арбидола - нового противовирусного препарата. Хим.-фарм. журн. 1992; 2:8-15.
7. Ленева И.А., Глушков Р.Г., Гуськова Т.А. Лекарственные средства для химиотерапии и химиопрофилактики гриппа: особенности механизма действия, эффективность и безопасность (обзор). Хим.-фарм. журн. 2004; 11:8-14.
8. CDC. Committee on Immunization Practices (ACIP). Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory. MMWR 1997; 46:1-25. Available from <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00047346.htm>
9. Hayden F.G., Belshe R.B., Clover R.D., Hay A.J., Pyke S. Emergence and apparent transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. N Engl J Med 1989; 321:1696-702.
10. Shiraishi K., K. Mitamura, Y. Sakai-Tagawa, Goto H., Sagaya N., Kawaoka Y. High frequency of resistant viruses harboring different mutations in amantadine-treated children with influenza. J Infect Dis 2003; 188:57-61.
11. Deyde V.M., Gubareva L.V., Xu X., Shaw M, Smith C., Klimov A.I. Surveillance of resistance to adamantanes among influenza A (H3N2) and A(H1N1) viruses isolated worldwide (2005-2007). Options for the Control of Influenza VI Conference [Proceedings on CD ROM]; 2007 June 17-23; Toronto, Ontario, Canada; p. 230.
12. Burtseva E., Shevchenko E., Zaplatnikov A., Merkulova L., Slepshkin A. Influenza viruses sensitivity to antivirals in Russia. Options for the Control of Influenza VI Conference [Proceedings on CD ROM]; 2007 June 17-23; Toronto, Ontario, Canada; p.231.
13. Федякина И.Т., Ямникова С.С., Галегов Г.А., Львов Д. К. Действие противовирусных препаратов на репродукцию вируса гриппа птиц А/Н5, изолированного в России. Вопросы вирусологии 2005; (4):35-7.
14. Шевченко Е.С., Бурцева Е.И., Слепушкин А.Н. Спектр чувствительности к римантадину вирусов гриппа А, циркулировавших в эпидемических сезонах 2002-2004 гг. Вопросы вирусологии 2005; (5):32-5.
15. Belshe R.B., Smith M.N., Hall C.B., Betts R., Hay A.J. Genetic basis of resistance to rimantadine emerging during treatment of influenza virus infection. J Virol 1988; 62:1508-12.
16. Hay A.Y., Wolstenholme J., Skehel J., Smith M.N. The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine. EMBO J 1985; 4:3021-24.
17. Lamb R.A., Zabelde S.L., Richardson C.D. Influenza virus M2 protein is an integral membrane protein expressed on the infected -cell surface. Cell. 1985; 40:627-33.
18. Yi-Ying Cheng, Min-Shi Lee, Mei-Shang Ho. The Multi-country emergence of adamantane-resistant influenza A (H3) Viruses is due to a single lineage that possesses distinct internal genes. Options for the control of influenza. VI Conference [Proceedings on CD ROM]; 2007 June 17-23; Toronto, Ontario, Canada; p. 232.
19. Monto A.S., McKimm-Breschkin J.L., Macken C., et al. Detection of influenza viruses resistant to neuraminidase inhibitors in global surveillance during the first 3 years of their use. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50:2395-402.
20. World Health Organization. Fact sheet Avian Influenza. 2006 February; Available from http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/.

Список конференций

27 января – 1 февраля 2008

11th International Symposium on Current Topics in Infectious Diseases (CTID)

Гриндельвальд, Швейцария

Контактная информация:

University Medical Center Utrecht
G04.614

3584 CX Utrecht

The Netherlands

Тел: +31 30 2507625

Факс: +31 30 2541770

E-mail: Grindelwald.CTID@umcutrecht.nl

Сайт: www.ewi.med.uu.nl/CTID/

24–27 февраля 2008

Microbicides 2008

Нью-Дели, Индия

Контактная информация:

Conference Secretariat/Indian
Council of Medical Research

Тел: +91 1 126 589 493

Факс: +91 1 126 885 886

E-mail: m2008@microbicides2008.com

com

Сайт: www.microbicides2008.com

2–5 марта 2008

47th ESCMID Postgraduate Education Course EMESG «Workshop on Gene Expression during Infection»

Сиена, Италия

Контактная информация:

Piccinin M.

LAMMB, Policlinico Le Scotte

lotto 5 (piano 1) 53100 Siena, Italy

Тел: +39 0577 233 101 / +39 0577 233 299

Факс: +39 0577 233 334

E-mail: Piccinin@unisi.it

Сайт: www.escmid.org/Files/

47thESCMID_PGTW_Siena_2008_Leaflet_printed.pdf

6–8 марта 2008

Infections, Rheumatism and Autoimmunity

Милан, Италия

Контактная информация:

Guerrigero E.

Via Fatebenefratelli 19

20121 Milano - Italy

Тел: +39 02 6571200

Факс: + 39 02 6571200

E-mail: ira2008@oic.it

Сайт: www.oic.it/ira2008

13–14 марта 2008

I Приволжская конференция по антимикробной терапии

Самара, Россия

Контактная информация:

214019, Смоленск, а/я 60

Тел: (4812) 611301 / (4812) 611327

Факс: (4812) 611294

E-mail: conference@iacmac.ru

Сайт: www.antibiotic.ru/iacmac/ru/confer/

14–15 марта 2008

48th ESCMID Postgraduate Education Course «Infections with Multiresistant Pathogens»

Берлин, Германия

Контактная информация:

Pretorius H.

Charité-Universitätsmedizin Berlin

Campus Benjamin Franklin

Institute for Clinical Pharmacology and Toxicology

Garystr. 5 D-14195 Berlin, German

Тел: +49 30 8445 1772

Факс: +49 30 8445 1763

E-mail: heidi.pretorius@charite.de

Сайт: www.escmid.org/Files/

48thESCMID_PGEC_Berlin_2008_Leaflet_printed.pdf

3–4 апреля 2008

VI Научно-практическая конференция «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений»

Москва, Россия

Контактная информация:

«ИнфоМедФарм Диалог»

119034, г. Москва,

ул. Пречистенка, 28

Тел: (495) 637 41 23 / (495) 637 45 42

Факс: (495) 797-62-92

E-mail: info@infomedfarmdialog.ru

Сайт: www.infomedfarmdialog.ru

14–18 апреля 2008

XV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»

Москва, Россия

Контактная информация:

Секретариат Оргкомитета

Конгресса «Человек и лекарство»

111395, Москва, а/я № 215

Тел./Факс: (495) 267 50 04 / (495)

261 22 09

E-mail: 4075.g23@g23.relcom.ru

Сайт: www.medlife.ru

17–19 апреля 2008

ESCMID Postgraduate Education Course «Measuring, Auditing and Improving Antimicrobial Use»

Барселона, Испания

Контактная информация:

Filius M.

Erasmus University Medical Center

Rotterdam

Department of Hospital Pharmacy

PO Box 2040

3000 CA Rotterdam

The Netherlands

Тел: +31 10 463 3202

Факс: +31 10 463 2400

E-mail: p.filius@erasmusmc.nl

Сайт: www.escmid.org/sites/index_

f.aspx?par=2.3

<p>19–22 апреля 2008</p> <p>18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Барселона, Испания</p> <p>Контактная информация: 18th ESCMID 2008 Congress Secretariat с/о АКМ Congress Service P.O. Box CH-4005 Basel Switzerland Тел: +41 61 686 77 11 Факс: +41 61 686 77 88 E-mail: info@akm.ch Сайт: www.akm.ch/eccmid2008/</p>	<p>14–17 мая 2008</p> <p>8th International Meeting on Microbial Epidemiological Markers Закопане, Польша</p> <p>Контактная информация: Zabicka D. National Medicines Institute Department of Epidemiology and Clinical Microbiology Chelmska 30/34 00-725 Warsaw, Poland Тел: +48 22 851 4670 Факс: +48 22 841 2949 E-mail: immem8@cls.edu.pl Сайт: www.immem-8.org/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=16&Itemid=28</p>	<p>21–23 мая 2008</p> <p>X международный конгресс по антимикробной терапии МАКМАХ/ESCMID Москва, Россия</p> <p>Контактная информация: 214019, Смоленск, а/я 60 Тел: (4812) 611301 / (4812) 611327 Факс: (4812) 611294 E-mail: conference@iacmac.ru Сайт: www.antibiotic.ru/iacmac/ru/confer/</p>
<p>24 мая 2008</p> <p>Конференция «Актуальные аспекты современной антимикробной терапии» Смоленск, Россия</p> <p>Контактная информация: 214019, Смоленск, а/я 60 Тел: (4812) 611301 / (4812) 611327 Факс: (4812) 611294 E-mail: conference@iacmac.ru Сайт: www.antibiotic.ru/iacmac/ru/confer/</p>	<p>29–31 мая 2008</p> <p>ESCMID Conference on Fighting Infections due to MDR Gram-positives Венеция, Италия</p> <p>Контактная информация: Moschin M. Тел: +39 041 52 62 530 Факс: +39 041 52 71 129 E-mail: ico@icorganization.it Сайт: www.escmid.org/Files/ESCMID_Conference_2008_Venice_Leaflet1.pdf</p>	<p>22–26 июня 2008</p> <p>XVII Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases (XVII LISSSD) Порто-Хели, Греция</p> <p>Контактная информация: 77 Vas. Sophias Av., 115 21 Athens, GREECE Тел: +30 210 7213225 Факс: +30 210 7246180 E-mail: siorasgs@otenet.gr Сайт: www.lancefield2008.gr/contacts.asp</p>
<p>27–28 июня 2008</p> <p>ESCMID Conference on Viral Haemorrhagic Fevers Стамбул, Турция</p> <p>Контактная информация: Kalkavan S. Interium Siraselviler Caddesi Hrisovergi Apartmanı No:10/8 E-mail: kalkavan@interium.com.tr Сайт: www.escmid.org/sites/index_f.aspx?par=2.3</p>	<p>20–25 июля 2008</p> <p>ESCMID Summer School Регенсбург, Германия</p> <p>Контактная информация: Сайт: www.escmid.org/sites/index_f.aspx?par=2.2</p>	<p>16–17 октября 2008</p> <p>I Башкирская конференция по антимикробной терапии Уфа, Россия</p> <p>Контактная информация: 214019, Смоленск, а/я 60 Тел: (4812) 611301 / (4812) 611327 Факс: (4812) 611294 E-mail: conference@iacmac.ru Сайт: www.antibiotic.ru/iacmac/ru/confer/</p>

25–28 октября 2008

**48th Annual Interscience
Conference on Antimicrobial
Agents and Chemotherapy
(ICAAC) / 46th Annual Meeting
of the Infectious Diseases
Society of America (IDSA)**

Вашингтон, США

Контактная информация:

American Society for Microbiology,
1752 N Street NW, Washington DC,
20036 USA

Тел: +1 202 942 9248

E-mail: icaac@asmusa.org

Сайт: www.icaacidsa2008.org/

13–16 февраля 2009

**International Meeting on Emerg-
ing Diseases and Surveillance
(IMED 2009)**

Вена, Австрия

Контактная информация:

International Society for Infectious
Diseases

1330 Beacon Street, Suite 228,

Brookline MA 02446, USA

Тел: +1 617 277 0551

Факс: +1 617 278 9113

E-mail: info@isid.org

Сайт: imed.isid.org/

Перечень статей, опубликованных в 9-м томе 2007 г.

Методические рекомендации

Лок А.С.Ф., МакМахон Б.Дж. – Хронический гепатит В: практические рекомендации Американской ассоциации по изучению заболеваний печени.....4,292

Применение антибиотиков у детей в амбулаторной практике (Практические рекомендации)3,200

Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. – Металло- β -лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий3,211

Шпынев К.В., Кречикова О.И., Кречиков В.А., Козлов Р.С. – *Streptococcus pyogenes*: характеристика микроорганизма, выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам.....2,104

Болезни и возбудители

Белоцерковская Ю.Г., Казаков С.П., Синопальников А.И. – Бронхиальная астма, ассоциированная с *Chlamydomphila pneumoniae* инфекцией3,233

Голуб А.В., Козлов Р.С. – Антибактериальная профилактика инфекций области хирургического вмешательства в колоректальной хирургии3,244

Зигангирова Н.А., Ретуев И.М., Пашко Ю.П., Моргунова Е.Ю., Капотина Л.Н., Диденко Л.В., Юдина Т.И., Шубин С.В., Джикидзе Э.К., Аршба И.М., Гинцбург А.Л. – Генерализация инфекции у больных с урогенитальным хламидиозом4,351

Михайлов А.В., Решетько О.В., Луцевич К.А. – Фармакотерапия вульвовагинального кандидоза с позиций фармако-эпидемиологии и доказательной медицины 1,34

Решетько О.В., Луцевич К.А. – Бактериальный вагиноз при беременности: современное состояние проблемы и значение фармакотерапии4,337

Ротанов М., Гребенникова Т.В., Бурцева Е.И., Шевченко Е.С. – Молекулярно-генетический анализ эпидемических штаммов вируса гриппа А, характеризующихся различной чувствительностью к римантадину, на основе нуклеотидной последовательности М2 белка4,369

Руднов В.А., Фесенко А.А., Дрозд А.В. – Сравнительный анализ информационной значимости шкал для оценки тяжести состояния больных с внебольничной пневмонией, госпитализированных в ОРИТ4,330

Синопальников А.И., Андреева И.В., Стецюк О.У. – Пневмонии в домах престарелых: современный взгляд на проблему..... 1,4

Тартаковский И.С., Гинцбург А.Л., Михайлова Д.О., Бобылева З.Д., Романенко В.В., Карпова Т.И., Аляпкина Ю.С., Омон Е.П., Романова Ю.М., Воронина О.Л., Лунин В.Г., Яцишина С.Б., Шипулин Г.А., Дронина Ю.Е. – Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области4,361

Тартаковский И.С., Синопальников А.И. – Легионеллез: роль в инфекционной патологии человека3,219

Шпынев К.В., Кречиков В.А. – Современные подходы к диагностике стрептококкового фарингита 1,20

Антимикробные препараты

Lode H. – Левофлоксацин в сравнении с другими режимами антимикробной терапии при лечении госпитализированных пациентов с пневмонией3,268

Белоусов Ю.Б., Синопальников А.И., Яковлев С.В., Мухина М.А., Шалыгина О.В. – Эффективность и безопасность джозамицина при лечении нетяжелой внебольничной пневмонии: результаты многоцентрового клинического исследования 1,48

Белькова Ю.А., Страчунский Л.С., Кречикова О.И., Иванчик Н.В., Дехнич А.В. – Сравнительная эффек-

тивность 0,75% мази хлорамфеникола и 2% мази мупироцина при лечении в амбулаторных условиях взрослых пациентов с инфекциями кожи и мягких тканей 1,57

Веселов А.В. – Системные антимикотики: состояние и перспективы 1,73

Галкин Д.В. – Карбапенемы через 20 лет после открытия: современные микробиологические и клинические аспекты 2,133

Дзюблик А.Я. – Мидекамицин: краткий клинкофармакологический обзор 1,66

Климко Н.Н., Пестова Л.А., Колбин А.С., Афанасьев Б.В., Бойченко Э.Г., Зубаровская Н.И., Зюзгин И.С., Иванюк А.В., Карягин И.Е., Карабельская И.В., Захаров О.Д., Ларионова В.Б., Скоробогатова Е.В., Масчан М.А., Алексеева Ю.А., Скаморина О.П. – Эффективность и безопасность применения каспофунгина при инвазивном аспергиллезе у гематологических больных 2,153

Принципы присвоения международных непатентованных наименований (МНН) биологическим и биотехнологическим препаратам 2,121

Решедько Г.К. – Нетилмицин 3,253

Фармакоэпидемиология

Стриженок Е.А., Гудков И.В., Страчунский Л.С. – Применение лекарственных средств при беременности: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования 2,162

Фармакоэкономика

Страчунская Е.Я. – Фармакоэкономика хронического патологического процесса 2,176

Опыт работы

Боронина Л.Г. Блинова С.М. – Антибиотикорезистентность штаммов *H. influenzae*, выделенных в Екатеринбурге в 2000–2005 гг. у детей с инфекцией различной локализации 2,187

Живов А.В., Плеханов А.Ю., Велиев Е.И. – Современные принципы лечения протезной инфекции и их применение в имплантационной хирургии полового члена 3,279

Зайцева Е.А., Пуховская Н.М., Мусатов Ю.С., Иванов Л.И., Ермолаева С.А., Сомов Г.П. – Молекулярногенетические особенности и эпидемиологическая значимость штаммов *Listeria monocytogenes*, выделенных от беременных женщин и из абортного материала в Дальневосточном регионе России 1,81

Информация

Краткие правила для авторов 1,97; 2,195; 3,286; 4,381

Новые возможности лечения внебольничной пневмонии и бактериального синусита 1,90

Список конференций 1,93; 2,193; 3,284; 4,375

Список авторов

- Lode Н.3,268
- Алексеева Ю.А.2,153
 Аляпкина Ю.С.4,361
 Андреева И.В.1,4
 Аршба И.М.4,351
 Афанасьев Б.В.2,153
- Белоусов Ю.Б.1,48
 Белоцерковская Ю.Г.3,233
 Белькова Ю.А.1,57
 Блинова С.М.2,187
 Бобылева Э.Д.4,361
 Бойченко Э.Г.2,153
 Боронина Л.Г.2,187
 Бурцева Е.И.4,369
- Велиев Е.И.3,279
 Веселов А.В.1,73
 Воронина О.Л.4,361
- Галкин Д.В.2,133
 Гинцбург А.Л.4,351; 4,361
 Голуб А.В.3,244
 Гребенникова Т.В.4,369
 Гудков И.В.2,162
- Дехнич А.В.1,57
 Джикидзе Э.К.4,351
 Дзюблик А.Я.1,66
 Диденко Л.В.4,351
 Дрозд А.В.4,330
 Дронина Ю.Е.4,361
- Ермолаева С.А.1,81
- Живов А.В.3,279
- Зайцева Е.А.1,81
 Захаров О.Д.2,153
 Зигангирова Н.А.4,351
 Зубаровская Н.И.2,153
 Зюзгин И.С.2,153
- Иванов Л.И.1,81
 Иванчик Н.В.1,57
 Иванюк А.В.2,153
- Казаков С.П.3,233
 Капотина Л.Н.4,351
 Карабельская И.В.2,153
 Карпова Т.И.4,361
 Карягин И.Е.2,153
 Клишко Н.Н.2,153
 Козлов Р.С.2,104; 3,244
 Колбин А.С.2,153
 Кречиков В.А.1,20; 2,104
 Кречикова О.И.1,57; 2,104
- Ларионова В.Б.2,153
 Лок А.С.Ф.4,292
 Лунин В.Г.4,361
 Луцевич К.А.1,34; 4,337
- МакМахон Б.Дж.4,292
 Масчан М.А.2,153
 Михайлов А.В.1,34
 Михайлова Д.О.4,361
 Моргунова Е.Ю.4,351
 Мусатов Ю.С.1,81
 Мухина М.А.1,48
- Омон Е.П.4,361
- Пашко Ю.П.4,351
 Пестова Л.А.2,153
- Петяев И.М.4,351
 Плеханов А.Ю.3,279
 Пуховская Н.М.1,81
 Решедько Г.К.3,253
 Решетько О.В.1,34; 4,337
 Романенко В.В.4,361
 Романова Ю.М.4,361
 Ротанов М.4,369
 Руднов В.А.4,330
- Синопальников А.И.1,4; 1,48;
 3,219; 3,233
- Скаморина О.П.2,153
 Скоробогатова Е.В.2,153
 Сомов Г.П.1,81
 Степанова М.Н.3,211
 Стецюк О.У.1,4
 Страчунская Е.Я.2,176
 Страчунский Л.С.1,57; 2,162
 Стриженов Е.А.2,162
- Тартаковский И.С.3,219; 4,361
- Фесенко А.А.4,330
- Шаляпина О.В.1,48
 Шевченко Е.С.4,369
 Шевченко О.В.3,211
 Шипулин Г.А.4,361
 Шпынев К.В.1,20; 2,104
 Шубин С.В.4,351
- Эйдельштейн М.В.3,211
- Юдина Т.И.4,351
- Яковлев С.В.1,48
 Яцишина С.Б.4,361

Краткие правила для авторов

(Полная версия правил находится на сайте www.m-vesti.ru)

Материалы для публикации в журнале следует отправлять по адресу:

125284, г. Москва, а/я 74, редакция журнала «Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия»
или (предпочтительно) по электронной почте на адрес iacmac_journal@antibiotic.ru

Требования к представляемым рукописям

Краткое изложение технических требований:

- печатайте все разделы рукописи через 2 интервала между строками;
- все страницы должны быть последовательно пронумерованы;
- представляйте материалы в следующем порядке: титульная страница, резюме и ключевые слова, основной текст, выражения признательности, список литературы, таблицы (каждая на отдельном листе), рисунки (каждый на отдельном листе);
- рукопись должна содержать разрешение на воспроизведение ранее опубликованного материала и на использование иллюстраций, позволяющих опознать изображенных на них людей;
- к рукописи должен быть приложен документ, подтверждающий передачу права на публикацию;
- обязательно укажите контактный адрес с указанием фамилии и полного имени и отчества контактного лица.

Титульная страница должна содержать:

- 1) название статьи;
- 2) фамилию и инициалы каждого автора с указанием учреждения;
- 3) фамилию, имя, отчество и адрес автора, ответственного за ведение переписки, связанной со статьей.

Вторая страница

Вторая страница должна содержать резюме (объемом не более 250 слов).

Под резюме помещается подзаголовок «Ключевые слова», а после него – 3–10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному перекрестному индексированию статьи и могут быть опубликованы вместе с резюме.

Этические вопросы

Если в статье имеется описание биомедицинских

исследований на человеке, укажите, соответствовали ли они этическим стандартам Комитета по экспериментам на человеке (входящего в состав учреждения, в котором выполнялась работа, или регионального) или Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 1983 г. Не используйте фамилии, инициалы больных и номера историй болезни, особенно на рисунках или фотографиях.

Статистика

Описывайте статистические методы настолько детально, чтобы читатель, имеющий доступ к исходным данным, мог проверить полученные Вами результаты. По возможности подвергайте полученные данные количественной оценке и представляйте их с соответствующими показателями ошибок измерения и неопределенности (такими, как доверительные интервалы). Не следует полагаться исключительно на статистическую проверку гипотез, например, на использование значений p , которые не отражают всей полноты информации. Обоснуйте выбор экспериментальных объектов. Приведите детали процесса рандомизации. Опишите, какие методы были применены для обеспечения «слепого» контроля и насколько успешно.

При описании структуры исследования и статистических методов ссылки должны приводиться по возможности на известные руководства и учебники. Укажите, какие компьютерные программы, доступные для широкого пользователя, применялись в Вашей работе.

Список литературы

Нумеруйте ссылки последовательно, в порядке их первого упоминания в тексте. Обозначайте ссылки в тексте, таблицах и подписях к рисункам арабскими цифрами в квадратных скобках. Ссылки, относящиеся только к таблицам или подписям к рисункам, должны быть пронумерованы в соответствии с пер-

вым упоминанием в тексте определенной таблицы или рисунка.

Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стилем, принятом в Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>).

В ссылках на статьи, принятые в печать, но еще неопубликованные, нужно указать: «в печати». При этом авторы должны получить письменное разрешение на упоминание таких статей и подтверждение, что они действительно приняты к публикации. Информация из рукописей, представленных, но еще не принятых в печать, должна обозначаться в тексте как «неопубликованные наблюдения» (обязательно наличие согласия автора).

Не допускаются ссылки на «личные сообщения», за исключением тех случаев, когда они содержат важную информацию, которую нельзя получить другими способами.

Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Статьи в журналах

1. Стандартная журнальная статья

Если в статье не более 6 авторов, то указываются все авторы:

Vega K.J., Pina I., Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124(11):980-3.

Если в томе сохраняется последовательная нумерация страниц, как это делается в большинстве медицинских журналов, месяц выпуска и номер журнала не указываются.

Если в статье более 6 авторов, перечислите первых 3 автора и добавьте «и соавт. (et al.)»:

Parkin-D.M., Clayton-D., Black-R.J., et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 years follow up. *Br J Cancer* 1996; 73:1006-12.

2. Организация в качестве автора

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:282-4.

3. Автор не указан

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

4. Статья написана не на английском языке

Примечание: НМБ переводит название статьи на английский язык, помещает его в квадратные скобки и добавляет сокращенное название языка статьи.

Отечественные статьи указываются на русском языке.

5. Том с приложением

Shen H.M., Zhang Q.F. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ*

Health Perspect 1994; 102 (Suppl 1):275-82.

6. Номер с приложением

Payne D.K., Sullivan M.D., Massie M.J. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 231 (Suppl 2):89-97.

7. Том, разделенный на части

Ozben T., Nacitarhan S., Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3):303-6.

8. Номер, разделенный на части

Poole G.H., Mills S.M. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994; 107 (986 Pt 1):377-8.

9. Журнал, номера которого не объединяются в тома

Turan I., Wredmark T., Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320):110-4.

10. Журнал без деления на тома или номера

Browell D.A., Lennard T.W. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

11. Нумерация страниц римскими цифрами

Fisher G.A., Sikic B.I. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9 (2):XI-XII.

12. Три статьи, указываемый при необходимости

Enzensberger W., Fisher P.A. Metronome in Parkinson's disease [letter]. *Lancet* 1996; 347:1337.

Clement J., De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [abstract]. *Kidney Int* 1992; 42:1285.

13. Статья, содержащая опровержение

Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey C.E., Schwarzman A.L., Rise M.L., Seyfried T.N. In: *Nat Genet* 1994; 6:426-31] *Nat Genet* 1995; 11:104.

14. Статья с опубликованным впоследствии опровержением

Liou G.I., Wang M., Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retracted in *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:3127]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:1083-8.

15. Статья с последующим опубликованием исправленной части или списка опечаток

Hamlin J.A., Kahn A.M. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [published erratum appears in *West J Med* 1995; 162:278]. *West J Med* 1995; 162:28-31.

Книги и другие монографии

16. Физические лица в качестве авторов

Ringsven M.K., Bond D. Gerontology and leader-

ship skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

17. *Редакторы, составители в качестве авторов*

Norman I.J., Redfem S.J., editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

18. *Организация в качестве автора и издателя*

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

19. *Глава в книге*

Phillips S.J., Whisnant J.P. Hypertension and stroke. In: Laragh J.H., Brenner B.M., editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

20. *Материалы конференции*

Kimura J., Shibasaki H., editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15–19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

21. *Доклад на конференции*

Bengtsson S., Solheim B.G. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun K.C., Degoulet P., Piemme T.E., Rienhoff O., editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6–10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North Holland; 1992. p. 1561-5.

22. *Научный или технический отчет*

Изданный финансирующей организацией:

Smith P., Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSI-GOEI69200860.

Изданный исполняющей организацией:

Field M.J., Tranquada R.E., Feasley J.C., editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

23. *Диссертация*

Kaplan S.J. Posthospital home health care: the elderly's access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

24. *Патент*

Larsen C.E., Trip R., Johnson C.R., inventors; No-voste Corporation, assignee. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 Jun 25.

Другие опубликованные материалы

25. *Газетная статья*

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution:

study estimates 50 000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

26. *Аудио- и видеоматериалы*

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

27. *Юридические материалы*

Публичное право:

Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183, 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

Законопроект:

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1st Sess. (1995).

Кодекс Федеральных правил:

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.25.7 (1995).

Материалы слушания:

Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms:

Hearings Before the subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm. on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).

28. *Карта*

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [demographic map]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.

29. *Библия*

The Holy Bible. King James Version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

30. *Словари и аналогичные издания*

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119-20.

31. *Классическая литература*

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13–16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Неопубликованные материалы

32. *В печати*

Примечание: вместо формулировки «в печати» НМБ предпочитает формулировку «готовится к выходу», так как не все статьи будут напечатаны.

Leshner A.I. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. In press 1996.

Электронные материалы

33. *Журнальная статья в электронном формате*

Morse S.S. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1): [24 screens]. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

34. *Монография в электронном формате*

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph

on CD ROM]. Reeves J.P.T., Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

35. *Компьютерный файл*

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Таблицы и рисунки

Печатайте каждую таблицу/рисунок на отдельном листе.

Все таблицы/рисунки должны быть озаглавлены и пронумерованы в порядке первого упоминания в тексте. Все разъяснения следует помещать в примечаниях (сносках), а не в названии таблицы/рисунка.

Убедитесь, что все таблицы/рисунки упомянуты в тексте.

Если Вы используете данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, получите на это разрешение и полностью приведите источник.

Единицы измерения

Измерения длины, высоты, ширины и объема должны представляться в метрических единицах (метр, килограмм, литр) или в их десятичных долях.

Температуру следует приводить в градусах Цельсия, а артериальное давление – в миллиметрах ртутного столба.

Все гематологические и биохимические показатели должны представляться в единицах метрической системы (Международной системы единиц – SI).

Сокращения и символы

Используйте только стандартные сокращения (аббревиатуры). Не применяйте сокращения в названии статьи и в резюме. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому применению этого сокращения в тексте (если только это не стандартная единица измерения).