

ISSN 1684-4386

**К**линическая  
**М**икробиология и  
**А**нтимикробная  
**Х**имиотерапия

**2016, Том 18, № 4**

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский  
институт антимикробной  
химиотерапии

ФГБОУ ВО СГМУ  
Минздрава России

Учредитель:

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной химиотерапии

Издатель:

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

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

Подписные индексы:

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

Адрес для корреспонденции:

127434, г. Москва,  
ул. Складочная, д. 3 стр. 3,  
ООО «Издательский дом «М-Вести»

Адрес электронной почты:  
cmac@antibiotic.ru

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

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

Присланные в редакцию статьи проходят  
рецензирование

Мнение редакции может не совпадать  
с точкой зрения авторов публикуемых  
материалов

Ответственность за достоверность  
рекламных публикаций несут  
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал  
обязательна

© Клиническая микробиология  
и антимикробная химиотерапия

## Содержание

### Болезни и возбудители

Д.В. Тапальский — Препараты бактериофагов и комбинации  
антибиотиков: *in vitro* активность в отношении изолятов  
*Pseudomonas aeruginosa* ST235 с экстремальной  
антибиотикорезистентностью ..... 242

### Антимикробные препараты

А.В. Веселов — Новые лекарственные формы позаконазола:  
краткий клинико-фармакологический обзор ..... 249

Д.А. Попов, Н.А. Зубарева, А.В. Дехнич — Обзор доказательных данных  
по применению даптомицина при грамположительных инфекциях ..... 270

### Антибиотикорезистентность

А.А. Кубанов, М.Р. Рахматулина, В.С. Соломка, К.И. Плахова,  
А.В. Честков, Н.П. Петрова, Д.Г. Дерябин — Антибиотикорезистентность  
*Neisseria gonorrhoeae* в Российской Федерации:  
современные тенденции. .... 282

Л.Г. Морозова, О.К. Поздеев, А.О. Поздеева,  
Л.В. Кипенская, Е.В. Муравьева — Чувствительность к антибактериальным  
препаратам изолятов *Helicobacter pylori*, выделенных от пациентов  
с предраковыми и онкологическими заболеваниями желудка ..... 291

### Опыт работы

Д.А. Попов, Е.А. Надточей, Т.Ю. Вострикова,  
С.Т. Овсеенко — Ускоренные методы идентификации положительных  
гемокультур с применением MALDI-TOF масс-спектрометрии ..... 296

А.В. Ляпунов, М.А. Хаснатинов, Э.Л. Манзарова,  
Д.В. Егорова, Г.А. Данчинова — Опыт применения метода ПЦР  
в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся  
иксодовыми клещами ..... 308

### Информация

Перечень статей, опубликованных в 2016 г. .... 313

Список авторов ..... 315

ISSN 1684-4386

**C**linical  
**M**icrobiology and  
**A**ntimicrobial  
**C**hemotherapy

**2016, Vol. 18, 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 2,000

Corresponding Address:  
Journal «Clinical Microbiology  
and Antimicrobial Chemotherapy»,  
Russia, 127018, Moscow  
Skladochnaya st. 3, build. 3  
Email: cmac@antibiotic.ru

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

Peer reviewed

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

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

All rights reserved

Proper citation is required

# Contents

## Diseases and Pathogens

- D.V. Tapalskiy — Bacteriophage Preparations and Antibiotic Combinations:  
*In vitro* Activity Against Extensively Drug-Resistant Isolates  
of *Pseudomonas aeruginosa* ST235 ..... 242

## Antimicrobials

- A.V. Veselov — New Drug Formulations of Posaconazole: Brief Clinical  
Pharmacology Review ..... 249
- D.A. Popov, N.A. Zubareva, A.V. Dekhnich — Evidence Based Review  
on Daptomycin Use in the Treatment of Gram(+) Infections ..... 270

## Antimicrobial Resistance

- A.A. Kubanov, M.R. Rakhmatulina, V.S. Solomka, K.I. Plakhova,  
A.V. Chestkov, N.P. Petrova, D.G. Deryabin — Current Trends  
in Antimicrobial Resistance of *Neisseria gonorrhoeae*  
in Russian Federation ..... 282
- L.G. Morozova, O.K. Pozdeev, A.O. Pozdeeva,  
L.V. Kipenskaya, E.V. Muravyeva — Antimicrobial Susceptibility  
of *Helicobacter pylori* Isolates from Patients with Gastric Cancer  
and Precancer ..... 291

## Personal Experience

- D.A. Popov, E.A. Nadtochey, T.Yu. Vostrikova, S.T. Ovseenko — Accelerated  
Techniques of Pathogen Identification from Positive Blood Cultures  
by MALDI-TOF Mass Spectrometry ..... 296
- A.V. Lyapunov, M.A. Hasnatinov, E.L. Manzarova,  
D.V. Egorova, G.A. Danchinova — Real-Time PCR for the Diagnosis  
of Tick-Born Infections ..... 308

## Information

- List of Articles, published in 2016 ..... 313
- List of Authors ..... 315

Главный редактор: А.И. Синопальников	Москва	Editor-in-Chief: A.I. Sinopalnikov	Moscow
Исполнительный директор: Г.Г. Пискунов	Москва	Production Manager: G.G. Piskunov	Moscow
Зам. главного редактора: А.В. Дехнич	Смоленск	Deputy Editor-in-Chief: A.V. Dekhnich	Smolensk
Ответственный секретарь: А.В. Веселов	Смоленск	Editorial Manager: A.V. Veselov	Smolensk

Редакционная коллегия:		Editorial Board:	
Г.Е. Афиногенов	С.-Петербург	G.E. Afinogenov	St.-Petersburg
А.А. Визель	Казань	A.A. Vizel	Kazan
Н.А. Ефименко	Москва	N.A. Efimenko	Moscow
Л.К. Катосова	Москва	L.K. Katosova	Moscow
Н.Н. Клишко	С.-Петербург	N.N. Klimko	St.-Petersburg
Р.С. Козлов	Смоленск	R.S. Kozlov	Smolensk
Ю.В. Лобзин	С.-Петербург	Ju.V. Lobzin	St.-Petersburg
В.В. Малеев	Москва	V.V. Maleev	Moscow
Э.А. Ортенберг	Тюмень	E.A. Ortenberg	Tjumen
В.И. Петров	Волгоград	V.I. Petrov	Volgograd
В.В. Покровский	Москва	V.V. Pokrovskiy	Moscow
М.Н. Преображенская	Москва	M.N. Preobrazhenskaya	Moscow
В.А. Руднов	Екатеринбург	V.A. Rudnov	Ekaterinburg
А.М. Савичева	С.-Петербург	A.M. Savicheva	St.-Petersburg
С.В. Сидоренко	Москва	S.V. Sidorenko	Moscow
И.С. Тартаковский	Москва	I.S. Tartakovski	Moscow
А.А. Тотолян	С.-Петербург	A.A. Totoljan	St.-Petersburg
А.А. Фирсов	Москва	A.A. Firsov	Moscow
Г.Я. Ценева	С.-Петербург	G.Ya. Tseneva	St.-Petersburg
С.Б. Якушин	Смоленск	S.B. Yakushin	Smolensk

Международный редакционный совет:		International Advisory Board:	
П. Аппельбаум	Херши, США	P. Appelbaum	Hershey, USA
Дж. Бартлет	Балтимор, США	J. Bartlett	Baltimore, USA
И. Березняков	Харьков, Украина	I. Bereznyakov	Kharkov, Ukraine
Х. Гарау	Барселона, Испания	J. Garau	Barcelona, Spain
Н. Дои	Ниигата, Япония	N. Doi	Niigata, Japan
Ж. Занель	Манитоба, Канада	G. Zhanel	Manitoba, Canada
Э. Каплан	Миннеаполис, США	E. Kaplan	Minneapolis, USA
Д. Корналия	Верона, Италия	G. Cornaglia	Verona, Italy
С. Леви	Бостон, США	S. Levy	Boston, USA
Д. Ливермор	Лондон, Великобритания	D. Livermore	London, UK
Т. Мацеи	Флоренция, Италия	T. Mazzei	Florence, Italy
Т. Мацумото	Китакуши, Япония	T. Matsumoto	Kitakyushu, Japan
К. Набер	Штраубинг, Германия	K. Naber	Straubing, Germany
К. Норд	Гудинге, Швеция	C. Nord	Huddinge, Sweden
А. Родлоф	Лейпциг, Германия	A. Rodloff	Leipzig, Germany
Э. Рубинштейн	Манитоба, Канада	E. Rubinstein	Manitoba, Canada

Редактор номера: С.М. Кузнецова	Москва	Editor of Issue: S.M. Kuznetsova	Moscow
------------------------------------	--------	-------------------------------------	--------

## Препараты бактериофагов и комбинации антибиотиков: *in vitro* активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa* ST235 с экстремальной антибиотикорезистентностью

Д.В. Тапальский

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Изучена активность 11 комбинаций антибиотиков и 4 коммерчески доступных препаратов для фаготерапии в отношении продуцирующих металло-бета-лактамазы (МБЛ) клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, относящихся к сиквенс-типу ST235, клональному комплексу CC235. Выявлены высокие уровни резистентности МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa* с многократным превышением пороговых значений ФК/ФД-концентраций для бета-лактамов, аминогликозидов и фторхинолонов и сохраненной чувствительностью только к полимиксинам. Все комбинации антибиотиков на основе колистина не проявляли синергидного и адди-

тивного эффекта. Обнаружены комбинации с аддитивным эффектом на основе амикацина. Показана недостаточная активность препаратов для фаготерапии (чувствительность к ним обнаруживалась не более чем у 32% изолятов), выявлены отличия в спектрах активности различных препаратов с заявленной антипсевдомонадной активностью, обнаружена высокая частота возникновения вторичной фагорезистентности.

**Ключевые слова:** синегнойная палочка, антибиотикорезистентность, полимиксины, карбапенемы, комбинации антибиотиков, бактериофаги.

### Bacteriophage Preparations and Antibiotic Combinations: *In vitro* Activity Against Extensively Drug-Resistant Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* ST235

D.V. Tapalskiy

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

The activity of 11 antibiotics combinations and 4 commercially available preparations for phagotherapy in regard to *metallo-beta-lactamase* (MBL) producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates of sequence type 235 (ST 235) belonging to the clonal complex (CC 235) is studied. High levels of drug resistance of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates with multiple excess of threshold PC/PD-concentrations for beta-lactams, aminoglycosides and fluorquinolones

and preserved sensitivity only to polymyxins are revealed. Synergetic and additive effect of all antibiotic combinations based on colistin is not shown. Amikacin-based combinations with additive effect are found out. Insufficient activity of preparations for phagotherapy is demonstrated (no more than 32% isolates are possessed of sensitivity to them). Different preparations with labeled anti-*Pseudomonas* activity showed differences between the spectrum of antibacterial activity. High incidence rate of secondary phage resistance is detected.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, polymyxins, carbapenems, antibiotic combinations, bacteriophages.

Контактный адрес:  
Дмитрий Викторович Тапальский  
Эл. почта: tapalskiy@yandex.by

## Введение

Синегнойная палочка является микроорганизмом с обширным набором факторов патогенности, значительным эпидемическим потенциалом и высокой способностью к адаптации. Это один из наиболее распространенных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, быстро формирующий устойчивость к антибиотикам. В последнее десятилетие отмечается стремительное увеличение устойчивости *P. aeruginosa* практически ко всем антибактериальным препаратам, включая антисинегнойные цефалоспорины и карбапенемы. Наличие в популяционной структуре *P. aeruginosa* клонов «высокого эпидемического риска» способствует быстрому вертикальному и горизонтальному распространению множества генетических факторов антибиотикорезистентности, важнейшими из которых являются гены приобретенных *металло-бета-лактамаз* (МБЛ) [1]. Сцепление генов МБЛ с другими генами резистентности приводит к формированию экстремальной антибиотикорезистентности, т. е. устойчивости по крайней мере к одному антибиотику практически во всех классах антимикробных препаратов, за исключением 1–2 классов [2].

Ранее показано интенсивное распространение клонального комплекса 235 (СС235) синегнойной палочки на территории Российской Федерации, Беларуси и Казахстана [3, 4]. Более 95% МБЛ-продуцирующих российских штаммов *P. aeruginosa* принадлежит к этому эпидемическому клону. В современных условиях только полимиксины сохраняют свою эффективность в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов синегнойной палочки, однако увеличение частоты их использования закономерно приведет к формированию и распространению полной устойчивости к антибиотикам среди представителей СС235 [5]. Таким образом, перечень имеющихся потенциально эффективных антисинегнойных антибиотиков крайне ограничен, при этом в ближайшем будущем не ожидается появления новых препаратов с активностью против грамотрицательных бактерий [6].

Ведется поиск альтернативных стратегий этиотропной терапии, способных оказывать эффективное воздействие на экстремально-антибиотикорезистентные и панрезистентные штаммы. Среди них — использование комбинаций антибиотиков и фаготерапия. Основной целью комбинированной антибиотикотерапии является достижение синергидного эффекта и расширение спектра антибактериальной активности в отношении множественноустойчивых патогенов [7]. Комбинированная терапия широко используется для лечения инфекций, вызванных

панрезистентными грамотрицательными возбудителями или возбудителями, сохраняющими чувствительность только к одному из антибиотиков [8, 9]. Описаны различные комбинации антибиотиков, *in vitro* обладающие синергидным действием в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *P. aeruginosa* [10, 11]. Большинство из них предполагает использование колистина (полимиксина Е) в качестве «ключевого» препарата и включение в комбинацию аминогликозидов, фторхинолонов или фосфомицина.

Карбапенемы также используются в роли «ключевого» антибиотика в комбинированной терапии инфекций, вызванных в том числе и резистентными к ним грамотрицательными возбудителями. Однако для МБЛ-продуцирующих *P. aeruginosa* характерны очень высокие значения *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) карбапенемов, часто превышающие 64 мкг/мл, что значительно ограничивает их использование. Вместе с тем, ряд работ показывает, что комбинация полимиксинов или аминогликозидов с одним из карбапенемов, выступающим в данном случае «адьювантным» антибиотиком, является потенциально полезной вследствие эффекта синергизма за счет действия ее компонентов на разные мишени [12, 13].

Микробиологическая эффективность комбинаций антибиотиков трудно прогнозируема в связи с возможным присутствием у микроорганизма разнообразных механизмов резистентности даже к препаратам из одной группы. Поэтому для подбора эффективных комбинаций антибиотиков требуется проводить микробиологическое тестирование изолятов, выделенных от конкретного больного [14]. С исследовательской целью для определения антимикробного эффекта комбинаций антибиотиков *in vitro* используются различные методы, в частности метод «шахматной доски», модифицированный метод Е-тестов, time-kill тест [15].

Среди альтернативных антимикробных агентов, активных в отношении экстремально-антибиотикорезистентных *P. aeruginosa*, особый интерес вызывают бактериофаги [16, 17]. Специфичность и узкий спектр активности бактериофагов позволяют избежать характерных для антибиотиков осложнений, связанных с воздействием на нормальную микрофлору, но также требуют обязательного тестирования выделенных возбудителей на чувствительность к соответствующим фагам перед назначением фаготерапии. Узкий спектр антибактериальной активности отдельных синегнойных бактериофагов можно компенсировать путем использования комбинаций из нескольких фагов с различными спектрами активности [18, 19].

Российская иммунобиологическая промышленность выпускает ряд препаратов бактериофагов с заявленной активностью против синегнойной палочки: «Бактериофаг синегнойный», «Пиобактериофаг поливалентный», «Секстафаг», «Интести-бактериофаг» (НПО «Микроген») [20]. Отдельной проблемой является устойчивость бактерий к фагам, которая может быть как первичной, связанной с отсутствием специфических рецепторов для бактериофагов на поверхности микробной клетки, так и вторичной, приобретенной [21]. Распространение вторичной фагорезистентности в бактериальных популяциях *P. aeruginosa* способно существенно снизить эффективность фаготерапии с использованием имеющихся препаратов бактериофагов. Решением проблемы в таких случаях может стать поиск новых активных литических фагов во внешней среде [19].

В доступной литературе имеется крайне ограниченное количество работ, посвященных изучению чувствительности клинических изолятов *P. aeruginosa* к коммерческим препаратам бактериофагов. В разных публикациях на небольших выборках микроорганизмов показана чувствительность от 43 до 72% изолятов синегнойной палочки к различным фаговым препаратам [22–24]. Отсутствуют данные по чувствительности к препаратам бактериофагов экстремально-антибиотикорезистентных штаммов.

Цель исследования — поиск бактериофагов и комбинаций антибиотиков, эффективных *in vitro* в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*.

### Материал и методы

В исследование включены 53 неповторяющихся клинических изолята *P. aeruginosa*, 37 из них выделены в лечебных учреждениях Республики Беларусь (Минск — 10 изолятов, Гомель — 6 изолятов, Могилев — 21 изолят), 16 изолятов — из коллекции НИИ антимикробной терапии, г. Смоленск (Москва — 3 изолята; Воронеж, Казань, Краснодар, Липецк, Н.Новгород, Новосибирск, Омск, Пермь, Смоленск, Тольятти, Тюмень, Челябинск, Якутск — по 1 изоляту).

Все отобранные изоляты являлись экстремально-антибиотикорезистентными: 39 изолятов (73,6%) были устойчивыми ко всем антисинегнойным антибактериальным препаратам, за исключением полимиксинов, 14 изолятов (26,4%) сохраняли чувствительность к полимиксинам и азтреонаму. Устойчивость к карбапенемам у всех отобранных в исследование изолятов была обусловлена продукцией МБЛ VIM- или IMP-типов [3]. Продукция

МБЛ выявлена с использованием метода двойных дисков с ЭДТА [25]. Наличие генов МБЛ VIM- или IMP-типов подтверждено методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческого набора «АмплиСенс MDR MBL-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва).

В исследование включены препараты бактериофагов производства НПО «Микроген»: «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь), «Бактериофаг синегнойный» (г. Н. Новгород), «Секстафаг» (г. Пермь), «Пиобактериофаг поливалентный очищенный» (г. Уфа). Определение диапазона действия бактериофагов в отношении клинических изолятов микроорганизмов проводилось капельным методом (спот-тест) на агаре Мюллера–Хинтона (HiMedia, Индия). Для приготовления инокулюма (оптическая плотность 0,5 по МакФарланду) использовали чистые суточные культуры микроорганизмов, выращенные на плотной среде. Инокуляцию проводили хлопковым тампоном. После инокуляции чашки подсушивали в течение 10–15 мин и наносили препараты бактериофагов в объеме 20 мкл каждого, посева инкубировали 18–20 ч при температуре 35 °С. Учет степени лизиса выполняли по общепринятой четырехкестной системе. Исследование проводили в трех повторениях.

Для обнаружения бактериофагов, активных в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*, проведен отбор проб речной воды (р. Сож, р. Днепр, р. Березина, р. Свислочь). Вода отбиралась в стерильные стеклянные флаконы в объеме 500 мл и до выполнения исследования хранилась при 6±2 °С. Для проведения исследования 100 мл воды смешивали со 100 мл триптиказо-соевого бульона (BD, США) двойной концентрации (60 г дегидратированной среды на 1 л воды). Для тестирования использовали культуры, устойчивые к препаратам бактериофагов производства НПО «Микроген». Из суточных культур, выращенных на ГРМ-агаре (ГНЦ ПМБ, Оболенск), готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 3,0 по МакФарланду (контроль с помощью денситометра) в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия. Во флаконы со смесью из образца воды и питательной среды вносили бактериальные суспензии (одновременно 4–5 изолятов) до конечной концентрации  $5 \times 10^6$  микробных клеток/мл. Инкубацию проводили в течение 48 ч в шейкере-инкубаторе при 35 °С с постоянным низкоамплитудным встряхиванием. Бульонные культуры переносили в стерильные 50 мл-полипропиленовые пробирки (Sarstedt, Германия) и центрифугировали для осаждения микробных клеток в течение

Таблица 1. Спектр литической активности препаратов бактериофагов в отношении экстремально-антибиотикорезистентных *P. aeruginosa* — продуцентов металло-бета-лактамаз

Оценка литической активности	Бактериофаг синегнойный (г. Пермь) Серия 97 (03/2014)		Бактериофаг синегнойный (г. Н. Новгород) Серия Н6 (01/2014)		Секстафаг (г. Пермь) Серия 688 (04/2014)		Пиобактериофаг (г. Уфа) Серия У33 (04/2014)	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
«4+»	3	5,7	3	5,7	2	3,8	1	1,9
«3+»	14	26,4	8	15,1	14	26,4	8	15,1
«2+»	10	18,9	8	15,1	11	20,8	7	13,2
«1+»	11	20,8	8	15,1	6	11,3	7	13,2
«+/-»	2	3,8	6	11,3	3	5,7	5	9,4
«-»	13	24,5	20	37,7	17	32,1	25	47,2
Всего чувствительных («4+», «3+»)	17	32,1	11	20,8	16	30,2	9	17,0

15 мин при 5000 об/мин. Супернатант фильтровали через фильтры Filtropur S 0,45 (Sarstedt, Германия). Спектр активности полученных фаголизатов определяли в спот-тесте.

Определение *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) меропенема, имипенема, цефтазидима, азтреонама, амикацина, левофлоксацина и колистина (полимиксина Е) выполнено методом градиентной диффузии с использованием Е-тестов (bioMerieux, Франция). Интерпретация полученных результатов проводилась с использованием критериев EUCAST v.6.0 [26]. Микробиологическая эффективность комбинаций из двух антибиотиков определена модифицированным методом Е-тестов (кросс-тест) [15]. Подготовку инокулюма и инокуляцию чашек с агаром Мюллера–Хинтон проводили по стандартной методике. Две полоски Е-тестов, содержащие антибиотики тестируемой комбинации, совмещали на чашке под углом 90° по отношению друг к другу. Точка совмещения двух полосок располагалась в местах, соответствующих предварительно определенным МПК для каждого из препаратов. Чашки инкубировали 18 ч при температуре 35 °С, после чего определяли МПК для каждого из антибиотиков в составе комбинации. Рассчитывали *фракционные подавляющие концентрации* (ФПК) для каждого из препаратов в комбинации:

$$\text{ФПК}_A = \text{МПК}_{AB} / \text{МПК}_A$$

$$\text{ФПК}_B = \text{МПК}_{BA} / \text{МПК}_B, \text{ где}$$

МПК<sub>AB</sub> — МПК препарата А в присутствии препарата В, МПК<sub>A</sub> — МПК А без добавления второго препарата.

Индекс ФПК рассчитывался как сумма ФПК каждого из препаратов в комбинации:

$$\Sigma\text{ФПК} = \text{ФПК}_A + \text{ФПК}_B$$

При  $\Sigma\text{ФПК} \leq 0,5$  эффект комбинации антибиотиков оценивался как синергидный, при  $0,5 < \Sigma\text{ФПК} \leq 1$  — как аддитивный, при  $1 < \Sigma\text{ФПК} \leq 4$  — как нейтральный.

## Результаты и обсуждение

Результаты определения литической активности бактериофагов в отношении клинических изолятов МБЛ-продуцирующих *P. aeruginosa* представлены в табл. 1.

В целом отмечен невысокий уровень активности коммерчески доступных препаратов. Так, достаточный уровень литической активности («3+» или «4+») препарата «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь) определен только для 32,1% изолятов синегнойной палочки. Сходный уровень активности отмечен для препарата «Секстафаг» (г. Пермь), что может быть связано с включением предприятием-изготовителем в состав различных препаратов одноклеточных синегнойных бактериофагов из производственной коллекции. Другие препараты, потенциально эффективные против *P. aeruginosa*, лизировали с достаточной активностью меньшее количество изолятов. Даже в случае приемлемой литической активности бактериофагов в большинстве случаев отмечалось развитие вторичной устойчивости синегнойной палочки к ним в ходе эксперимента (наличие отдельных микроколоний вторично-резистентных мутантов в зоне стерильного пятна, подобный результат учитывался как «3+»).

Низкий уровень активности препаратов для фаготерапии может быть связан с относительно быстрым клональным распространением *P. aeruginosa* СС235 на территории Российской Федерации (увеличение доли относящихся к СС235 штаммов с 1,5% в 1997–1999 гг. до 37,6% в 2011–

Таблица 2. Эффективность комбинаций антибиотиков в отношении экстремально-антибиотико-резистентных клинических изолятов *P. aeruginosa*

Комбинация антибиотиков	Количество исследованных изолятов	Интерпретация результатов (количество и процент изолятов)		
		синергизм ( $\Sigma\text{ФПК} \leq 0,5$ )	аддитивный эффект ( $0,5 < \Sigma\text{ФПК} \leq 1$ )	нейтральный эффект ( $1 < \Sigma\text{ФПК} \leq 4$ )
Колистин + азтреонам	8	–	–	8 (100)
Колистин + цефтазидим	8	–	–	8 (100)
Колистин + амикацин	8	–	–	8 (100)
Колистин + меропенем	3	–	–	3 (100)
Колистин + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Амикацин + азтреонам	8	–	2 (25)	6 (75)
Амикацин + цефтазидим	8	–	3 (37,5)	5 (62,5)
Меропенем + амикацин	3	–	1 (33,3)	3 (66,7)
Меропенем + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Цефтазидим + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Азтреонам + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)

2013 г. [5]) и отсутствием в производственных коллекциях предприятий актуальных бактериофагов, эффективных в отношении клонального комплекса СС235. Еще одной причиной неэффективности может служить выявленная в эксперименте высокая частота формирования у синегнойной палочки СС235 вторичной резистентности к препаратам для фаготерапии.

Из речной воды нами выделены бактериофаги, активные в отношении экстремально-антибиотикорезистентных МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa*, устойчивых к действию препаратов бактериофагов производства «НПО «Микроген». Наиболее широким спектром литической активности обладал бактериофаг Р-33, который с интенсивностью не менее «3+» лизировал 31 изолят (58,5%) *P. aeruginosa*, в том числе 17 изолятов (32,1%), которые не лизировались ни одним из коммерчески доступных препаратов. Однако принадлежность фага Р-33 к группе *phiKZ*-подобных фагов семейства *Muoviridae* (Климук Е.И., Эйдельштейн М.В., неопубликованные данные) не позволяет рекомендовать его для включения в состав препаратов для фаготерапии в связи с наличием псевдолизогенизирующей активности у *phiKZ*-бактериофагов и высокой частоты развития вторичной устойчивости к ним у синегнойной палочки [27]. В работе М. Henry и соавт. была показана неспособность *phiKZ*-подобных фагов к элиминации чувствительных к ним *in vitro* изолятов синегнойной палочки на мышинных моделях [28].

Оценка эффективности комбинаций антибиотиков проведена для 8 экстремально-антибиотикорезистентных клинических изолятов *P. aeruginosa*,

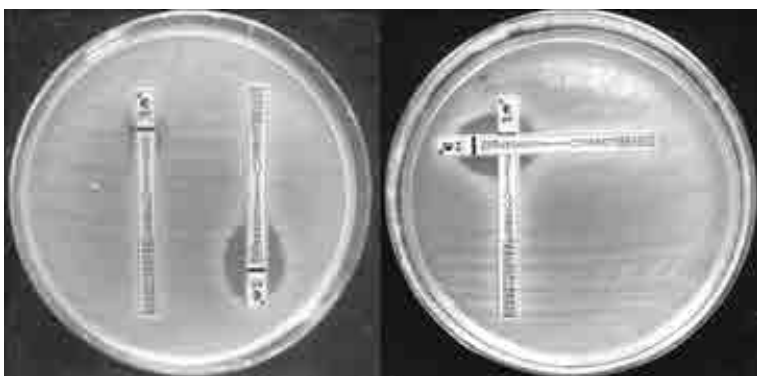
выделенных в лечебных учреждениях Республики Беларусь (Гомель, Минск, Могилев) и Российской Федерации (Москва, Казань, Новосибирск, Якутск). Все изоляты имели генную кассету  $\text{bla}_{\text{VIM-2}}$ , кодирующую МБЛ VIM-2, и принадлежали к ST235 [5].

В соответствии с критериями EUCAST v.6.0, все изоляты сохраняли чувствительность к колистину (МПК 0,094–1,0 мкг/мл). МПК азтреонама находилась в диапазоне от 1,5 до 24 мкг/мл, цефтазидима – от 12 до 32 мкг/мл, амикацина – от 32 до 128 мкг/мл. МПК имипенема, меропенема и левофлоксацина для всех изолятов в восемь и более раз превышали пограничные ФК/ФД концентрации (EUCAST v.6.0). Для 5 изолятов не удалось установить точные значения МПК карбапенемов и левофлоксацина, поскольку они находились за пределами максимальной концентрации антибиотика, имеющейся на полоске Е-теста (32 мкг/мл). По этой причине отсутствовала возможность тестирования комбинаций антибиотиков с включением карбапенемов и левофлоксацина для этих изолятов.

Результаты тестирования 11 комбинаций антибиотиков представлены в табл. 2.

Для всех комбинаций с включением колистина (колистин+азтреонам, колистин+цефтазидим, колистин+амикацин, колистин + меропенем, колистин + левофлоксацин) отмечен нейтральный эффект ( $\Sigma\text{ФПК}$  от 1,18 до 2,0). Комбинация азтреонам+амикацин проявила аддитивный эффект в отношении двух изолятов ( $\Sigma\text{ФПК}$  0,875 и 1,0), комбинация цефтазидим+амикацин была аддитивной для трех изолятов ( $\Sigma\text{ФПК}$  0,56; 0,875; 1,0), для остальных изолятов эффект данных ком-





Определение чувствительности клинического изолята *P. aeruginosa* 9226 VIM-2 (г. Минск) к меропенему (МР), амикацину (АК) и их комбинации модифицированным методом Е-тестов  
 $MPK_{MP} = 16$  мкг/мл,  $MPK_{AK} = 32$  мкг/мл,  $MPK_{MP-AK} = 8$  мкг/мл,  
 $MPK_{AK-MP} = 12$  мкг/мл.  
 $ФПК_{MP} = 0,5$ ;  $ФПК_{AK} = 0,375$ ;  $SФПК = 0,875$  (аддитивный эффект)

бинаций нейтральный. Необходимо отметить, что  $MPK$  амикацина для всех изолятов, для которых в комбинациях был достигнут аддитивный эффект, в 3–8 раз превышала пограничные  $ФК/ФД$  концентрации. Комбинация меропенем+амикацин была аддитивной для одного из трех изолятов ( $SФПК$  0,875, рисунок). Для остальных комбинаций антибиотиков выявлен только нейтральный эффект. Не обнаружено комбинаций антибиотиков с эффектом антагонизма.

Неутешительные результаты тестирования комбинаций антибиотиков можно частично объяснить высокими уровнями антибиотикорезистентности включенных в исследование изолятов *P. aeruginosa*, их клональной родственностью и как следствие — возможным присутствием однотипных механизмов антибиотикорезистентности, а также ограничениями использованного метода. Несмотря на очевидные преимущества (простота постановки теста, учета и интерпретации результатов) кросс-тест с использованием Е-тестов ориентирован на выявление бактериостатического действия антибиотиков и в ряде случаев его результаты дискордантны с результатами тестов, ориентированными на бактерицидный эффект (например — с результатами time-kill теста при изучении времязависимой бактерицидности).

## Литература

1. Cornaglia G., Giamarellou H., Rossolini G.M. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams? *Lancet Infect Dis* 2011; 11:381-93.

В систематическом обзоре, посвященном синергизму полимиксинов и карбапенемов, показана более высокая частота выявления синергидных взаимодействий при использовании time-kill-теста по сравнению с результатами, полученными с использованием Е-тестов или методом «шахматной доски» [14]. Еще одним ограничением является невозможность тестирования штаммов с высокими значениями  $MPK$ , превышающими максимальные концентрации препарата, имеющиеся на полоске Е-теста.

## Заключение

Выявлены высокие уровни резистентности МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa* с многократным превышением пороговых  $ФК/ФД$ -концентраций для бета-лактамов, аминогликозидов и фторхинолонов. Все протестированные комбинации на основе колистина не проявляли синергидного эффекта. Обнаружены комбинации с аддитивным эффектом на основе амикацина, однако потенциал для клинического использования таких комбинаций представляется сомнительным в связи с высокими значениями  $MPK$  входящих в комбинации препаратов, многократно превышающими их пороговые  $ФК/ФД$  концентрации.

Показана низкая активность коммерчески доступных препаратов бактериофагов в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*. При проведении микробиологического исследования видится целесообразным одновременное тестирование нескольких потенциально эффективных коммерческих препаратов бактериофагов, что обусловлено существенными различиями в их качественном и количественном составе.

Расширение спектра активности препаратов для фаготерапии может быть достигнуто за счет включения в их состав новых литических синегнойных бактериофагов, выделенных из внешней среды. Обязательным условием использования обнаруженных фагов является изучение их безопасности с секвенированием фаговых геномов и доказательством отсутствия в них генопродуктов с токсическим эффектом и генов антибиотикорезистентности.

2. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:268-81.

3. Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Шевченко О.В. и др. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(2):132-52.
4. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Жаворонок С.В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции. *Медицинский журнал* 2012; 2:10-15.
5. Edelstein M.V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infectious Diseases* 2013; 13(10):867-76.
6. Bassetti M., Righi E. Development of novel antibacterial drugs to combat multiple resistant organisms. *Langenbecks Arch Surg* 2015; 400:153-65.
7. Zavascki A.P., Bulitta J.B., Landersdorfer C.B. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11:1333-53.
8. Lim T.P., Lee W., Tan T.Y., et al. Effective antibiotics in combination against extreme drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibility to polymyxin B. *PLoS One* 2011; 6(12):E28177.
9. Rahal J.J. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43(Suppl. 2):S95-S99.
10. D'Souza B.B., Padmaraj S.R., Rekha P.D., et al. *In vitro* synergistic activity of colistin and ceftazidime or ciprofloxacin against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist* 2014; 20:550-4.
11. Ly N., Bulitta J.B., Rao G.G., et al. Colistin and doripenem combinations against *Pseudomonas aeruginosa*: profiling the time course of synergistic killing and prevention of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:1434-42.
12. Urban C., Mariano N., Rahal J.J. *In vitro* double and triple bactericidal activities of doripenem, polymyxin B, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2732-4.
13. Zavascki A.P., Carvalhaes C.G., Picao R.C., Gales A.C. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8:71-93.
14. Zusman O., Avni T., Leibovici L., et al. Systematic review and meta-analysis of *in vitro* synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5104-11.
15. White R.L., Burgess D.S., Manduru M., Bosso J.A. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:1914-8.
16. Larche J., Pouillot F., Essoh C., et al. Rapid identification of international multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clones by multiple-locus variable number of tandem repeats analysis and investigation of their susceptibility to lytic bacteriophages. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:6175-80.
17. Viertel T.M., Ritter K., Horz H.P. Viruses versus bacteria—novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:2326-36.
18. Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В. и др. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов. *Биомедицина* 2012; 1:134-8.
19. Krylov V.N. Bacteriophages of *Pseudomonas aeruginosa*: long-term prospects for use in phage therapy. *Adv Virus Res* 2014; 88:227-78.
20. Каталог продукции ФГУП «НПО «Микроген»: [Электронный ресурс] //URL: <http://www.microgen.ru/products/bakteriofagi> (Дата обращения: 01.08.2016).
21. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8:317-27.
22. Габриэлян Н.И., Арефьева Л.И., Спирина Т.С., Горская Е.М. Чувствительность к бактериофагам микрофлоры субстратов пациентов кардиохирургического и трансплантологического профиля. *Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва 2013:96-7.*
23. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С. и др. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомиальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники. *Вестник трансплантологии и искусственных органов* 2011; 3:26-32.
24. Карноухова О.Г., Коган Г.Ю., Боброва О.И., Ботвинкин А.Д. Устойчивость госпитальных изолятов синегнойной палочки к антибиотикам и бактериофагам. *Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва 2013:184.*
25. Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. Металло- $\beta$ -лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2007; 9(3):211-8.
26. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>
27. Krylov V., Shaburova O., Pleteneva E., et al. Selection of phages and conditions for the safe phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Virology* 2015; 30:33-44.
28. Henry M, Lavigne R, Debarbieux L. Predicting *in vivo* efficacy of therapeutic bacteriophages used to treat pulmonary infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5961-8.

## Новые лекарственные формы позаконазола: краткий клинико-фармакологический обзор

А. В. Веселов

НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Позаконазол является триазолом второго поколения с широким спектром активности, который впервые появился на рынке в 2005 г. в виде суспензии для перорального приема. Несмотря на ряд успехов, достигнутых в рамках проведенных клинических исследований, проблемы, связанные как с особенностями фармакокинетики пероральной суспензии, так и с невозможностью приема внутрь препарата у отдельных пациентов, привели к понятным ограничениям использования позаконазола в клинической практике. В период с 2013 по 2014 гг. в странах Европы и в США были одобрены для применения новая таблетированная форма позаконазола и его раствор для внутривенного введения. Появление таблетки с улучшенными фармакокинетическими

параметрами, а также внутривенной формы препарата для применения как в рамках ступенчатой терапии, так и у пациентов, в силу тех или иных причин не имеющих возможности принимать позаконазол внутрь, в значимой степени оказало положительное влияние на проблему выбора антимикотиков для терапии и профилактики инвазивных грибковых инфекций. На настоящий момент новые лекарственные формы позаконазола не зарегистрированы на территории РФ, однако представляется целесообразным ознакомить практикующих врачей с их клинико-фармакологическими характеристиками.

**Ключевые слова:** азолы, антимикотики, инвазивные микозы, позаконазол, фармакокинетика, фармакодинамика.

### New Drug Formulations of Posaconazole: Brief Clinical Pharmacology Review

A. V. Veselov

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Posaconazole is a second generation triazole with a broad spectrum of activity, which first appeared on the market in 2005 in the form of a suspension for oral administration. Despite some progress made in the framework of clinical trials, the problems associated with both the features of the pharmacokinetics of an oral suspension, and with the inability to take drug *per os* in individual patients, led to the obvious limitations of the use of posaconazole in clinical practice. In the period from 2013 to 2014 in Europe and the US new tablet formulation of posaconazole and a solution for intravenous administration have

been approved for the use. The emergence of tablets with improved pharmacokinetic parameters, as well as the intravenous form of the drug with the ability to use both in the stepdown approach, and in patients who due to various reasons has no possibility to take posaconazole *per os*, made a great positive impact on the antifungals selection problem for the treatment and prevention of invasive fungal infections. At the moment, new formulations of posaconazole is not registered in the Russian Federation, however, it seems appropriate to familiarize practitioners with their clinical-pharmacological characteristics.

**Key words:** azoles, antifungals, invasive fungal infections, posaconazole, pharmacokinetics, pharmacodynamics.

Контактный адрес:

Александр Валерьевич Веселов

Эл почта: Alex.veselov@antibiotic.ru

## Введение

Проблема терапии *инвазивных грибковых инфекций* (ИГИ) в достаточно большом проценте случаев осложняется особенностями выбора тех или иных *антимикотиков* (АМ) для терапии различных клинических форм ИГИ, что может быть связано как с возбудителем и особенностями течения самого заболевания, так и с имеющимися ограничениями и недостатками существующих АМ. В этой ситуации мы можем столкнуться с не всегда подходящим профилем *фармакокинетики* (ФК), с проблемной активностью препарата *in vitro*, недостаточно надежным профилем безопасности, а также с ограничениями, обусловленными доступными на рынке лекарственными формами конкретного АМ. В этой связи достаточно показательным примером может быть такой препарат как позаконазол.

Позаконазол — противогрибковый препарат из группы триазолов, является структурным аналогом итраконазола, однако в отличие от других азолов, в частности итраконазола и вориконазола, помимо высокой активности в отношении грибов рода *Candida* и *Aspergillus*, он активен и против грибов класса *Mucormycetes*, что выгодно отличает его по спектру активности от большинства существующих АМ [1–5]. Позаконазол активно используется в терапии и для профилактики грибковых инфекций, начиная с 2005 г., когда он впервые был зарегистрирован в странах Евросоюза (ЕС) под торговым названием Ноксафил®. В США и России препарат был зарегистрирован в 2006 и 2007 гг. соответственно (рис. 1). До 2013 г. позаконазол был представлен только *суспензией для перорального приема* (СПП), что делало невозможным его использование у отдельных групп пациентов по целому ряду причин: начиная от невозможности приема больным препаратом внутрь, заканчивая некоторыми особенностями ФК позаконазола в данной лекарственной форме.

Несмотря на то что клинические исследования с СПП позаконазола, а также проведенные постмаркетинговые исследования показали эффективность

и безопасность применения этой лекарственной формы, как по зарегистрированным показаниям, так и вне них в качестве препарата «спасения», однако есть указания на возможность возникновения прорывных ИГИ на фоне его субтерапевтических концентраций и, что наиболее важно, это может быть причиной неэффективности терапии позаконазолом. Именно особенности ФК СПП, а также фоновые заболевания и сопутствующая терапия являются причинами вариабельной биодоступности позаконазола, а отсутствие других лекарственных форм его долгое время было значимым лимитирующим фактором широкого применения. Особенно это касается формы для внутривенного введения позаконазола, что, наряду со стабильной формой для приема внутрь, могло бы стать основой для успешной «ступенчатой» терапии тяжелых ИГИ [6–8].

В ноябре 2013 г. *Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США* (FDA) и в феврале 2014 г. *Европейское агентство по лекарственным средствам* (ЕМЕА) одобрили новую лекарственную форму позаконазола в виде таблетки с замедленным высвобождением препарата (далее — «таблетка» или «таблетированная форма»). В сравнении с СПП таблетированная форма обладает более стабильными показателями ФК. Однако необходимо отметить, что в случае, если таблетка разломана или разжевана пациентом, она теряет свою структурную целостность, что может быть проблемой у пациентов с нарушением глотания. В марте 2014 г. FDA, а в июле 2014 г. ЕМЕА одобрили форму позаконазола для внутривенного введения, что в значимой степени решило вопрос ограничения пероральных форм препарата с возможностью быстрого достижения терапевтических концентраций. Тем не менее, в РФ до настоящего времени в распоряжении практических врачей имеется только СПП позаконазола, и, учитывая ее ФК, *фармакодинамику* (ФД) и фармакоэкономические показатели, она далека по большинству позиций от категории идеальных АМ для терапии тяжелых ИГИ [3–5].

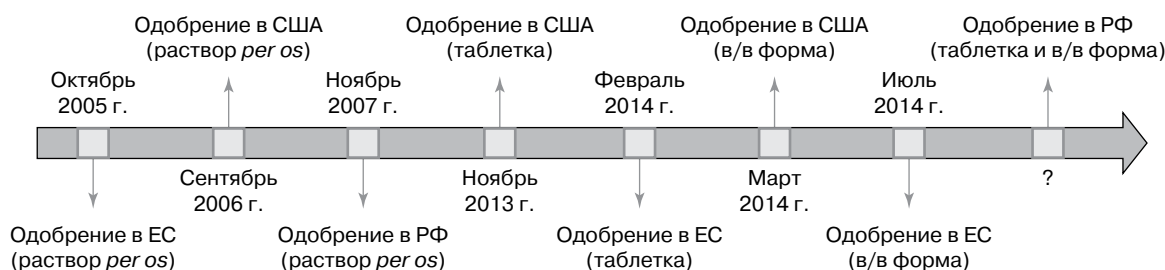


Рис. 1. Этапы регистрации различных лекарственных форм позаконазола на основных мировых рынках.

В данном обзоре будут ограниченно приведены данные по клинической фармакологии и результатам практического применения СПП позаконазола, что достаточно подробно описано в ряде существующих обзорных работ [1, 9], при этом акцент будет сделан на клинико-фармакологическую характеристику новых лекарственных форм позаконазола.

### Общая характеристика позаконазола

Позаконазол (SCH56592, 4-[4-[4-[4-[(3R,5R)-5-(2,4-дифторфенил)тетрагидро-5-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-3-фуранил]метокси]фенил]-1-пиперазинил]фенил]-2-[(1S,2S)-1-этил-2-гидроксипропил]-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-один) с эмпирической формулой  $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$ , обладающий молекулярной массой 700,8, был открыт в качестве потенциально активного метаболита соединения SCH51048, который представлял из себя новый триазол с широким спектром действия, получен в Исследовательском институте компании Шеринг-Плау (Schering-Plough Research Institute [SPRI]). SCH51048 показал активность *in vitro* и на животных моделях в отношении таких возбудителей ИГИ как *Coccidioides immitis*, *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis* и *Candida krusei*. Работы по созданию лекарственной формы препарата для проведения I фазы исследований привели к появлению целого ряда вариантов пероральной формы препарата, которые были изучены у собак. Ни одна из исследованных форм не смогла показать способность создавать достаточные концентрации в плазме после приема SCH51048 внутрь, что в частности

объяснялось крайне низкой растворимостью соединения ( $<0,05$  мкг/мл). В процессе оценки эффективности и ФК SCH51048 у животных были получены данные о существовании нескольких активных метаболитов, в связи с чем были проведены дальнейшие исследования по поиску наиболее подходящего соединения. Результатом этих попыток стало открытие позаконазола (SCH56592) с приемлемым профилем ФК и показателями активности *in vitro*, которые значимо превосходили таковые как исходного соединения SCH51048, так и большинства существующих на тот момент АМ. Как уже упоминалось, позаконазол структурно напоминает итраконазол, при этом расширение спектра активности позаконазола было реализовано за счет замещения атома хлора атомом фтора и диоксоланового кольца фурановым кольцом (рис. 2), а трехэтапный процесс синтеза с последующей микронизацией позволили улучшить показатель растворимости исходного соединения [8, 10–16].

### Механизм действия и фармакодинамика позаконазола

Как и все АМ из группы триазолов позаконазол реализует свою активность за счет блокады синтеза эргостерола в мембране грибковой клетки (подавление активности P450 (CYP)-зависимого фермента ланостерол-14 $\alpha$ -деметилазы (CYP51), препятствуя переходу ланостерола в эргостерол, что приводит к нарушению ее структуры и функции. Как и итраконазол, а также вориконазол, он демонстрирует фунгицидную активность в отношении отдельных

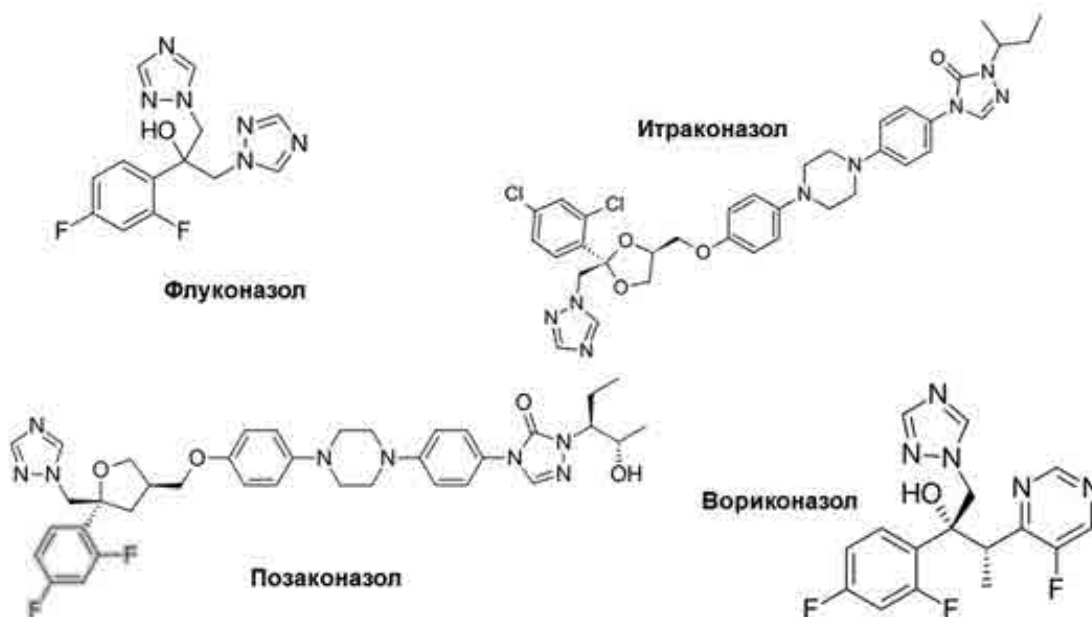


Рис. 2. Химическая структура триазолов.

Таблица 1. *In vitro* активность (МПК<sub>90</sub>, мг/л) триазолов в отношении основных возбудителей ИГИ (адаптировано из [1])

Возбудители ИГИ	Флуконазол	Итраконазол	Вориконазол	Позаконазол
<i>Candidia</i> spp.				
<i>C. albicans</i>	2	0,05–0,5	0,06	0,13–0,25
<i>C. glabrata</i>	32–128	1–4	1	1–2
<i>C. parapsilosis</i>	1–2	0,12–0,25	0,06	0,06–0,13
<i>C. tropicalis</i>	1–16	0,12–1	2	0,12–1
<i>C. krusei</i>	>64	0,5–1	1	0,5
<i>Aspergillus</i> spp.				
<i>A. fumigatus</i>	–	2	0,5	0,5
<i>A. flavus</i>	–	1	1	0,5
<i>A. niger</i>	–	2	2	1
<i>A. terreus</i>	–	0,5	1	0,25
Другие мицелиальные грибы				
<i>Fusarium</i> spp.	–	>8	>8	≥8
<i>Rhizopus</i> spp.	–	–	–	2
<i>Mucor</i> spp.	–	–	–	1

возбудителей, однако против большинства представителей *Candida* spp. позаконазол обладает фунгистатическим действием, в то время как против *Aspergillus* spp. и мукормицет отмечается его фунгицидная активность. Именно в отношении мукормицет позаконазол обладает наиболее сильной активностью в сравнении с другими триазолами, а показатели МПК для грибов рода *Candida* и *Aspergillus* примерно сопоставимы с таковыми у вориконазола [1, 17, 18].

Отдельные данные говорят о том, что позаконазол накапливается в мембранах грибковых клеток, где он персистирует в субклеточной локализации фермента-мишени в течение длительного времени после снижения концентрации препарата в сыворотке, что приводит к длительному ингибированию CYP51 и, в конечном итоге, к гибели клетки. В сравнении с другими триазолами позаконазол обладает более широким спектром активности, включая *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *C. immitis* и *Fonsecaea pedrosoi*, а также *Fusarium* spp., *Rhizomucor* spp., *Mucor* spp. и *Rhizopus* spp.

К настоящему времени есть данные о появлении устойчивых к позаконазолу штаммов, в частности среди грибов рода *Candida*, включая случаи перекрестной резистентности с другими препаратами этого класса, тем не менее, это явление не распространено, в том числе и в РФ, и в подавляющем большинстве случаев наблюдается у пациентов, получавших триазолы с целью профилактики или терапии [19–23].

Возвращаясь к возбудителям мукормицетозов отметим, что позаконазол демонстрирует достаточно высокую активность в отношении *Mucorales*, при

этом показатели МПК позаконазола могут быть даже ниже таковых изавуконазола — нового триазола широкого спектра действия, который пока не зарегистрирован на территории РФ [24, 25]. В частности, в исследовании N. Wiederhold и соавт. [26] среди триазолов с активностью в отношении мицелиальных патогенов итраконазол, вориконазол и позаконазол показали высокую активность против *A. fumigatus* (диапазон МПК 0,191–0,586 мг/л), однако их активность была заметно ниже в отношении более редких видов (диапазон МПК 0,457–4,18 мг/л). Позаконазол обладал наибольшей активностью против *A. fumigatus* и *A. sydowii* (МПК 0,191 и 0,457 мг/л), с показателями МПК ниже таковых для итраконазола (0,537 и 1,26 мг/л;  $p < 0,05$ ) и вориконазола (0,586 и 1,00 мг/л;  $p < 0,05$ ).

На текущий момент у нас нет четких критериев интерпретации показателей при определении чувствительности к позаконазолу наиболее распространенных патогенов (табл. 1). Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) предложил критерии интерпретации при определении чувствительности к позаконазолу только для трех видов *Candida* — *C. albicans*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* (для всех трех видов: чувствительный — МПК  $\leq 0,06$  и резистентный — МПК  $> 0,06$  мкг/мл). Критерии интерпретации показателей чувствительности для мицелиальных грибов, включая *Aspergillus* spp., в настоящее время предложены EUCAST только в отношении *A. fumigatus* и *A. terreus* (для обоих видов: чувствительный — МПК  $\leq 0,12$  и резистентный МПК  $> 0,25$  мкг/мл), в то время как эпидемиологические пограничные значения (ECOFF) на текущий момент опреде-

лены для *A. fumigatus* и *A. terreus* (0,25 мг/л) также и для *A. flavus*, *A. nidulans* и *A. niger* (0,5 мг/л) [27, 28].

### Фармакокинетика позаконазола

Две основные причины применительно к ФК СПП позаконазола, достаточно много обсуждавшейся до этого [29], которые обусловили необходимость поиска новых лекарственных форм, включают: (1) существенную вариабельность параметров ФК, что связано с увеличением биодоступности при снижении pH в просвете желудка, а также при приеме вместе с пищей с высоким содержанием жиров (по некоторым данным, высококалорийной пищи в целом) и с газированными напитками; (2) насыщающая абсорбция препарата, что, в частности, было показано в исследовании у здоровых добровольцев: при применении СПП в дозе 400 мг каждые 12 часов или 200 мг каждые 6 часов имело место увеличение биодоступности на 98 и 220% соответственно, в сравнении с однократной дозой, равной 800 мг [30–33]. Позволим себе не останавливаться более подробно на ФК СПП и перейдем к характеристике новых лекарственных форм.

### Таблетированная форма

Новая таблетированная форма с замедленным высвобождением позаконазола была разработана на основе pH-зависимого полимерного матрикса с помощью технологии высокотемпературной экструзии. Данная таблетированная форма теряет свою структурную однородность при ее разламывании, разрезании или разжевывании, поэтому должна приниматься только целиком в исходном виде. Исследования I фазы обнаружили более стабильные показатели абсорбции и биодоступности, которые не зависели от приема пищи [3–5, 34], в отличие от СПП. Именно лежащий в основе таблетки позаконазола pH-зависимый полимерный матрикс обеспечивает возможность ее приема независимо от приема пищи и/или питательных добавок.

У здоровых добровольцев были проведены исследования, в которых оценивалась ФК и безопасность однократного и многократного дозирования таблетированной формы позаконазола (200 и 400 мг в сутки). Полученные результаты показали значимо более высокие показатели системного воздействия препарата с меньшей вариабельностью ФК в сравнении с СПП, что было отмечено как при приеме натощак, так и вместе с пищей, которая оказывала незначительное влияние на показатели абсорбции позаконазола. Более того, исследования с многократным дозированием препарата показали, что таблетированная форма позаконазола может при-

меняться для профилактики ИГИ при приеме препарата один раз в сутки [34, 35]. В исследованиях была отмечена дозозависимая абсорбция таблетки позаконазола и у здоровых добровольцев, которые принимали однократную дозу, равную 300 мг. Показатели воздействия препарата были выше в сочетании с пищей с высоким содержанием жиров, чем при приеме натощак. Тем не менее, таблетка позаконазола может приниматься независимо от приема пищи [3–5].

Было проведено исследование Ib фазы у 51 пациента с *острым миелолейкозом* (ОМЛ) и *миелодиспластическим синдромом* (МДС) с целью определения дозы, одобренной в настоящее время таблетированной формы позаконазола, в котором было две когорты пациентов, получавших 200 и 300 мг препарата, с приемом два раза в сутки в первый день и с последующим однократным приемом в сутки. Это было международное открытое исследование у взрослых пациентов с ОМЛ или МДС, которым проводилась химиотерапия для индукции ремиссии и где имела место (или ожидалась) длительная нейтропения (абсолютное число нейтрофилов  $\leq 500/\text{мм}^3$  в течение  $>7$  дней), у которых был высокий риск развития ИГИ [36]. Одной из основных целей исследования было определить дозу позаконазола, которая бы обеспечивала показатели воздействия препарата в плазме в соответствии с предопределенным диапазоном значений, среди которых усредненная концентрация при равновесном состоянии ( $C_{\text{avg, ss}}$ ) была  $\geq 500$  и  $\leq 2500$  нг/мл или площадь под фармакокинетической кривой в период от 0 до 24 часов ( $\text{ПФК}_{0-24}$ )  $\geq 12\,000$  и  $\leq 59\,000$  нг $\times$ ч/мл у  $\geq 90\%$  пациентов, с когортным средним показателем  $C_{\text{avg, ss}} \geq 1200$  нг/мл. В группе пациентов, получавших 300 мг в сутки, 97% участников достигли минимальную целевую концентрацию  $\geq 500$  нг/мл к 8 дню, при этом только 79% пациентов в группе 200 мг в сутки смогли достигнуть указанную конечную точку. Параметры ФК таблетки позаконазола в дозе 200 или 300 мг один раз в сутки (два раза в сутки в первый день), которые принимались натощак, показали, что целевой показатель ( $C_{\text{avg, ss}} \geq 1200$  нг/мл) был достигнут при приеме 300 мг (3 таблетки по 100 мг) один раз в сутки и указанная доза была выбрана для применения в последующих исследованиях III фазы. Равновесное состояние в целом достигалось в промежутке между 6 и 8 днем, и в группе с дозой 300 мг целевой показатель ( $C_{\text{avg, ss}} \geq 500$  нг/мл) достигался после приема двух доз у большинства пациентов, при равновесном состоянии всех пациентов. В группе 300 мг максимальный целевой показатель ( $C_{\text{avg, ss}} \geq 2500$  нг/мл) был достигнут только у одного пациента, у которого

среднее значение  $C_{avg,ss}$  составило 2680 нг/мл [36]. В связи с этим доза, равная 300 мг, была выбрана для последующего исследования III фазы.

Результаты исследования III фазы [37], которое стало продолжением исследования Ib фазы, и где оценивались целевые усредненные равновесные концентрации у 210 пациентов с ОМЛ или МДС или у пациентов с *трансплантацией кроветворных стволовых клеток* (ТКСК), показали четкую корреляцию показателей  $C_{avg}$  и остаточных концентраций позаконазола ( $R^2=0,92$ ), что указывает на дозозависимую ФК препарата. Таблетки позаконазола принимались независимо от приема пищи в течение 28 дней с predetermined нижней и верхней границами для  $C_{avg} \geq 500$  и  $< 3750$  нг/мл. Результаты этого исследования стали опорными для регистрации таблетированной формы позаконазола, которые в последующем были объединены с существующими данными в отношении СПП [3–5]. Позаконазол в дозе 300 мг один раз в сутки достиг целевых показателей при равновесном состоянии у 96% пациентов, при этом только один (0,5%) пациент не достиг нижней границы  $C_{avg} \geq 500$  нг/мл и семь (4%) пациентов превысили верхнюю границу 3750 нг/мл. Показатели  $C_{avg}$  варьировали от  $\geq 500$  до  $< 2500$  нг/мл у 81% пациентов и от  $\geq 2500$  до  $< 3750$  у 15% испытуемых. Средний показатель  $C_{avg}$  позаконазола строго коррелировал со средней базальной концентрацией ( $C_{min}$ ). В анализе, сравнивающем средние показатели  $C_{avg}$  среди исследований, параметры воздействия позаконазола на фоне приема таблетированной формы в дозе 300 мг один раз в сутки (два раза в сутки в первый день) в целом были выше, но приближались к таковым при применении СПП в дозе 200 мг три или четыре раза в сутки.

Относительно недавно были опубликованы окончательные результаты исследования III фазы таблетированной формы позаконазола у пациентов с нейтропенией после химиотерапии в связи с онкогематологическими заболеваниями или у реципиентов ТКСК, находящихся на профилактике в связи с реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [38]. Пациенты получали позаконазол (таблетки) в дозе 300 мг один раз в сутки (два раза в сутки в первый день) общей продолжительностью до 28 дней независимо от приема пищи. У пациентов во время терапии еженедельно проводилось взятие образцов крови для оценки базальных показателей ФК препарата, а в отдельной подгруппе пациентов взятие образцов осуществлялось в 1-й и 8-й дни. В общей сложности 210 пациентов получили терапию позаконазолом в дозе 300 мг один раз в сутки (два раза в первый день) в виде таблетиро-

ванной формы. Среди пациентов, у которых была возможность оценки  $C_{min}$  ( $n=186$ ), равновесное среднее значение  $C_{min}$  составило 1720 нг/мл (от 210 до 9140). У  $\geq 90\%$  пациентов равновесные показатели  $C_{min}$  были  $> 700$  нг/мл, при этом только у 5% пациентов они составили менее 500 нг/мл. Только у одного пациента ( $< 1\%$ ) имело место развитие ИГИ. Наиболее частыми *нежелательными явлениями* (НЯ) были тошнота (11%) и диарея (8%), однако не было отмечено увеличения частоты НЯ при более высоких показателях системного воздействия.

Данные по ФК исследований I и III фазы показали варьирование равновесных средних показателей  $C_{avg}$  новой таблетированной формы позаконазола в пределах 1460–2151 нг/мл при приеме 300 мг в сутки после дозирования два раза в сутки в первый день. Данные концентрации значимо превышали таковые, отмеченные в исследованиях III фазы СПП позаконазола в дозе 200 мг три раза в сутки — 582–1131 нг/мл. Несравнительный анализ данных указывает на то, что таблетированная форма позаконазола обеспечивает более предсказуемый профиль ФК с большими показателями системного воздействия препарата. Отметим, что имеющаяся на рынке форма выпуска позаконазола в виде таблетки с нагрузкой 100 мг потребует приема нескольких таблеток для соответствия зарегистрированным схемам дозирования препарата [3–5, 39].

В отличие от СПП всасывание таблетированной формы позаконазола не зависит от подавляющей желудочную секрецию терапии. При сравнении значений  $PFK_{0-\infty}$  для таблетки позаконазола, принимаемой раздельно (42 406 нг $\times$ ч/мл) или вместе с антацидом (42 468 нг $\times$ ч/мл), ранитидином (39 287 нг $\times$ ч/мл) или эзомепразолом (41 547 нг $\times$ ч/мл), не было отмечено различий в достигаемых концентрациях препарата. Помимо этого, средние геометрические отношения составили 1,06 (90% ДИ 0,90–1,26), 0,97 (90% ДИ 0,84–1,12) и 1,01 (90% ДИ 0,87–1,17) при совместном применении позаконазола с антацидом, ранитидином и эзомепразолом соответственно. Также не было отмечено изменений абсорбции позаконазола при совместном применении с метоклопрамидом — препаратом, который усиливает моторику желудка. В связи с этим, согласно заявлению производителя, не требуется коррекции доз таблетированной формы позаконазола при совместном применении с данными препаратами [40, 41].

Результаты ретроспективного одноцентрового исследования показали, что у пациентов, имеющих большую массу тела и страдающих диареей, имеется наиболее высокая вероятность создания низких концентраций позаконазола при его приеме в виде таблетированной формы. Усредненные



базальные концентрации у пациентов с диарей составили  $0,65 \pm 0,08$  мкг/мл vs.  $1,31 \pm 0,13$  мкг/мл ( $p=0,002$ ), а у пациентов с массой тела  $\geq 90$  кг они были в пределах  $0,74 \pm 0,09$  мкг/мл, в сравнении с  $1,32 \pm 0,14$  мкг/мл у пациентов с массой тела менее 90 кг [42].

В одном из проспективных исследований ФК [43] было оценено влияние присутствия у пациента мукозита на показатели системного воздействия позаконазола в популяции онкогематологических пациентов, включая реципиентов ТКСК, получающих профилактику позаконазолом в виде СПП или таблетированной формы. Медиана усредненной плазменной концентрации позаконазола составила  $0,26$  ( $0,17-0,43$ ),  $0,67$  ( $0,27-1,38$ ) и  $1,08$  ( $0,96-1,38$ ) мг/л для СПП у пациентов с ТКСК, СПП у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и таблетированной формы у пациентов с ТКСК соответственно. Наиболее высокая остаточная плазменная концентрация позаконазола была отмечена при применении СПП препарата, когда уровень концентрации цитруллина в плазме был выше  $10$  мкмоль/л, в сравнении со значениями ниже  $10$  мкмоль/л ( $p<0,001$ ), в то время как для таблетированной формы показатели плазменной концентрации позаконазола оставались стабильно высокими при уровнях цитруллина в плазме ниже или выше  $10$  мкмоль/л ( $p=0,64$ ). А. Pham и соавт. [44] сравнили сывороточные концентрации позаконазола при применении СПП и таблетированной формы у пациентов с онкогематологическими заболеваниями, и где было четко показано, что у пациентов, получавших таблетированную форму со значимо большей вероятностью достигались концентрации позаконазола  $0,7$  мкг/мл, чем у получавших СПП: ОШ  $7,97$  [95 ДИ;  $3,75-16,93$ ],  $p<0,0001$ , при этом показатели концентрации у пациентов, получавших препараты, подавляющие секрецию, имевших РТПХ с поражением желудочно-кишечного тракта, мукозит или диарею, не отличались от таковых у пациентов, не имевших указанные состояния.

### Раствор для внутривенного введения

Международное открытое исследование Ib фазы ранжирования доз внутривенной формы позаконазола было проведено у пациентов с нейтропенией на фоне ОМЛ/МДС [45]. Позаконазол вводился в течение 90 минут через *центральный венозный катетер* (ЦВК), так как при введении в периферическую вену это сопровождалось высокой частотой развития тромбоза [46]. Данное исследование было разработано с целью оценки безопасности внутривенной формы позаконазола, а также для изучения показателей ФК и эффективности на основа-

нии частоты возникновения прорывных ИГИ. На начальном этапе была проведена оценка безопасности и переносимости однократной внутривенной дозы позаконазола 200 мг ( $n=10$ ) в сравнении с плацебо ( $n=11$ ). Далее 21 пациент вошел в контрольную когорту с однократным введением плацебо, 21 пациент получал 200 мг в сутки позаконазола в течение 14 дней в когорте с многократным введением доз и 24 пациента получали 300 мг позаконазола в течение 14 дней в когорте с многократным введением доз. В когортах с многократным введением в первый день позаконазол применялся два раза в сутки (нагрузочная доза). Пациенты в когорте с однократным введением получали СПП позаконазола в дозе 400 мг два раза в сутки во 2–7-й дни с оценкой на 14-й день. После оценки безопасности в данной когорте исследование должно было быть продолжено в когортах с многократным введением препарата. Пациенты переводились на прием СПП позаконазола в дозе 400 мг два раза в сутки в 15–28-й дни с оценкой на 35-й день. Все внутривенные введения осуществлялись через ЦВК продолжительностью 90 минут. Одной из основных целей данного исследования был выбор дозы позаконазола для дальнейших исследований III фазы. В каждой когорте были гипотетические терапевтические целевые показатели ФК, а также целевые показатели безопасности. В частности, для того, чтобы перейти к части исследования с когортой пациентов, получающих 300 мг (множественные дозы), в когорте пациентов, получавших 200 мг, ни у одного пациента не должны были быть получены показатели равновесной плазменной  $C_{avg}$ , равной 3750 нг/мл или выше, или равновесные показатели ПФК, равные 90000 нг×ч/мл или выше. Предопределенный ФК показатель системного воздействия составил для  $C_{avg}$  500–2500 нг/мл у  $\geq 90\%$  пациентов. Данные целевые значения были достигнуты у 94% пациентов в группе внутривенной терапии в дозе 200 мг и у 95% пациентов в группе внутривенной терапии в дозе 300 мг. Специфический средний показатель системного воздействия (средняя равновесная  $C_{avg}$  1200 нг/мл) был почти достигнут в когорте внутривенной терапии в дозе 200 мг (1180 нг/мл) и превысил целевое значение в когорте 300 мг (1430 нг/мл).

Позаконазол внутривенно в дозе 300 мг один раз в сутки приводил к достижению адекватного равновесного системного воздействия в многоцентровом исследовании III фазы у 237 пациентов с нейтропенией на фоне ОМЛ/МДС или у пациентов, которым была проведена ТКСК [47]. Позаконазол внутривенно в дозе 300 мг один раз в сутки применялся в течение 4–13 дней (два раза в сутки в первый день) с последующим переходом на прием поза-

коназола в виде СПП в дозе 400 мг два раза в сутки или 200 мг три раза в сутки с общей продолжительностью терапии 28 дней. Целевые показатели  $C_{avg,ss}$  ( $\geq 500$  и  $\leq 2500$  нг/мл) были достигнуты у 46 из 49 доступных для оценки пациентов (94%), которые получали внутривенную форму препарата в течение  $\geq 10$  дней. При равновесном состоянии средний показатель  $C_{avg}$  позаконазола составил 1500 нг/мл, а  $C_{min}$  была равна 1090 нг/мл. Однако показатели системного воздействия позаконазола были ниже при использовании СПП, чем внутривенной формы препарата.

Следует отметить, что в новой форме позаконазола для внутривенного применения в качестве растворителя используется *сульфобутиловый эфир  $\beta$ -циклодекстрина* (SBECD), который в том числе используется при приготовлении внутривенных форм других триазолов — итраконазола и вориконазола. Соединения циклодекстринов представляют собой циклические структуры на основе углеводов, которые могут включать липофильные агенты с образованием водорастворимых дисперсий [48]. При внутривенном введении циклодекстрины выводятся через почки, и, хотя для некоторых из них описаны случаи развития вакуолизации почечных канальцев при исследовании на животных моделях, нет четко подтвержденных случаев развития циклодекстрин-ассоциированной нефропатии при применении у человека внутривенных форм итраконазола (гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин) или вориконазола (SBECD). Как и в отношении вориконазола, инструкция для внутривенной формы позаконазола указывает на необходимость отказа от ее применения у пациентов со среднетяжелой или тяжелой почечной недостаточностью (расчетная скорость клубочковой фильтрации  $< 50$  мл/мин), за исключением ситуаций, когда ожидаемая польза от терапии перевешивает возможные риски [3–5]. Необходимость создания комплекса активной молекулы позаконазола с транспортной субстанцией была подтверждена рядом исследований, в одном из которых было показано, что создание комплексов на основе 2,6-ди-О-метил- $\beta$ -циклодекстрина (DM- $\beta$ -CD) может быть предпочтительнее использования простого  $\beta$ -циклодекстрина, так как растворимость и стабильность первого примерно в 9 раз превышает таковые для  $\beta$ -циклодекстрина. Комплексы с применением обоих компонентов сопровождалось сохранением высоких показателей активности *in vitro* [49].

Необходимо упомянуть и одно из ранних, досрочно завершившихся исследований I фазы формы позаконазола для внутривенного введения, в которое было включено 72 пациента, проведенное как двухэтапное исследование с использованием

нарастающих однократных доз или многократных доз [50]. Пациенты получали позаконазол в виде периферических инфузий в течение 30 минут. После введения однократной дозы 50–300 мг средние показатели ПФК<sub>0–∞</sub> позаконазола находились в пределах от 4890 до 46400 нг×ч/мл. Хотя применение внутривенной формы позаконазола показало несколько большее, чем просто дозозависимое увеличение концентраций препарата, это в основном было отмечено при применении меньших, чем рекомендованные, клинических доз ( $\leq 200$  мг). В рамках анализа безопасности часть пациентов получали плацебо или внутривенный раствор, содержащий только SBECD. В первой части анализа безопасности (однократная доза) у 40% пациентов было отмечено как минимум одно НЯ. Реакции в месте введения препарата имели место у 2 (22%) из 9 пациентов, получавших только SBECD, отсутствовали у пациентов на терапии плацебо и были отмечены у 7 (16%) из 45 пациентов, получавших позаконазол. Во второй части анализа (многократные дозы) реакции в месте введения препарата имели место у 3 (33%) из 9 пациентов, получавших только SBECD, у 1 (25%) из 4 пациентов на терапии плацебо и были отмечены у 4 (80%) из 5 пациентов, получавших позаконазол, при этом у 3 (60%) из 5 пациентов последней группы было зафиксировано развитие тромбоза. Исследование было досрочно прекращено в связи с плохой переносимостью исследуемой формы позаконазола при ее введении в периферическую вену в течение 30 минут. Это исследование стало причиной поиска оптимального пути введения позаконазола, о чем уже было сказано выше.

В табл. 2 приведены показания, дозы и показатели ФК различных лекарственных форм позаконазола, полученные у здоровых добровольцев, представленные в сообщениях ряда авторов.

### Данные клинических исследований

Терапевтическая эффективность непосредственно таблетированной формы и раствора для внутривенного введения позаконазола не оценивалась напрямую в клинических исследованиях, в связи с чем в основе принятия решения о регистрации новых лекарственных форм препарата лежали данные по эффективности СПП позаконазола, а также улучшенный профиль ФК. Показания для применения позаконазола в целом могут быть разделены на две категории — профилактика и терапия.

### Профилактика

Применительно к использованию позаконазола для профилактики следует упомянуть несколько

Таблица 2. Зарегистрированные показания и дозы (ЕМЕА), а также показатели ФК различных лекарственных форм позаконазола (здоровые добровольцы) [4, 36, 45, 50]

Показания к применению позаконазола	Пероральная суспензия	Таблетка с замедленным высвобождением	Внутривенный раствор
Дозы позаконазола			
Рефрактерная ИГИ/ непереносимость терапии первой линии	200 мг 4 р/сут, 400 мг 2 р/сут вместе с пищей	300 мг 2 р/сут нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут	300 мг 2 р/сут нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут
Орофарингеальный кандидоз	200 мг нагрузочная доза в первый день, далее 100 мг 1 р/сут вместе с пищей	–	–
Профилактика ИГИ	200 мг 3 р/сут вместе с пищей	300 мг 2 р/сут нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут	300 мг 2 р/сут нагрузочная доза в первый день, далее 300 мг 1 р/сут
Показатели ФК			
Объем распределения, л	1774	394 (294–583)	261
$T_{max}$ , ч	3	4–5	90 мин (конец инфузии)
Связывание с белками, %	98	98	98
$t_{1/2}$ , ч	35 (20–66)	29 (26–31)	27
Выведение, %	ЖКТ – 77 Почки – 14	ЖКТ – 77 Почки – 14	ЖКТ – 77 Почки – 14
Время достижения равновесного состояния, дни	7–10	6	6
Зависимость от приема пищи	Увеличение $C_{max}$ (330%) и ПФК (360%) при приеме вместе с пищей с высоким содержанием жиров	Увеличение $C_{max}$ (51%) и ПФК (16%) при приеме вместе с пищей с высоким содержанием жиров	Не применимо

опорных исследований III фазы, которые позволили позаконазолу занять свою нишу в профилактике ИГИ.

А. Ullmann и соавт. проведено сравнение эффективности позаконазола и флуконазола для предупреждения ИГИ в рамках многоцентрового, рандомизированного, двойного-слепого исследования [51, 52]. Было включено 600 пациентов с ТКСК и РТПХ или получающих высокоактивную иммуносупрессивную терапию, которые были рандомизированы в одну из групп терапии продолжительностью 16 недель. Одна когорта пациентов получала позаконазол в дозе 200 мг три раза в сутки с капсулами плацебо один раз в сутки, в то время как вторая когорта получала флуконазол в дозе 400 мг один раз в сутки в виде инкапсулированных таблеток и плацебо в виде СПП три раза в сутки. Позаконазол показал, что он как минимум не хуже (non-inferior) флуконазола в предупреждении случаев ИГИ (5,3 и 9%) и при этом ожидаемо превосходил флуконазол в отношении аспергиллеза (2,3 и 7%). Имела место одинаковая частота НЯ (36 и 38%) и частота случаев прекращения терапии в связи с НЯ (34 и 38%) среди указанных когорт пациентов.

О. Cornely и соавт. провели исследование, в котором сравнили эффективность позаконазола с флуконазолом и итраконазолом для профилактики ИГИ у пациентов, получающих терапию в связи с онкогематологическим заболеванием, и у которых ожидалась нейтропения [54]. В исследование было рандомизировано 602 пациента, которые получали позаконазол 200 мг три раза в сутки в виде СПП или один из альтернативных азолов – флуконазол в дозе 400 мг один раз в сутки или итраконазол 200 мг два раза в сутки общей продолжительностью до 12 недель. Выбор флуконазола и итраконазола основывался на мнении врача-исследователя. Позаконазол продемонстрировал преимущество в предупреждении ИГИ над группами сравнения (частота ИГИ 2 и 8% соответственно), при этом среднее время до наступления эпизода ИГИ было выше в группе позаконазола (41 и 25 дней соответственно). В группе позаконазола имели место более низкие показатели летальности во время терапии – 16 и 22% соответственно. Профили переносимости препаратов были сопоставимы.

В одном из ретроспективных исследований была обнаружена большая частота смены профилактического режима в группе микафунгина в сравнении

с группой позаконазола среди 121 пациента с ОМЛ, большинство из которых получали стандартный режим терапии на основе даунорубицина и цитарабина («7+3»). Основной причиной смены профилактической терапии было подозрение на ИГИ — 1 из 6 vs. 10 из 13 ( $p < 0,001$ ) в группе позаконазола и микафунгина соответственно [55].

К настоящему времени есть данные, указывающие на то, что таблетированная форма позаконазола превосходит флуконазол и итраконазол в отношении показателей стоимость-эффективность при использовании с целью профилактики ИГИ у пациентов с нейтропенией на фоне ОМЛ или МДС, что в частности было показано в исследовании R. Samaga и соавт., где применение таблеток позаконазола обусловило вероятность снижения затрат, связанных с терапией ИГИ, на уровне 75,5% в сравнении с флуконазолом и итраконазолом [56]. Противоположные результаты были получены в исследовании C. Solano и соавт. [57], где было проведено сравнение профилактики с использованием вориконазола и позаконазола с помощью модели принятия решений в гипотетической когорте из 1000 пациентов с аллогенной ТКСК. Было обнаружено, что терапия вориконазолом сопровождалась меньшим числом случаев прорывных ИГИ (вориконазол — 36, позаконазол — 60), меньшим числом случаев смерти в связи с прорывными ИГИ (вориконазол — 24, позаконазол — 33) и, как следствие, меньшими экономическими затратами в сравнении с позаконазолом для первичной профилактики у пациентов с алло-ТКСК в период до 180 дней после трансплантации.

## Терапия

Эффективность СПП позаконазола для терапии ИГИ у пациентов с их рефрактерным течением или при непереносимости другой терапии оценивалась в двух проспективных, открытых, многоцентровых исследованиях. Исследование, проведенное T. Walsh и соавт. [58], было основано на сравнении проспективно полученных данных с ретроспективными данными, в то время как исследование X. Huang и соавт. [59] было несравнительным. Основной конечной точкой оценки эффективности была частота клинического ответа, включая полный ответ (разрешение клинических признаков и симптомов, а также радиологических изменений и данных микологического исследования). Большинство пациентов имели фоновые онкогематологические заболевания. В обоих исследованиях было показано, что позаконазол в виде СПП в дозе 800 мг в сутки отдельными дозами обеспечивает эффективную терапию «спасения» при ИГИ. В между-

народном исследовании пациенты с инвазивным аспергиллезом, у которых была неэффективность или непереносимость амфотерицина В, итраконазола, вориконазола и эхинокандинов, получали позаконазол в дозе 200 мг четыре раза в сутки в первый день и затем 400 мг два раза в сутки. В модифицированной ИТТ популяции полный или частичный ответ были достигнуты у 42% ( $n=107$ ) получавших позаконазол в сравнении с 26% ( $n=86$ ) во внешней контрольной группе на основании ретроспективных данных (отношение рисков 4,06; 95% ДИ 1,5–11,04;  $p=0,006$ ). Медиана продолжительности терапии составила 56 дней в группе позаконазола и 22 дня в контрольной группе. Совокупные показатели выживаемости составили 74 и 49% к 30 дням и 38 и 22% к концу терапии ( $p=0,0003$ ). Анализ равновесных плазменных концентраций показал, что наибольшая частота ответа имела место при наиболее высоких показателях концентрации позаконазола в плазме [58]. Среди 59 пациентов в Китае (возраст 16–75 лет) с ИГИ, которые не отвечали на терапию амфотерицином В, итраконазолом, вориконазолом, флуконазолом или эхинокандинами, или же имели их плохую переносимость, терапия позаконазолом в дозе 400 мг два раза в сутки в течение 12 недель привела к совокупному клиническому ответу (полный и частичный) на уровне 64,4%. Исходно этиологическими агентами ИГИ были *Aspergillus* spp., *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. glabrata*, а также *Mucor* spp. [59].

Ретроспективные данные также говорят об эффективности позаконазола в качестве терапии «спасения» у пациентов с ИГИ, вызванными различными возбудителями, включая кокцидиоидомикоз, фузариоз и мукормикоз [60–62]. Так, в исследовании M. Kim и соавт. [60] у 37 взрослых пациентов с рефрактерным (у большинства пациентов имела место предшествующая терапия флуконазолом) кокцидиоидомикозом эффективность позаконазола в дозе 400 мг два раза в сутки была сравнима с таковой вориконазола. Улучшение (на основании шкалы оценки MSG или в комбинации с клинической оценкой) имело место у 75% пациентов в группе позаконазола и у 67% пациентов, получавших вориконазол, с медианой продолжительности терапии сравнения, равной 17 и 6 месяцам соответственно. Есть данные о применении позаконазола у 12 пациентов с рино-орбито-церебральным мукормикозом [18], среди которых у 8 (66,6%) имело место полное разрешение процесса с медианой периода последующего наблюдения, равной 6,5 мес. У 2 (16,6%) пациентов имелось значимое снижение интенсивности заболевания и у 2 (16,6%) при последующем наблюдении были отмечены выраженные

признаки исходной инфекции. Как и ожидалось, неконтролируемый диабет был предрасполагающим фактором риска у всех пациентов, за исключением одного. Также описан случай [63] применения позаконазола в качестве терапии «спасения» у пациентки 55 лет с рино-церебральным мукормикозом, который развился через 108 дней после трансплантации печени на фоне терапии сиролимусом. После 3 месяцев терапии позаконазолом у пациентки в течение 3 лет отсутствовали какие-либо признаки заболевания. Не было отмечено токсических проявлений, связанных с увеличением концентрации сиролимуса. Учитывая улучшенный профиль биодоступности таблетированной формы позаконазола, он может быть препаратом выбора у пациентов, у которых необходимо сохранение иммуносупрессивной терапии препаратами, метаболизм которых происходит с участием CYP3A4.

В исследовании W. Jeong и соавт. [64] сделали попытку оценить безопасность, клиническую эффективность внутривенной формы позаконазола, а также изучить остаточные концентрации позаконазола в плазме у пациентов с онкогематологическими заболеваниями и/или ТКСК. В общей сложности было проведено 70 курсов внутривенной терапии, из которых 61 был использован для профилактики ИГИ с медианой продолжительности 10 дней. Не было отмечено случаев прорывных ИГИ или отмены внутривенной терапии позаконазолом. Среди 9 курсов, которые были назначены с целью терапии ИГИ с медианой продолжительности, равной 19 дням, улучшение признаков и симптомов ИГИ было отмечено в 5 случаях на момент отмены и в 6 случаях на 30-й день после прекращения терапии позаконазолом. Не было отмечено НЯ, связанных непосредственно с внутривенным введением препарата, однако 6 курсов были сокращены в связи с потенциальной токсичностью.

**Орофарингеальный кандидоз.** Эффективность позаконазола в сравнении с флуконазолом оценивалась у пациентов с *орофарингеальным кандидозом* (ОФК) на фоне ВИЧ-инфекции/СПИДа в рандомизированном исследовании, в которое было включено 350 пациентов [65]. Пациенты были рандомизированы в две группы терапии — позаконазолом и флуконазолом в виде СПП с приемом нагрузочной дозы, равной 200 мг в первый день и последующим приемом в дозе 100 мг в сутки каждого препарата в течение 14 дней. В конце периода терапии клинический успех (определяемый как излечение или улучшение симптоматики ОФК) был отмечен в обеих группах терапии: 91,7% в группе позаконазола и 92,5% в группе флуконазола. Через 42 дня после завершения исследования среди пациентов

с клиническим успехом частота рецидивов составила 31,5% в группе позаконазола в сравнении с 38,2% в группе флуконазола; в то же время микологическая эрадикация была значимо выше в группе позаконазола (35,6% vs. 24,2% соответственно). Профили безопасности исследуемых препаратов не имели принципиальных различий.

D. Skriest и соавт. [66] оценили эффективность терапии позаконазолом у пациентов с ОФК, рефрактерным к терапии другими азолами. В данном исследовании приняли участие пациенты с ОФК или кандидозом пищевода на фоне ВИЧ-инфекции, которые не отвечали на стандартную терапию флуконазолом или итраконазолом. Пациенты получали позаконазол в дозе 400 мг два раза в сутки в течение 3 дней с последующим приемом 400 мг один раз в сутки в течение 25 дней или же они находились в течение 28 дней на терапии 400 мг два раза в сутки. Клинический успех был отмечен у 75% из 176 пациентов, который определялся как излечение или клиническое улучшение. Через четыре недели после приема последней дозы у 74% из 80 пациентов с клиническим ответом имел место рецидив заболевания: 80% пациентов, находившихся на терапии с приемом препарата один раз в сутки, и 68% пациентов, принимавших позаконазол два раза в сутки.

**Другие одобренные показания.** Был проведен также ряд исследований с целью обоснования применения позаконазола при других формах ИГИ, в случае неэффективности или плохой переносимости терапии первой линии [3–5]. У 330 пациентов с различными типами ИГИ, которые не отвечали на терапию другими АМ или же у пациентов была ее плохая переносимость, включая азолы, эхинокандины и амфотерицин В, позаконазол применялся в дозе 200 мг три раза в сутки во время госпитализации или по 400 мг два раза в сутки во внебольничном периоде общей продолжительностью до одного года. В целом около 50% пациентов ответили на терапию позаконазолом со следующими показателями эффективности применительно к отдельным типам ИГИ: аспергиллез — 42%, фузариоз — 39%, хромобластомикоз или мицетома — 82%, кокцидиоидомикоз — 69%.

A. Catanzaro и соавт. [67] оценивали эффективность позаконазола у пациентов с кокцидиоидомикозом. Позаконазол применялся в дозе 400 мг один раз в сутки у 20 нелеченых пациентов с неменингеальным диссеминированным или хроническим легочным кокцидиоидомикозом. У 85% пациентов был отмечен ответ на терапию, который определялся как снижение на 50% или более балла по шкале MSG в сравнении с исходным. Подобное исследование было проведено D. Stevens и соавт. [68], где

у 15 пациентов с рефрактерным кокцидиоидомикозом применялся позаконазол в дозе 800 мг в сутки (в виде отдельных доз) продолжительностью до одного года. В конце периода терапии у 73% пациентов был отмечен ответ, при этом у 4 пациентов было полное излечение, а у 7 пациентов — частичное разрешение заболевания. Переносимость позаконазола была хорошей. Описан случай [69] применения таблетированной формы позаконазола у 65-летнего пациента с абсцессом мозга, вызванном *Aspergillus* spp., после резекции аспергилломы синуса. Поддерживающая доза, равная 300 мг каждые 24 часа, привела к созданию терапевтических концентраций в сыворотке и клинической эффективности с хорошей переносимостью терапии.

**Применение позаконазола вне одобренных показаний (off-label).** Позаконазол также исследовался при более редких видах ИГИ, как правило в качестве терапии спасения среди небольших когорт пациентов или в рамках отдельных случаев применения препарата. А. Restrepo и соавт. [69] сообщили о шести случаях применения позаконазола в качестве препарата спасения у пациентов с гистоплазмозом, у которых он применялся в суточной дозе 800 мг (в виде отдельных доз), при этом во всех случаях было отмечено клиническое улучшение в ответ на терапию в пределах месяца с момента начала лечения. Р. Pitisuttithum и соавт. [70] исследовали применение позаконазола у 39 пациентов с ИГИ с поражением ЦНС, при этом большинство пациентов имели рефрактерную форму заболевания (95%) или ВИЧ-инфекцию (74%). Этиологическими агентами выступали различные патогены, среди которых *Cryptococcus* spp., *Aspergillus* spp., *Pseudallescheria boydii*, *C. immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Ramichloridium mackenzii* и др. Пациенты получали СПП позаконазола в дозе 800 мг в сутки (в виде отдельных доз) как минимум в течение месяца и при общей продолжительности до года. Клинический ответ был получен у 48% пациентов с инфекцией *Cryptococcus* spp. и у 50% пациентов с другими ИГИ. Полученные данные позволили сделать предположение об эффективности позаконазола при лечении ИГИ с локализацией в ЦНС. Описан также случай успешной терапии позаконазолом пневмонии, вызванной *Paecilomyces variotii*, после неэффективной начальной терапии вориконазолом [72].

В настоящее время проводится несколько исследований разных лекарственных форм позаконазола, в том числе изучение ФК позаконазола при его применении с целью профилактики ИГИ у пациентов с гемобластомами (NCT02805946); исследование для оценки безопасности и ФК внутривенной и перо-

ральной форм позаконазола у иммуноскомпромированных детей с нейтропенией (NCT0245234), а также исследование безопасности и эффективности позаконазола в сравнении с вориконазолом для терапии инвазивного аспергиллеза (NCT01782131) [73].

В табл. 3 представлены данные по опорным клиническим исследованиям позаконазола, более подробно описанные в тексте.

### Безопасность и переносимость

Следует отметить, что в целом позаконазол хорошо переносится и обладает благоприятным профилем безопасности [74]. R. Courtney и соавт. [75] оценили переносимость СПП позаконазола в дозах, достигающих 400 мг два раза в сутки в исследовании I фазы у здоровых добровольцев. Отмеченные НЯ были незначительными по интенсивности и были представлены, в частности, утомляемостью и сухостью во рту. В последующих исследованиях, в том числе III фазы, позаконазол также показал хороший профиль безопасности с наиболее частыми НЯ со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота и диарея), а также нейтропенией и повышением уровня печеночных ферментов [53, 66]. В целом профиль безопасности позаконазола сравним с таковым у других системных азолов. В объединённом анализе 18 контролируемых исследований у здоровых добровольцев и пациентов ( $n=448$ ), получавших СПП позаконазола в дозе 50–1200 мг/сут продолжительностью до 14 дней, позаконазол в целом обладал хорошей переносимостью. Частота НЯ на фоне приема препарата составила 57% в группе позаконазола и 63% у получавших плацебо участников исследования, при этом она не зависела от дозы позаконазола. Наиболее частыми НЯ, связанными с приемом позаконазола, были головная боль (17%), сухость во рту (9%) и головокружение (6%). Терапия позаконазолом была связана с незначительным или умеренным повышением уровня печеночных ферментов и низкой вероятностью удлинения интервала QT [76]. За исключением реакций в месте введения препарата, внутривенная форма позаконазола имела незначительные различия в профиле безопасности с СПП.

Предварительные данные позволяют говорить о том, что наиболее частыми (>25% пациентов) НЯ при применении таблеток с замедленным высвобождением позаконазола являются тошнота, рвота и повышение температуры тела. Результаты исследования у здоровых добровольцев указывают на идентичный с СПП профиль безопасности, однако незначительное асимптоматическое повышение уровня печеночных ферментов может иметь место

Таблица 3. Опорные клинические исследования позаконазола

Автор, год [ссылка]	Исследуемая популяция	Основная конечная точка	Терапия	Эффективность, %	Нежелательные явления, %
Профилактика ИГИ					
Ullmann A., et al., 2007 [52]	600 пациентов с ТКСК и РТПХ	Частота вероятных или подтвержденных ИГИ	ПОЗ 200 мг 3 р/с + плацебо капсулы <i>ИЛИ</i> ФЛУ 400 мг 1 р/с + плацебо суспензии	Частота ИГИ ПОЗ – 5,3 ФЛУ – 9	ПОЗ – 36 ФЛУ – 38
Cornely O., et al., 2007 [54]	602 пациента на химиотерапии в связи с ОМЛ или МДС	Частота вероятных или подтвержденных ИГИ	ПОЗ 200 мг 3 р/с <i>ИЛИ</i> ФЛУ 400 мг 1 р/с / ИТР 200 мг 3 р/с	Частота ИГИ ПОЗ – 2 ФЛУ/ИТР – 8	ПОЗ – 52 ФЛУ/ИТР – 59
Терапия ИГИ					
Vazquez J., et al., 2007 [65]	350 пациентов с ВИЧ-инфекцией и ОФК	Клинический успех (излечение или улучшение после 28 дней)	ПОЗ 200 мг 1 р/с в 1-й день, далее 100 мг 1 р/с 13 дней <i>ИЛИ</i> ФЛУ 200 мг 1 р/с в 1-й день, далее 100 мг 1 р/с 13 дней	Клинический успех ПОЗ – 91,7 ФЛУ – 92,5	ПОЗ – 64 ФЛУ – 68
Skiest D., et al., 2007 [66]	199 пациентов с ОФК, не отвечающим на терапию азолами, или кандидозом пищевода	Клинический успех (излечение или улучшение после 28 дней)	ПОЗ 400 мг 2 р/с – 3 дня, далее 400 мг 1 р/с 25 дней <i>ИЛИ</i> ПОЗ 400 мг 2 р/с 28 дней	Клинический успех Группа 1 – 75,3 Группа 2 – 74,7	В обеих группах – 49
Huang X., et al. 2012 [59]	63 пациента с ИГИ, не отвечающими на терапию другими АМ	Совокупная частота ответа в конце периода терапии ПОЗ	ПОЗ 400 мг 2 р/с до 12 недель	Совокупный клинический ответ в конце терапии (12-я неделя) – 64,4	79

**Примечание.** ИТР – итраконазол; ПОЗ – позаконазол; р/с – раз в сутки; ФЛУ – флуконазол. Во всех исследованиях позаконазол применялся в виде СПП.

при использовании стандартных дозировок, в связи с чем во время терапии позаконазолом следует проводить мониторинг уровня печеночных ферментов [34, 35, 37, 39]. Результаты первых исследований указывали на минимальные проблемы с безопасностью относительно удлинения интервала QT при применении таблетированной формы позаконазола [36], однако последующие данные указали на способность таблеток позаконазола приводить к повышению уровня печеночных ферментов в дополнение к удлинению интервала QT [77]. В связи с этим у пациентов необходим контроль уровня ферментов печени и продолжительности интервала QT.

В исследовании J. Maertens и соавт. [45] совокупная частота НЯ была достаточно высокой в обеих группах при терапии с многократным внутривенным введением препарата (95 и 100%). НЯ, связанные с терапией, были чаще в когорте пациентов, получавших 300 мг позаконазола, чем в когорте с дозировкой 200 мг: 8 (33%) и 3 (14%) пациентов

соответственно. Хотя число НЯ, приведших к отмене терапии, было выше в когорте с дозировкой 300 мг – 7 (29%) и 4 (19%) пациентов, только один эпизод в когорте с дозировкой 300 мг был расценен как серьезное НЯ, связанное с терапией, при этом в когорте с дозировкой 200 мг подобные эпизоды отсутствовали. В когорте с дозировкой 300 мг наблюдался случай нарушения функции почек, и он не был расценен как связанный с исследуемой терапией. Не было отмечено связанных с терапией случаев гепатотоксичности или удлинения интервала QT. Наиболее частыми НЯ (отмечаемыми у >15% пациентов) в когорте с повторным дозированием препарата были тошнота, диарея, лихорадка, сыпь, кашель, головная боль, геморрой и гипокалиемия. Инфузионные реакции и тромбофлебит отсутствовали при введении препарата в течение 90 минут через ЦВК. В каждой когорте с повторным введением препарата было по одному случаю вероятной/подтвержденной прорывной ИГИ. В когорте с дози-

ровкой 300 мг было четыре возможных случая прорывной ИГИ. На основании полученных данных по изучению профиля безопасности и ФК показателей доза 300 мг внутривенно была выбрана для дальнейших исследований III фазы.

### Лекарственные взаимодействия

Как и другие АМ из группы триазолов, позаконазол имеет ряд клинически значимых лекарственных взаимодействий [19, 78]. Как уже обсуждалось, в отличие от СПП применение таблетированной формы позаконазола не приводит к клинически значимым эффектам при совместном приеме с препаратами, влияющими на рН в просвете желудка, включая ингибиторы протонной помпы, антагонисты  $H_2$ -рецепторов и антациды, а также на его моторику (метоклопрамид) [40]. В связи с этим не требуется коррекции доз позаконазола при совместном применении с этими препаратами [3–5]. Позаконазол является субстратом для мембранного транспортера Р-гликопротеина и ингибитором фермента СУР3А4, однако, в отличие от итраконазола и вориконазола, не оказывает влияния на другие ферменты системы цитохрома [29]. При применении позаконазола следует соблюдать соответствующие рекомендации в текущей версии инструкции по применению препарата [3–5].

Как отмечалось ранее, позаконазол подвергается метаболизму в печени путем глюкуронидации (УДФ) и является субстратом для Рgp-опосредованного эффлюкса. Индукторы глюкуронидации (УДФ), такие как рифабутин или фенитоин, были связаны со снижением максимальной концентрации и ПФК позаконазола при совместном применении с таблетированной формой позаконазола. Рифабутин приводил к снижению на 43%  $C_{max}$  и на 49% показателя ПФК, в то время как фенитоин был связан со снижением  $C_{max}$  на 41% и ПФК на 50%. Более того, позаконазол как сильный ингибитор СУР3А4 может подавлять метаболизм фенитоина и рифабутина, являющихся субстратами для СУР3А4, что может привести к созданию супратерапевтических концентраций препаратов [79–81]. Повышение концентрации фенитоина, тем не менее, не оказалось значимым при исследовании у здоровых добровольцев. Повышение концентраций индукторов УДФ может в последующем усилить метаболизм позаконазола, в связи с этим их применения вместе с позаконазолом следует избегать [3–5]. Несмотря на то что позаконазол является сильным ингибитором изофермента СУР3А4, его активность направлена исключительно на СУР3А4, с отсутствием значимого влияния на другие печеночные изоферменты системы цитохрома [81].

Достаточно важным, с клинической точки зрения, является взаимодействие позаконазола с такими иммуносупрессантами, как такролимус, циклоспорин и сиролимус [82]. Следует иметь в виду, что данные препараты часто применяются у пациентов после трансплантации. На основании имеющихся данных применения сиролимуса и позаконазола следует избегать, однако терапия такролимусом и циклоспорином возможна при условии контроля концентраций препаратов и снижения применяемых доз такролимуса и циклоспорина. С. Robinson и соавт. [83] провели одноцентровое ретроспективное исследование применения СПП позаконазола у реципиентов-трансплантатов легких, в котором одной из задач была оценка возможных взаимодействий позаконазола и такролимуса. Несмотря на применение стратегии, направленной на коррекцию доз, у 11,7% пациентов были отмечены супратерапевтические уровни такролимуса, что в пяти случаях привело к связанному с этим повышению уровня креатинина сыворотки. В ретроспективном исследовании [84] было оценено применение СПП позаконазола для первичной или вторичной профилактики у 66 пациентов, среди которых 49 (74%) получали сопутствующую терапию сиролимусом. После начала терапии позаконазолом снижение дозы сиролимуса на 55–70% потребовалось у 19 пациентов. Авторы указывают на необходимость применения *терапевтического лекарственного мониторинга* (ТЛМ) у пациентов, находящихся на терапии СПП позаконазола, что связано как с необходимостью отслеживания концентраций сиролимуса, так и на показанной в данном исследовании корреляции между плазменными концентрациями позаконазола и эффективностью его профилактического применения (частота ИГИ – 5% у пациентов, которым проводился ТЛМ). Исследования также показали, что позаконазол способен увеличивать ПФК мидазолама в 3–5 раз и увеличивать ПФК симвастатина в 5–11 раз, что требует тщательного наблюдения за пациентами, получающими данные препараты [85]. Кроме того, следует соблюдать осторожность при совместном применении антиретровирусных препаратов – атазанавира и ритонавира, так как позаконазол может приводить к повышению концентрации этих препаратов с развитием соответствующих токсических проявлений [29].

В табл. 4 представлены основные виды лекарственных взаимодействий триазолов с препаратами других фармацевтических групп.

### Дозирование и способы введения

В настоящее время доступны таблетки, содержащие 100 мг препарата, которые следует принимать



Таблица 4. Основные лекарственные взаимодействия триазолов [29]

Фармацевтические группы	Флуконазол	Итраконазол	Вориконазол	Позаконазол
Алкалоиды барвинка	?	↑	↑	↑
Блокаторы Ca <sup>2+</sup> -каналов	↑	↑	↑	↑
Бусульфан	НЕТ	↑	↑	?
Мидазолам	↑	↑	↑	↑
Омепразол	НЕТ	↓↓ КАПС.	↑ ВОР	↓ ПОЗ
Рифампицин	↓ ФЛУ	↓↓ ИТР	↓↓ ВОР	↓ ПОЗ
Симвастатин	↑	↑↑	↑↑	↑↑
Сиролимус	↑	↑↑	↑↑	↑↑
Такролимус	↑	↑	↑↑	↑↑
Фенитоин	↑	↑	↑↑	↑
	↓↓ ФЛУ	↓↓ ИТР	↓↓ ВОР	↓ ПОЗ
Хинидин	↑	↑	↑	↑
Циклоспорин	↑	↑	↑	↑
Эверолимус	↑	↑↑	↑↑	↑↑

независимо от приема пищи, обязательно целиком, не разжевывая. Необходимо помнить о том, что таблетка и СПП позаконазола имеют различные показатели ФК и режимы дозирования, поэтому данные формы препарата не являются взаимозаменяемыми [48, 86]. Напомним, что в отличие от СПП, имеющиеся данные позволяют говорить о том, что ФК новой таблетированной формы позаконазола не подвержена влиянию pH в просвете желудка и подавляющей секрецию терапии, включая антациды, ингибиторы протонной помпы и метоклопрамид, в связи с чем коррекции доз не требуется.

Каждый флакон позаконазола для внутривенного введения содержит 300 мг/16,7 мл раствора (18 мг/мл). Исходный продукт должен храниться при температуре 2–8 °С и для приготовления дозы флакон должен быть адаптирован до комнатной температуры. Исходный объем 16,7 мл должен в асептических условиях быть перенесен в пакет или флакон со 150 мл 5% декстрозы или 0,9% раствора хлорида натрия. После смешивания препарат необходимо как можно быстрее ввести пациенту, либо оставить на хранение до 24 часов при температуре 2–8 °С. При приготовлении раствора он может быть полностью бесцветным, либо иметь желтый оттенок. Перед введением раствор должен быть визуально проверен на присутствие посторонних примесей. Внутривенное введение позаконазола должно осуществляться через ЦВК, имеющий встроенный фильтр с размерами пор 0,22 мкм. Продолжительность инфузии составляет 90 минут. В случае отсутствия ЦВК, доза может быть введена через периферический катетер с продолжительностью инфузии, равной 30 минутам, однократно, до того, как будет установлен ЦВК [3–5].

### Контроль над концентрациями позаконазола и роль ТЛМ

У пациентов, получающих позаконазол в виде СПП, определение сыровоточных концентраций является желательной, но не всегда выполнимой процедурой. Как уже говорилось, одним из самых главных преимуществ таблетированной формы позаконазола является ее значительно улучшенная биодоступность, в связи с чем у пациентов, скорее всего, будет меньшая вероятность недостижения целевых терапевтических концентраций, что, в свою очередь, может снизить потребность в проведении ТЛМ у таких пациентов [87–90]. Кроме того, на текущий момент нет возможности четко сформулировать показания для проведения ТЛМ у пациентов, принимающих таблетированную форму позаконазола, так как мы располагаем недостаточной информацией в отношении корреляции между клинической эффективностью и соответствующими пограничными значениями концентраций препарата. Результаты исследований Ib и III фаз и данные отдельных клинических случаев применения новой формы позаконазола позволяют предположить, что проведение ТЛМ у пациентов, принимающих таблетированную форму позаконазола, может не потребоваться, однако в определенных обстоятельствах, например у пациентов с тяжелой диареей, это может оказаться необходимым. Другой ситуацией может быть необходимость достижения и поддержания у конкретного пациента с ИГИ более высоких концентраций в крови, например у пациентов с рефрактерным инвазивным аспергиллезом, при котором, в частности, согласно рекомендациям *Британского общества по медицинской микологии (BSMM)*, необ-

ходимо проведение ТЛМ при выборе терапии позаконазолом с целью достижения максимально возможной его концентрации [91].

При низких плазменных концентрациях препарата вполне закономерным является увеличение дозы таблетированной формы позаконазола или же перевод пациента на другую лекарственную форму (внутривенно), однако данных в отношении безопасности более высоких дозировок позаконазола практически нет. В одном из сообщений у пациента с концентрацией позаконазола в плазме на уровне 9500 нг/мл имели место тошнота, слабость, костно-мышечные боли и прогрессирующая анемия как результат ошибочного назначения препарата в дозе 400 мг два раза в сутки в течение двух месяцев [92]. В другом сообщении было отмечено повышение уровня печеночных ферментов в более чем два раза (от нормальных или исходных значений) у 7 из 17 пациентов с уровнями позаконазола, превышающими 2000 нг/мл [77]. Роль создания достаточных концентраций позаконазола может быть также связана с оценкой риска появления прорывных ИГИ. Например, в исследовании N. Lerolle и соавт. [93] было показано, что у пациентов с ОМЛ, РТПХ, МДС или апластической анемией, получающих позаконазол для профилактики, наибольший риск прорывных ИГИ отмечается при сывороточных концентрациях препарата менее 0,3 мкг/мл (при референтном значении  $\geq 0,5$  мкг/мл) — ОР 7,90; ДИ 1,32–47;  $p=0,024$ . Подобные данные были получены и в исследовании M. Hoeningl и соавт. [94], где было показано, что среди 34 пациентов (109 показателей концентрации позаконазола в плазме), получавших позаконазол для профилактики ( $n=31$ ) или терапии ( $n=3$ ), у 70% имели место недостаточные концентрации препарата в плазме. У трех пациентов, получавших позаконазол с целью профилактики, наблюдались прорывные ИГИ. Этой же группой авторов были оценены потенциальные факторы, приводящие к недостаточным концентрациям позаконазола (в виде СПП) в плазме, и было обнаружено, что на основании мультивариантного анализа диарея являлась наиболее значимым предиктором низких плазменных концентраций позаконазола [95]. В исследовании S. Cattaneo и соавт. [96] достаточно четко была показана корреляция между сывороточными концентрациями позаконазола и риском развития прорывных ИГИ. По результатам анализа 77 пациентов с ОМЛ во время химиотерапии в фазе индукции было получено, что у 4 из 40 пациентов с медианой уровня позаконазола в плазме  $< 500$  нг/мл были зафиксированы ИГИ, при этом они имели место только у одного из 37 пациентов с медианой уровня  $\geq 500$  нг/мл (10% vs. 2,7%,  $p=0,19$ ). Примечательно,

что медиана уровня позаконазола в плазме на 7-й день составила 384,5 и 560,5 нг/мл у пациентов, которым в дальнейшем потребовалась или же не потребовалась системная противогрибковая терапия, соответственно ( $p=0,067$ ). В одном из когортных исследований профилактического применения СПП позаконазола была показана положительная корреляция между плазменной концентрацией позаконазола в 4-й день и концентрациями, полученными в 7(8) и 10–14-й дни, что может указывать (но требует дальнейших исследований) на потенциальную пользу от измерения концентраций позаконазола в ранний период с последующей коррекцией (изменение процедуры приема или дозы препарата) [97]. С. Girmenia и соавт. [98] в проспективном многоцентровом исследовании оценили необходимость проведения мониторинга плазменных концентраций позаконазола в рутинной практике у пациентов, получающих СПП с целью профилактики при ОМЛ и ТКСК. Результаты исследования показали, что, в случае отсутствия у пациента диареи, необходимости в рутинном мониторинге концентраций позаконазола при использовании его СПП нет: профиль концентраций позаконазола был адекватным (всегда  $\geq 0,7$  мкг/мл), пограничным (всегда  $\geq 0,5$  мкг/мл, но, как минимум, один раз  $< 0,7$  мкг/мл) и неадекватным ( $< 0,5$  мкг/мл, как минимум, один раз) среди 63,9, 14,5 и 21,7% курсов соответственно — при ОМЛ, и среди 62,2, 10,8 и 27,0% курсов соответственно — при алло-ТКСК. В отсутствие диареи вероятность получения неадекватного профиля концентраций составила 11,9% для пациентов с ОМЛ и 17,2% для пациентов с алло-ТКСК.

### Перспективы практического применения

АМ из группы триазолов вообще, и позаконазол в частности, продолжают оставаться препаратами первого ряда как для профилактики ИГИ у пациентов группы высокого риска, так и для терапии отдельных форм ИГИ, согласно текущим версиям практических рекомендаций [99–101]. Новые лекарственные формы позаконазола обеспечивают возможность введения препарата один раз в сутки с достижением адекватных и хорошо прогнозируемых концентраций позаконазола, в сравнении с его СПП. С одной стороны, это должно обеспечить снижение затрат на введение препарата, а с другой минимизирует необходимость проведения ТЛМ, в частности у пациентов, получающих позаконазол с целью профилактики на фоне массивной сопутствующей терапии. Вполне возможно, что со временем таблетированная форма позаконазола полностью вытеснит СПП по ряду уже обсуждавшихся объективных причин. В свою очередь, внутривенная

форма препарата представляет собой незаменимую опцию для пациентов, которые имеют ограниченные возможности для приема препарата внутрь (интубированные пациенты, нарушение моторики и/или всасывания в ЖКТ), а также в ситуациях, когда необходимо проведение «ступенчатой» терапии с использованием одного и того же АМ, прежде всего при тяжелых жизнеугрожающих ИГИ, в том числе при применении позаконазола в качестве терапии «спасения», вызванных, в частности, *Aspergillus* spp. и *Mucormycetes*. Это исключительно важно прежде всего в связи с возможностью новых лекарственных форм позаконазола обеспечивать более высокие концентрации в сыворотке и периферических органах. Нельзя исключить, что после появления данных масштабных рандомизированных контролируемых исследований позаконазол сможет занять свое место при лечении инвазивного аспергиллеза, потеснив вориконазол, для которого характерны несколько большее число потенциальных лекарственных взаимодействий и более высокий риск гепатотоксичности. Это касается и терапии инвазивного кандидоза, в частности в связи с тем, что у ЭК на текущий момент нет пероральных форм препаратов, а для ранних азолов достаточно актуально стоит проблема вторичной резистентности [58, 102].

Говоря о потенциальном применении позаконазола в *педиатрии*, отметим, что ретроспективный анализ среди пациентов педиатрического профиля в возрасте до 12 лет, которые получали высокодозную химиотерапию, или которым проводилась ТКСК, обнаружил безопасность и эффективность применения СПП позаконазола в дозе 4 мг/кг три раза в сутки, при этом показатели эффективности были в целом одинаковы с таковыми при применении вориконазола и итраконазола [103, 104]. В исследовании K. Vanstraelen и соавт. [105] было показано, что позаконазол может с безопасностью применяться у пациентов в возрасте до 10 лет с онкогематологическими заболеваниями в дозе 120 мг/м<sup>2</sup> три раза в сутки с целью эффективного предотвращения развития ИГИ, при этом показа-

тели ФК были сопоставимы с таковыми, полученными в предшествующих исследованиях ФК многократных доз у здоровых взрослых добровольцев. В проспективном фармакокинетическом исследовании, проведенном той же командой исследователей [106], было показано, что применение СПП позаконазола у детей с онкогематологическими заболеваниями в возрасте 13 лет и младше в дозе 120 мг три раза в сутки (с расчетом в зависимости от площади поверхности тела) сопровождается адекватными показателями системного воздействия позаконазола без возрастания частоты НЯ. Не было отмечено случаев развития ИГИ, а также связанных с терапией позаконазолом НЯ. Безусловно, нам необходимы данные полноценных проспективных клинических исследований у детей новых лекарственных форм позаконазола, что позволит с уверенностью применять данный препарат в педиатрической популяции пациентов.

### Заключение

Появление новых лекарственных форм позаконазола, несмотря на то что они пока недоступны на российском рынке, обеспечивает расширение возможностей для профилактики и терапии ИГИ. Это связано как с улучшенным профилем ФК таблетированной формы позаконазола, которая может приниматься один раз в сутки, независимо от приема пищи, так и с возможностью внутривенной терапии позаконазолом, как в рамках ступенчатого подхода, так и у пациентов с отсутствием возможности приема препарата внутрь. Благоприятный профиль безопасности и постоянно расширяющаяся научная и практическая база применения различных лекарственных форм позаконазола у разных популяций пациентов позволяют с уверенностью позиционировать позаконазол как один из ведущих АМ для системного применения. Расширение в будущем показаний для применения, прежде всего в качестве препарата первой линии для терапии ИГИ, еще более укрепит позиции позаконазола в достаточно узком перечне доступных на сегодняшний день противогрибковых препаратов для терапии ИГИ.

### Литература

1. Nagappan V., Deresinski S. Posaconazole: a broad-spectrum triazole antifungal agent. *Clin Infect Dis* 2007; 45:1610-7.
2. Sabatelli F., Patel R., Mann P., et al. *In vitro* activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2009-15.
3. Описание лекарственного препарата НОКСАФИЛ® (NOXAFIL). Доступно по адресу: [http://www.vidal.ru/drugs/noxafil\\_44645](http://www.vidal.ru/drugs/noxafil_44645).
4. EMEA. Noxafil: Summary of Product Characteristics. Available at: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000610/WC500037784.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000610/WC500037784.pdf).
5. Noxafil HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION. Available at: <http://www.accessdata>.

- fda.gov/drugsatfda\_docs/label/2015/022003s018s020,0205053s002s004,0205596s001s003lbl.pdf.
6. Gross B., Ihorst G., Jung M., Wasch R., Engelhardt M. Posaconazole therapeutic drug monitoring in the real-life setting: a single-center experience and review of the literature. *Pharmacother* 2013; 33:1117-25.
  7. Bryant A., Slain D., Cumpston A., Craig M. A post marketing evaluation of posaconazole plasma concentrations in neutropenic patients with hematologic malignancy receiving posaconazole prophylaxis. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37:266-9.
  8. Li Y., Theuretzbacher U., Clancy C., Nguyen M., Derendorf H. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic profile of posaconazole. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49:379-96.
  9. Kwon D., Mylonakis E. Posaconazole: a new broad-spectrum antifungal agent. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8:1167-78.
  10. Allendoerfer R., Loebenberg D., Rinaldi M., Graybill J. Evaluation of SCH 51048 in an experimental model of pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1345-8.
  11. Sugar A., Picard M. Treatment of murine pulmonary blastomycosis with SCH 51048, a broad-spectrum triazole antifungal agent. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:996-7.
  12. Karyotakis N., Dignani M., Anaissie E. SCH 51048, a new antifungal triazole active against hematogenous *Candida krusei* infections in neutropenic mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:775-7.
  13. Pfaller M., Messer S., Jones R. Activity of new triazole, SCH 56592, compared with those of four other antifungal agents tested against clinical isolates of *Candida* spp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:233-5.
  14. Sugar A., Liu X. *In vitro* and *in vivo* activity of SCH 56592 against *Blastomyces dermatitidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 20:1314-6.
  15. Galgiani J., Lewis M. *In vitro* studies of activities of the antifungal triazoles SCH 56592 and itraconazole against *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, and other pathogenic yeasts. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:180-3.
  16. Graybill J., Bocanegra R., Najvar L., Lobenberg D., Luther M. Granulocyte colony-stimulating factor and azole antifungal therapy in murine aspergillosis: role of immune suppression. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2467-73.
  17. Sun Q., Fothergill A., McCarthy D., Rinaldi M., Graybill J. *In vitro* activities of posaconazole, itraconazole, voriconazole, amphotericin B, and fluconazole against 37 clinical isolates of Zygomycetes. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1581-2.
  18. Manesh A., John A., Mathew B., et al. Posaconazole: an emerging therapeutic option for invasive rhino-orbito-cerebral mucormycosis. *Mycoses* 2016 Jul 22. doi: 10.1111/myc.12529. [Epub ahead of print].
  19. Frampton J., Scott L. Posaconazole: a review of its use in the prophylaxis of invasive fungal infections. *Drugs* 2008; 68:993-1016.
  20. Lass-Flörl C. Triazole antifungal agents in invasive fungal infections: a comparative review. *Drugs* 2011; 71:2405-19.
  21. Campoli P., Perlin D., Kristof A., et al. Pharmacokinetics of posaconazole within epithelial cells and fungi: insights into potential mechanisms of action during treatment and prophylaxis. *J Infect Dis* 2013; 208:1717-28.
  22. Sheppard D., Campoli P., Duarte R. Understanding antifungal prophylaxis with posaconazole in hematology patients: an evolving bedside to bench story. *Haematologica* 2014; 99:603-4.
  23. Klimko N., Vasilyeva N., Chernenkaya T., et al. Invasive candidiasis in intensive care units: results of prospective multicenter study in Russia. Proceedings of the 25<sup>th</sup> ECCMID, April 25-28, 2015, Copenhagen, Denmark. Abstr. EV0945.
  24. Arendrup M., Jensen R., Meletiadis J., et al. *In vitro* activity of isavuconazole and comparators against clinical isolates of the Mucorales order. Proceedings of the 55<sup>th</sup> ICAAC/ICC, September 17-21, 2015, San Diego, USA. Abstr. M-1309.
  25. Веселов А.В. Изавуконазол — новый противогрибковый препарат класса триазолов. *Проблемы медицинской микологии* 2015; 17(4):18-24.
  26. Wiederhold N., Fothergill A., McCarthy D., Sanders C., Sutton D. Evaluation of the *in vitro* potency of itraconazole, voriconazole, and posaconazole and against rare *Aspergillus* species. Proceedings of the 24<sup>th</sup> ECCMID, May 10-13, 2014, Barcelona, Spain. Abstr. P-0055.
  27. Arendrup M., Cuenca-Estrella M., Lass-Flörl C., et al. EUCAST technical note on *Aspergillus* and amphotericin B, itraconazole, and posaconazole. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: E248-50.
  28. Arendrup M., Cuenca-Estrella M., Lass-Flörl C., Hope W. Breakpoints for antifungal agents: an update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. and triazoles against *Aspergillus* spp. *Drug Resist Updat* 2013; 16:81-95.
  29. Lipp H. Clinical pharmacodynamics and pharmacokinetics of the antifungal extended-spectrum triazole posaconazole: an overview. *Br J Clin Pharma* 2010; 70:471-80.
  30. Ezzet F., Wexler D., Courtney R., et al. Oral bioavailability of posaconazole in fasted healthy subjects: comparison between three regimens and basis for clinical dosage recommendations. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44:211-20.
  31. Krishna G., Moton A., Ma L., et al. Pharmacokinetics and absorption of posaconazole oral suspension under various gastric conditions in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:958-66.
  32. Krishna G., Ma L., Vickery D., et al. Effect of varying amounts of a liquid nutritional supplement on the pharmacokinetics of posaconazole in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:4749-52.
  33. Walravens J., Brouwers J., Spriet I., et al. Effect of pH

- and comedication on gastrointestinal absorption of posaconazole: monitoring of intraluminal and plasma drug concentrations. *Clin Pharmacokinet* 2011; 50:725-34.
34. Krishna G., Ma L., Marinho M., Preston R., O'Mara E. A new solid oral tablet formulation of posaconazole: a randomized clinical trial to investigate rising single- and multiple-dose pharmacokinetics and safety in healthy volunteers. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:2725-30.
  35. Krishna G., Ma L., Marinho M., et al. Single-dose phase I study to evaluate the pharmacokinetics of posaconazole in new tablet and capsule formulations relative to oral suspension. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:4196-201.
  36. Duarte R., Lopez-Jimenez J., Cornely O., et al. Phase 1b study of new posaconazole tablet for the prevention of invasive fungal infections in high-risk patients with neutropenia. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:5758-65.
  37. Cornely O., Duarte R., Chandrasaker P., et al. Phase 3 pharmacokinetics and safety study of posaconazole tablet in patients at risk for invasive fungal infection. Proceedings of the 23<sup>rd</sup> ECCMID, April 27-30, 2013, Berlin, Germany. Abstr. LB2966.
  38. Cornely O., Duarte R., Haider S., et al. Phase 3 pharmacokinetics and safety study of a posaconazole tablet formulation in patients at risk for invasive fungal disease. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71:718-26.
  39. Duarte R., Jimenez J. Phase 1B study of the pharmacokinetics and safety of posaconazole solid oral tablet in patients at risk for invasive fungal infection. Proceedings of the 52<sup>nd</sup> ICAAC, September 9-12, 2012, San Francisco, USA. Abstr. A-1937.
  40. Kraft W., Chang P., van Iersel M., et al. Posaconazole tablet pharmacokinetics: lack of effect of concomitant medications altering gastric pH and gastric motility in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:4020-5.
  41. Heinz W., Egerer G., Lellek H., Boehme A., Greiner J. Posaconazole after previous antifungal therapy with voriconazole for therapy of invasive aspergillus disease, a retrospective analysis. *Mycoses* 2013; 56:304-10.
  42. Miceli M., Perissinotti A., Kauffman C., Couriel D. Serum posaconazole levels among haematological cancer patients taking extended release tablets is affected by body weight and diarrhoea: single centre retrospective analysis. *Mycoses* 2015; 58:432-6.
  43. Vanstraelen K., Prattes J., Maertens J., et al. Posaconazole plasma exposure correlated to intestinal mucositis in allogeneic stem cell transplant patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2016; 72:953-63.
  44. Pham A., Bubalo J., Lewis J. 2<sup>nd</sup>, et al. Comparison of posaconazole serum concentrations from haematological cancer patients on posaconazole tablet and oral suspension for treatment and prevention of invasive fungal infections. *Mycoses* 2016 Jan 6. doi: 10.1111/myc.12452. [Epub ahead of print].
  45. Maertens J., Cornely O., Ullmann A., et al. Phase 1B study of the pharmacokinetics and safety of posaconazole intravenous solution in patients at risk for invasive fungal disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:3610-7.
  46. Kersemaekers W., van Iersel T., Nassander U., et al. Pharmacokinetics and safety study of posaconazole IV solution by peripheral administration in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:1246-51.
  47. Cornely O., Haider S., Grigg A., et al. Phase 3 pharmacokinetics (PK) and safety study of posaconazole (POS) IV in patients (pts) at risk for invasive fungal infection (IFI). Proceedings of the 53<sup>rd</sup> ICAAC, September 10-13, 2013, Denver, USA. Abstr. A-292.
  48. Luke D., Tomaszewski K., Damle B., Schlamm H. Review of basic and clinical pharmacology of sulfobutylether- $\beta$ -cyclodextrin (SBECD). *J Pharm Sci* 2010; 99:3291-301.
  49. Tang P., Wang L., Ma X., et al. Characterization and *in vitro* evaluation of the complexes of posaconazole with  $\beta$ - and 2,6-di-O-methyl- $\beta$ -cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech* 2016 Feb 16. doi: 10.1208/s12249-016-0497-z. [Epub ahead of print].
  50. Nassander U., Kersemaekers W., van Iersel M., et al. Pharmacokinetics and safety study of posaconazole IV solution via peripheral administration in healthy subjects. Proceedings of the 53<sup>rd</sup> ICAAC, September 10-13, 2013, Denver, USA. Abstr. A-455.
  51. Ullmann A., Cornely O., Burchardt A., et al. Pharmacokinetics, safety, and efficacy of posaconazole in patients with persistent febrile neutropenia or refractory invasive fungal infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:658-66.
  52. Ullmann A., Lipton J., Vesole D., et al. Posaconazole or fluconazole for prophylaxis in severe graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2007; 356:335-47.
  53. Ascioğlu S., Rex J., de Pauw B., et al. Dealing with opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34:7-14.
  54. Cornely O., Maertens J., Winston D., et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007; 356:348-59.
  55. Rodriguez G., Kubin C., Chou L., et al. Evaluation of antifungal prophylaxis regimens in acute myeloid leukemia patients receiving induction chemotherapy. Proceedings of the 55<sup>th</sup> ICAAC/ICC, September 17-21, 2015, San Diego, USA. Abstr. M-1282.
  56. Cámara R., Grau S., Jurado M., et al. Cost-effectiveness of tablets of posaconazole compared to oral fluconazole or itraconazole in the prevention of invasive fungal diseases among high-risk neutropenic patients with either acute myelogenous leukaemia or myelodysplastic syndrome in Spain. Proceedings of the 26<sup>th</sup> ECCMID, April 9-12, 2016, Amsterdam, Netherlands. Abstr. P-1594.
  57. Solano C., Slavin M., Marks D., et al. Economic evaluation of voriconazole versus posaconazole as primary prophylaxis for the prevention of invasive fungal infections in patients undergoing allogeneic

- haematopoietic cell transplant. Proceedings of the 25<sup>th</sup> ECCMID, April 25-28, 2015, Copenhagen, Denmark. Abstr. O-188.
58. Walsh T., Raad I., Patterson T., et al. Treatment of invasive aspergillosis with posaconazole in patients who are refractory to or intolerant of conventional therapy: an externally controlled trial. *Clin Infect Dis* 2007; 44:2-12.
  59. Huang X., Wang F., Chen Y., et al. A multicenter, open-label study of posaconazole oral suspension in the treatment of invasive fungal infections in patients refractory to or intolerant of first-line therapy. *Future Microbiol* 2012; 7:201-9.
  60. Kim M., Vikram H., Kusne S., et al. Treatment of refractory coccidioidomycosis with voriconazole or posaconazole. *Clin Infect Dis* 2011; 53:1060-6.
  61. Raad I., Hachem R., Herbrecht R., et al. Posaconazole as salvage treatment for invasive fusariosis in patients with underlying hematologic malignancy and other conditions. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1398-403.
  62. Vehreschild J., Birtel A., Vehreschild M., et al. Mucormycosis treated with posaconazole: review of 96 case reports. *Crit Rev Microbiol* 2013; 39:310-24.
  63. Deyo J., Nicolsen N., Lachiewicz A., Kozlowski T. Salvage treatment of mucormycosis post-liver transplant with posaconazole during sirolimus maintenance immunosuppression. *J Pharm Pract* 2016 Feb 9. doi: 10.1177/0897190016628702. [Epub ahead of print].
  64. Jeong W., Haywood P., Shanmuganathan N., et al. Safety, clinical effectiveness and trough plasma concentrations of intravenous posaconazole in patients with haematological malignancies and/or undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: off-trial experience. *J Antimicrob Chemother* 2016 Aug 11. doi: 10.1093/jac/dkw322. [Epub ahead of print].
  65. Vazquez J. Posaconazole for the management of mucosal candidiasis. *Future Microbiol* 2007; 2:245-56.
  66. Skiest D., Vazquez J., Anstead G., et al. Posaconazole for the treatment of azole-refractory oropharyngeal and esophageal candidiasis in subjects with HIV infection. *Clin Infect Dis* 2007; 44:607-14.
  67. Catanzaro A., Cloud G., Stevens D., et al. Safety, tolerance, and efficacy of posaconazole therapy in patients with nonmeningeal disseminated or chronic pulmonary coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis* 2007; 45:562-8.
  68. Stevens D., Rendon A., Gaona-Flores V., et al. Posaconazole therapy for chronic refractory coccidioidomycosis. *Chest* 2007; 132:952-8.
  69. Restrepo A., Tobon A., Clark B., et al. Salvage treatment of histoplasmosis with posaconazole. *J Inf* 2007; 54:319-27.
  70. Pitussittithum P., Negroni R., Graybill J., et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:745-55.
  71. Conant M., Sha B., Proia L. Use of posaconazole delayed-release tablets for treatment of invasive aspergillosis. *Mycoses* 2015; 58:313-4.
  72. Feldman R., Cockerham L., Buchan B., et al. Treatment of *Paecilomyces variotii* pneumonia with posaconazole: case report and literature review. *Mycoses* 2016 Jul 12. doi: 10.1111/myc.12525. [Epub ahead of print].
  73. Available from: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov).
  74. Jacinto P., Chandrasekar P. Safety of posaconazole. *Expert Opin Drug Saf* 2013; 12:265-74.
  75. Courtney R., Pai S., Laughlin M., et al. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of oral posaconazole administered in single and multiple doses in healthy adults. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:2788-95.
  76. Moton A., Krishna G., Wang Z. Tolerability and safety profile of posaconazole: evaluation of 18 controlled studies in healthy volunteers. *J Clin Pharma Ther* 2009; 34:301-11.
  77. Pettit N., Han Z., delaCruz J., et al. Posaconazole (PCZ) Tablet Formulation Therapeutic Drug Monitoring (TDM) and Toxicity Analysis. Proceedings of the 54<sup>th</sup> ICAAC, September 5-9, 2014, Washington, DC, USA. Abstr.
  78. Bruggemann R., Alffenaar J., Blijlevens N., et al. Clinical relevance of the pharmacokinetic interactions of azole antifungal drugs with other coadministered agents. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1441-58.
  79. Krishna G., Sansone-Parsons A., Kantesaria B. Assessment following concomitant administration of posaconazole and phenytoin in healthy men. *Curr Med Res Opin* 2007; 23:1415-22.
  80. Krishna G., Parsons A., Kantesaria B., Mant T. Evaluation of the pharmacokinetics of posaconazole and rifabutin following co-administration to healthy men. *Curr Med Res Opin* 2007; 23:545-52.
  81. Wexler D., Courtney R., Richards W., et al. Effect of posaconazole on cytochrome P450 enzymes: a randomized, open-label, two-way crossover study. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21:645-53.
  82. Moton A., Ma L., Krishna G., et al. Effects of oral posaconazole on the pharmacokinetics of sirolimus. *Curr Med Res Opin* 2009; 25:701-7.
  83. Robinson C., Chau C., Yerkovich S., et al. Posaconazole in lung transplant recipients: use, tolerability, and efficacy. *Transpl Infect Dis* 2016; 18:302-8.
  84. Greco R., Barbanti M., Lupo Stranghellini M., et al. Coadministration of posaconazole and sirolimus in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation* 2016; 51:1022-4.
  85. Krishna G., Ma L., Prasad P., et al. Effect of posaconazole on the pharmacokinetics of simvastatin and midazolam in healthy volunteers. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8:1-10.
  86. Available from: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news\\_and\\_events/news/2016/06/news\\_detail\\_002557.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2016/06/news_detail_002557.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1).
  87. Shields R., Clancy C., Vadnerkar A., et al. Posaconazole serum concentrations among cardiothoracic transplant recipients: factors impacting trough levels and correlation with clinical response to therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:1308-11.

88. Dolton M., Ray J., Chen S., et al. Multicenter study of posaconazole therapeutic drug monitoring: exposure-response relationship and factors affecting concentration. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:5503-10.
89. Wiederhold N., Pennick G., Dorsey S., et al. A reference laboratory experience of clinically achievable voriconazole, posaconazole, and itraconazole concentrations within the bloodstream and cerebral spinal fluid. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:424-31.
90. Thompson G. 3<sup>rd</sup>, Rinaldi M., Pennick G., et al. Posaconazole therapeutic drug monitoring: a reference laboratory experience. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:2223-4.
91. Ashbee H., Barnes R., Johnson E., et al. Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: guidelines from the British Society for Medical Mycology. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:1162-76.
92. Martino J., Fisher B., Bosse K., Bagatell R. Suspected posaconazole toxicity in a pediatric oncology patient. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62:1682.
93. Lerolle N., Porcher R., Touratier S., et al. Breakthrough invasive fungal infections in patients receiving posaconazole primary prophylaxis: a four-year study. Proceedings of the 24<sup>th</sup> ECCMID, May 10-13, 2014, Barcelona, Spain. Abstr. eP-365.
94. Hoenigl M., Raggam R., Valentin T., et al. Posaconazole plasma concentrations in patients with hematologic malignancies: a cohort study. Proceedings of the 22<sup>nd</sup> ECCMID, March 31 - April 3, 2012, London, UK. Abstr. P-858.
95. Hoenigl M., Duettmann W., Theiler G., et al. Factors associated with low posaconazole plasma concentrations and impact of structured patient education: a cohort study. Proceedings of the 24<sup>th</sup> ECCMID, May 10-13, 2014, Barcelona, Spain. Abstr. P-1278.
96. Cattaneo C., Panzali A., Passi A., et al. Serum posaconazole levels during acute myeloid leukaemia induction therapy: correlations with breakthrough invasive fungal infections. *Mycoses* 2015; 58:362-7.
97. Hoenigl M., Duettmann W., Huber-Krassnitzer B., et al. Correlation of early trough levels (day 4) with steady-state posaconazole plasma concentrations – a cohort study. Proceedings of the 24<sup>th</sup> ECCMID, May 10-13, 2014, Barcelona, Spain. Abstr. eP-256.
98. Girmenia C., Annino L., Mariotti B., et al. Posaconazole oral suspension primary prophylaxis in acute leukemia and allogeneic stem cell transplant patients: can it be used without measurement of plasma concentration? *Med Mycol* 2016; 54:445-58.
99. Pappas P., Kauffman C., Andes D., et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62: e1-e50.
100. Ullmann A., Akova M., Herbrecht R., et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(Suppl 7):53-67.
101. Mousset S., Buchheidt D., Heinz W., et al. Treatment of invasive fungal infections in cancer patients: updated recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Ann Hematol* 2014; 93:13-32.
102. van Burik J., Hare R., Solomon H., et al. Posaconazole is effective as salvage therapy in zygomycosis: a retrospective summary of 91 cases. *Clin Infect Dis* 2006; 42: e61-5.
103. Doring M., Muller C., Johann P., et al. Analysis of posaconazole as oral antifungal prophylaxis in pediatric patients under 12 years of age following allogeneic stem cell transplantation. *BMC Infect Dis* 2012; 12:263.
104. Doring M., Blume O., Haufe S., et al. Comparison of itraconazole, voriconazole, and posaconazole as oral antifungal prophylaxis in pediatric patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:629-38.
105. Vanstraelen K., Colita A., Annaert P., et al. Posaconazole dosing strategy in pediatric hematology patients. Proceedings of the 24<sup>th</sup> ECCMID, May 10-13, 2014, Barcelona, Spain. Abstr. P-1696.
106. Vanstraelen K., Colita A., Bica A., et al. Pharmacokinetics of Posaconazole Oral Suspension in Children Dosed According to Body Surface Area. *Pediatr Infect Dis J* 2016; 35:183-8.

## Обзор доказательных данных по применению даптомицина при грамположительных инфекциях

Д.А. Попов<sup>1</sup>, Н.А. Зубарева<sup>2</sup>, А.В. Дехнич<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «ПГМУ им. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

<sup>3</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Даптомицин является единственным клинически применяемым представителем циклических липопептидов. Он обладает выраженной бактерицидной активностью, в том числе в отношении микробных клеток в составе биопленок. В спектр активности даптомицина входят практически все клинически значимые грам(+) бактерии, включая штаммы, устойчивые к другим классам антимикробных препаратов. На настоящий момент даптомицин зарегистрирован по двум показаниям: осложненные инфекции кожи и мягких тканей и инфекции кровотока, вызванные *S. aureus*, вклю-

чая бактериемию и эндокардит. Однако есть многочисленные исследования и наблюдения, показывающие потенциальную возможность использования даптомицина и при ряде других заболеваний, таких как инфекции костей и суставов, фебрильная нейтропения и др., вызванных полирезистентными грам(+) штаммами.

**Ключевые слова:** даптомицин, липопептиды, антибиотикорезистентность, инфекции кожи и мягких тканей, бактериемия, эндокардит, *S. aureus*, *Enterococcus* spp.

### Evidence Based Review on Daptomycin Use in the Treatment of Gram(+) Infections

D.A. Popov<sup>1</sup>, N.A. Zubareva<sup>2</sup>, A.V. Dekhnich<sup>3</sup>

<sup>1</sup> A.N. Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Perm State Medical University, Perm, Russia

<sup>3</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Daptomycin is the only clinically used member of a cyclic lipopeptides class of antibiotics. Daptomycin has rapid bactericidal activity against not only rapidly growing, but also against slow growing bacterial cells including those in biofilms. Spectrum of daptomycin's activity includes almost all clinically important Gram(+) microorganisms. At the moment daptomycin is approved for two indications — complicated skin and skin structure infections, and bloodstream infections — bacteremia and

right-sided endocarditis, caused by *S. aureus*. But at the same time there are a lot of clinical and experimental data showing that daptomycin could be an useful drug for the treatment of variety of other infections, such as bones and joints infections, febrile neutropenia, etc, especially those caused by multi-resistant strains.

**Key words:** daptomycin, lipopeptides, skin and skin structure infections, bacteremia, endocarditis, *S. aureus*, *Enterococcus* spp.

Контактный адрес:

Андрей Владимирович Дехнич

Эл. почта: Andrey.Dekhnich@antibiotic.ru



## Введение

Инфекции, вызываемые стафилококками и энтерококками, несмотря на комплекс мероприятий, направленных на ограничение их распространения, представляют собой важную проблему на современном этапе. В отличие от внебольничных штаммов, обычно проявляющих высокую чувствительность к оксациллину (стафилококки) и аминопеницилинам (энтерококки), нозокомиальные штаммы характеризуются возрастающей частотой устойчивости ко многим классам антибиотиков. Тревожной тенденцией последних лет является выход таких клонов во внебольничную среду.

В настоящее время в арсенале химиотерапевтов имеется достаточно большой набор препаратов, активных *in vitro* в отношении проблемных кокков. Вместе с тем, это разнообразие во многом кажущееся, так как оно далеко не всегда обеспечивает ожидаемую клиническую эффективность. В немалой степени это связано с несоответствием фармакодинамики и фармакокинетики того или иного препарата локализации и особенностям конкретного инфекционного очага у определенной группы пациентов.

На протяжении более полувека ванкомицин остается в ряду наиболее часто назначаемых препаратов при проблемных стафилококковых и энтерококковых инфекциях различной локализации. Вместе с тем, в последние годы отмечается повышение его *минимальной подавляющей концентрации* (МПК) в отношении стафилококков. Несмотря на то что формально данный показатель продолжает находиться в пределах диапазона для чувствительных штаммов в соответствии с современными системами интерпретации степени чувствительности (CLSI, EUCAST), результаты применения ванкомицина при инфекциях, вызванных такими возбудителями, могут быть далекими от идеала. Кроме того, ванкомицин характеризуется медленным бактерицидным эффектом, недостаточной пенетрацией в ткани, а также выраженной нефротоксичностью, что ограничивает его использование у больных с почечной недостаточностью или высоким риском ее развития, особенно в условиях отсутствия возможности мониторинга его сывороточной концентрации. И, наконец, нельзя сбрасывать со счетов такую специфическую проблему современного здравоохранения, как качество воспроизведенных лекарственных препаратов — генериков. Несмотря на одно и то же международное непатентованное наименование действующего вещества, качественные показатели его различных воспроизведенных копий в виде лекарственных

препаратов (генериков) могут отличаться, как правило, не в лучшую сторону по сравнению с оригиналом. Именно поэтому современные российские рекомендации по лечению тяжелых инфекций указывают на желательность использования оригинальных препаратов, а не копий, зачастую не самого высокого качества.

В существующих условиях внедрение в лечебную практику новых препаратов, в известной степени свободных от указанных выше недостатков, является крайне важным фактором улучшения результатов лечения больных с тяжелыми инфекциями. Одним из таких препаратов, разрешенным в 2006 году в Европе и США для лечения осложнённых инфекций кожи и мягких тканей, бактериемии и инфекционного эндокардита, является даптомицин. В нашей стране данный препарат был зарегистрирован в июне 2009 г. с аналогичными показаниями.

История создания и разработки даптомицина, а также описание его базовых характеристик (химической структуры и механизма действия, спектра активности, вопросов фармакокинетики и фармакодинамики, методов определения микробной чувствительности к нему *in vitro*, зарегистрированных показаний к применению, рекомендуемых режимов дозирования и проч.) подробно представлены в статье, опубликованной вскоре после регистрации данного препарата в нашей стране [1].

Официальными показаниями к назначению даптомицина являются осложненные инфекции кожи и мягких тканей, а также бактериемия, вызванная *Staphylococcus aureus*, включая установленный или предполагаемый правосторонний инфекционный эндокардит у взрослых. Помимо этих показаний, регулярно публикуются данные, свидетельствующие об успешном применении даптомицина при ряде других состояний, включая инфекции костей и суставов, левосторонний инфекционный эндокардит, перитонит и др. Интересны результаты лечения инфекций, вызванных энтерококками, а также стафилококками со сниженной чувствительностью к ванкомицину.

В данной обзорной статье мы делаем попытку обобщить опыт, накопленный при использовании даптомицина в реальной клинической практике.

## Осложненные инфекции кожи и мягких тканей

В метаанализ рандомизированных клинических исследований по сравнению эффективности и безопасности даптомицина с другими антибиотиками, прежде всего с ванкомицином, который в течение длительного времени представлял собой стандарт-

ный выбор при *острых инфекциях кожи и мягких тканей* (оИКМТ), включено 1710 больных [2]. Результаты продемонстрировали, что клиническая эффективность даптомицина была аналогична или превышала таковую для других антибиотиков первой линии: ОШ=1,05, 95%ДИ 0,84–1,31,  $p=0,65$ ; по сравнению с ванкомицином, ОШ=1,19, 95% ДИ 0,77–1,83,  $p=0,43$ . Микробиологическая эффективность даптомицина в отношении *S. aureus* была сопоставима: ОШ=1,05, 95% ДИ 0,61–2,6,  $p=0,53$  для *метициллиночувствительных S. aureus* (MSSA) и ОШ=0,9, 95% ДИ 0,77–1,06,  $p=0,2$  – для *метициллинорезистентных S. aureus* (MRSA). Частота развития нежелательных явлений при использовании даптомицина не превышала таковую при в сравнении с другими антибиотиками (ОШ=1,06, 95% ДИ 0,71–1,59,  $p=0,76$ ). У пациентов, получавших даптомицин, чаще регистрировали повышение уровня креатинфосфокиназы по сравнению с контрольной группой (ОШ=1,95, 95% ДИ 1,04–3,65,  $p=0,04$ ), которое реверсировало после окончания терапии. В то же время отмечена тенденция снижения числа случаев остановки лечения и смерти при использовании даптомицина по сравнению с препаратами первой линии (ОШ=0,71, 95% ДИ 0,46–1,1,  $p=0,12$ ) [2].

Аналогичные выводы сделаны и по результатам анализа данных систематического обзора, опубликованных до февраля 2016 г. в базах PubMed, Cochrane Library и EMBASE данных рандомизированных контролируемых исследований, в которых также осуществлялось сравнение результатов применения даптомицина с другими антибиотиками у взрослых пациентов с оИКМТ. В данный метаанализ включены восемь рандомизированных исследований ( $n=2002$ ). Различий по клинической и микробиологической эффективности между даптомицином и препаратами сравнения выявлено не было (ОШ=1,04, 95% ДИ 0,99–1,1,  $p=0,12$ ; ОШ=1, 95% ДИ 0,95–1,06,  $p=0,92$  соответственно) [3].

Большой интерес представляют результаты анализа данных регистров применения даптомицина в реальной клинической практике. В один из них – EU-CORE (European Cubicin Outcomes Registry and Experience) было включено 6075 больных, из которых у 1927 (31,7%) были диагностированы оИКМТ. Наиболее частой сопутствующей патологией при этом были заболевания сердечно-сосудистой системы (58,1%) и сахарный диабет (40,7%). В структуре оИКМТ преобладали *инфекции области хирургического вмешательства* (ИОХВ) – 34,9% и инфекции при синдроме диабетической стопы (19,9%). Неэффективность предшествующей антибактериальной терапии (53,7%) была основной причиной

назначения даптомицина. Преобладающим возбудителем у данной группы пациентов был *S. aureus* (51,9%). Суммарная частота клинического успеха составила 84,6%; при инфекциях, вызванных *S. aureus* – 87,2% (MSSA – 87,8%; MRSA – 87%). Частота нежелательных явлений не превышала 3% [4].

### Бактериемия и инфекционный эндокардит

Инфекции кровотока, включая бактериемию и инфекционный эндокардит, являются жизнеугрожающими состояниями, требующими безотлагательного проведения эффективной антибиотикотерапии. Быстрый и выраженный бактерицидный эффект даптомицина, а также его высокая активность в биопленках делают этот препарат одним из наиболее перспективных при данной патологии.

В когортное исследование было включено 262 пациента с бактериемией, вызванной MRSA, получавших лечение даптомицином или ванкомицином. Пациенты в подгруппах были сопоставимы по основным параметрам. В качестве первичной конечной точки исследования оценивалась частота клинической неэффективности (композитный параметр, включавший 30-дневную летальность, бактериемию длительностью  $\geq 7$  дней, а также необходимость смены анти-MRSA терапии в связи с сохранением или усугублением симптомов инфекции). Частота клинической неэффективности была статистически значимо выше при использовании ванкомицина по сравнению с даптомицином (45 и 29%,  $p=0,007$ ). Летальность в течение 30 дней также была значимо выше в группе ванкомицина (15,3 и 6,1%,  $p=0,024$ ).

Независимыми факторами риска неэффективности лечения MRSA-бактериемии были использование ванкомицина (ОШ=2,16, 95% ДИ 1,24–3,76), перевод пациента в отделение интенсивной терапии (ОШ=2,46, 95% ДИ 1,34–4,54) и инфекционный эндокардит в качестве первичного очага (ОШ=2,33, 95% ДИ 1,16–4,68) [5].

Прямым следствием более высокой эффективности даптомицина при стафилококковой бактериемии может быть меньшая общая стоимость лечения данным препаратом. При анализе британской модели лечения MRSA-бактериемии при МПК в отношении данного возбудителя  $>1$  мг/л на госпитальном и внебольничном этапах установлено, что использование даптомицина в качестве препарата первой линии позволяет сэкономить 4037 фунтов на каждом случае заболевания по сравнению с ванкомицином за счет меньшей потребности в коррекции терапии и сокращения ее длительности [6].

По данным объединенного анализа упомянутых выше регистров CORE (США) и EU-CORE (Европа), включившего данные 11 557 взрослых пациентов, бактериемия в качестве показателя для лечения даптомицином выступала у 2522 (21,8%) пациентов, инфекционный эндокардит — у 798 (6,9%) больных. Клиническая эффективность даптомицина при бактериемии составила 69,5%, еще в 20,5% случаев эффективность терапии установить не удалось в силу ретроспективного характера исследования. Лишь у 10% пациентов результаты лечения были признаны неудовлетворительными. Частота успешного лечения инфекционного эндокардита достигала 75,4%.

Метаанализ по сравнению эффективности и безопасности применения даптомицина и линезолида для лечения инфекций кровотока, вызванных ванкомицинорезистентными энтерококками (11 исследований,  $n=1339$ ), не выявил различий в отношении клинического излечения (ОШ=1,11, 95% ДИ 0,88–1,42), микробиологической эффективности (ОШ=0,99, 95% ДИ 0,9–1,09) и частоте рецидивов бактериемии (ОШ=1,08, 95% ДИ 0,76–1,52). Авторами также отмечены сходные данные по летальности у пациентов, получавших даптомицин и линезолид (ОШ=1,07, 95% ДИ 0,83–1,37). В данных исследованиях пациенты в группе даптомицина получали стандартные или высокие дозы препарата ( $\geq 6$  мг/кг/сут). Частота нежелательных реакций статистически не различалась в обеих группах. Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о практически идентичной эффективности и безопасности даптомицина и линезолида при лечении инфекций кровотока, вызванных ванкомицинорезистентными энтерококками. Однако результаты данного метаанализа ограничены гетерогенностью нескольких небольших ретроспективных исследований и должны быть интерпретированы с осторожностью [7].

В настоящее время максимальная разрешенная доза даптомицина при инфекциях кровотока составляет 6 мг/кг/сут. Вместе с тем, существует ряд исследований, показывающих большую эффективность более высоких доз, что не сопровождается увеличением частоты нежелательных лекарственных реакций. Так, по данным регистров CORE, увеличение суточной дозы даптомицина при инфекционном эндокардите, составляющей  $\geq 8$  мг/кг/сут, сопровождается возрастанием частоты клинической эффективности до 84,4% (74,2% при дозе  $\leq 6$  мг/кг/сут) [8].

В настоящее время даптомицин включен в европейские и американские рекомендации по лечению инфекционного эндокардита в качестве препара-

та для лечения стафилококкового эндокардита в случае аллергии на  $\beta$ -лактамы и ванкомицин или при выделении метициллинорезистентных штаммов (MRSA), особенно при МПК ванкомицина  $>1$  мг/л. Рекомендуемая доза препарата у взрослых и детей — 10 мг/кг/сут [9].

### Другие потенциальные сферы применения даптомицина

В соответствии с результатами постмаркетинговых исследований даптомицин представляется оптимальным выбором для лечения инфекций других локализаций, в том числе левостороннего эндокардита, остеомиелита, парапротезных инфекций в ортопедии и сосудистой хирургии, а также инфекций, вызванных энтерококками [10]. Несмотря на отмеченную в ряде случаев достаточно высокую эффективность, данные показания в настоящее время не входят в перечень официальных и могут быть рассмотрены только при наличии угрожающего жизни состояния в отсутствие альтернативы, что должно быть установлено решением врачебного консилиума.

**Инфекции костей и суставов.** Эффективность лечения инфекций зависит не только от чувствительности возбудителей к применяемому антибиотику, но и от способности препарата создавать эффективные концентрации в очаге воспаления. Инфекции костей и суставов в этом отношении представляют собой определенные трудности, что связано как со сложностью адекватной одномоментной санации очага инфекции, так и с выбором антибиотика с точки зрения оптимальной фармакокинетики. При определении концентрации даптомицина в костях и синовиальной жидкости у 16 пациентов, которым выполняли эндопротезирование коленного или тазобедренного суставов, установлено, что внутривенное введение препарата в дозе 6 мг/кг перед операцией позволило создать его бактерицидные концентрации в отношении *S. aureus* в костной ткани у всех пациентов. Средняя пенетрация даптомицина в костную ткань составила 9% (4,4–11,4%). Эти результаты обосновывают использование даптомицина для лечения инфекций костей и суставов, вызванных золотистым стафилококком [11].

Активность даптомицина в отношении биопленок может быть использована для предотвращения инфекций, связанных с имплантацией ортопедических протезов и устройств. Так, включение в полиметилметакрилатный цемент даптомицина и гентамицина полностью ингибирует образование биопленок *Staphylococcus epidermidis*. Данная технология является перспективной для локального лечения

парапротезных инфекций в ортопедии, вызванных полирезистентными стафилококками [12].

Спондилодисцит — инфекция, первично поражающая межпозвоночный диск и тела близлежащих позвонков, многие аспекты лечения которого остаются предметом дискуссий. Гнойные спондилодисциты, вызванные MRSA, наиболее часто сопровождаются персистирующей бактериемией и для их эффективного лечения требуется, как минимум, восьминедельные курсы антибиотикотерапии [13]. Использование даптомицина при MRSA-спондилите приводило к большей частоте клинического выздоровления по сравнению с ванкомицином при длительности применения в течение 8 нед. [14].

Оценка эффективности применения даптомицина при остеомиелите и инфекциях, связанных с использованием имплантов в ортопедии, в рамках упомянутого выше регистра EU-CORE проведена по результатам лечения 1276 пациентов. Наиболее частым возбудителем был *S. aureus* (49,1%), из них 24,8% составили MRSA. Предшествующую антибактериальную терапию получали 455 (71,3%) пациентов. Клиническая эффективность при применении даптомицина составила 82,7% при инфекциях, вызванных *S. aureus*, и 81,7% при выделении коагулазонегативных стафилококков. Нежелательные и серьезные нежелательные явления, предположительно связанные с применением даптомицина, наблюдали соответственно у 6,7 и 1,9% пациентов. Таким образом, даптомицин является эффективным и безопасным препаратом при лечении остеомиелита и инфекций, ассоциированных с ортопедическими устройствами [15].

При инфекциях костей и суставов требуются длительные курсы антибактериальной терапии, которые могут достигать нескольких месяцев. Исследование особенностей фармакокинетики даптомицина у 34 больных, длительно получавших данный препарат, показало, что имеются существенные индивидуальные различия в концентрации даптомицина, которые не коррелировали с изменениями функции почек, что может свидетельствовать о целесообразности терапевтического лекарственного мониторинга у пациентов, получающих длительную терапию даптомицином [16].

#### **Перитонит на фоне перитонеального диализа.**

Перитонит является нередким осложнением перитонеального диализа. В большинстве случаев диализного перитонита, вызванных MRSA, используется ванкомицин. При невозможности назначения ванкомицина в связи с наличием устойчивого возбудителя и/или аллергической реакции на препарат может быть рассмотрено использование даптомици-

на [17]. При этом даптомицин может быть назначен внутривенно [18] и/или интраперитонеально [19]. В свете имеющихся научных данных даптомицин представляется перспективным вариантом лечения диализного перитонита, вызванного чувствительными микроорганизмами, в связи с хорошей активностью препарата в биопленках *in vitro* [20].

В настоящее время опыт применения даптомицина при перитонеальном диализе ограничивается описанием отдельных клинических случаев. Место данного препарата в лечении диализного перитонита должно быть определено в рандомизированных исследованиях, при этом особое внимание должно быть уделено вопросам физической и химической стабильности препарата в диализных растворах [21].

**Инфекции ЦНС.** Менингит, вызванный стафилококками, представляет собой серьезную проблему в неврологии и нейрохирургии, существенно ухудшая результаты лечения больных, перенесших тяжелую черепно-мозговую травму, операции с краниотомным доступом, а также вентрикулярное дренирование.

В литературе описан ряд случаев применения даптомицина при бактериальном менингите. В частности, представляет интерес случай успешного лечения послеоперационного менингита, вызванного *метициллинорезистентным Staphylococcus epidermidis* (MRSE) со сниженной чувствительностью к гликопептидам и устойчивого к линезолиду, комбинацией даптомицина в дозе 10 мг/кг/сут и триметоприма/сульфаметоксазола. Концентрации даптомицина в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости непосредственно перед и через 4 часа после введения третьей дозы были 18,9/0,78 и 51,65/3,1 мг/л соответственно, что соответствует уровню пенетрации препарата через воспаленный гематоэнцефалический барьер порядка 5–6%. Таким образом, сочетание высоких доз даптомицина в комбинации с триметопримом/сульфаметоксазолом может быть вариантом лечения менингита, вызванного коагулазонегативными стафилококками со множественной лекарственной устойчивостью.

Инtrateкальное введение даптомицина может быть эффективно при лечении менингита после вентрикулостомии [22].

**Инфекции в трансплантологии.** Лечение инфекций после трансплантации органов представляет собой определенные трудности в связи с иммуносупрессией и повышенным риском развития у реципиентов почечной недостаточности при использовании нефротоксичных иммуносупрессивных препаратов. В исследовании

О. Лен с соавт. проанализированы результаты лечения инфекционных осложнений у 43 реципиентов печени и почек. Наиболее часто регистрировали катетер-ассоциированную бактериемию, вызванную коагулазонегативными стафилококками (23,2%), инфекции кожи, обусловленные *S. aureus* (11,5%), а также интраабдоминальные абсцессы, связанные с *Enterococcus faecium* (20,9%). Даптомицин использовали у 32 (74,4%) больных в дозе 6 мг/кг/сут. Клиническая эффективность при завершении лечения была отмечена у 37 (86%) больных. В целом даптомицин представляется безопасной и эффективной терапией для лечения инфекций у пациентов, перенесших трансплантацию органов [23].

**Энтерококковые инфекции.** В регистре EU-CORE представлены результаты лечения 472 больных с энтерококковыми инфекциями. Неэффективность предшествующей терапии и наличие устойчивых возбудителей были основными причинами назначения даптомицина. Нозокомиальные инфекции составили 55,8% всех случаев. Наиболее распространенными энтерококковыми инфекциями были бактериемия (29,9%), оИКМТ (29,2%) и инфекционный эндокардит (12,3%). Клиническая эффективность даптомицина составила 77,1% и была сходной при всех нозологических формах. В целом эффективность применения даптомицина была существенно выше (82,5% против 74,6%,  $p=0,09$ ) в случае использования даптомицина в качестве препарата первой линии терапии и при использовании высоких доз (85,7% при дозе  $\geq 8$  мг/кг/сут против 75,8% при дозе  $< 8$  мг/кг/сут,  $p=0,08$ ). В целом у 81 (17,2%) пациента зарегистрированы нежелательные явления, при этом частота серьезных нежелательных явлений была меньше 1%. Таким образом, даптомицин является эффективным и хорошо переносимым препаратом для лечения энтерококковых инфекций, при этом наилучшие результаты достигаются при использовании повышенных доз [24].

### Комбинированная терапия на основе даптомицина

В настоящее время существует ряд работ, в которых оцениваются результаты использования даптомицина в составе комбинированной терапии, как при полимикробных инфекциях, требующих расширения спектра активности препаратов в сторону грамотрицательных патогенов, так и в случаях инфекций, вызванных стафилококками и энтерококками, в случае недостаточной клинической эффективности монотерапии. Наиболее полно изучена активность даптомицина в комбинации с гентамицином и рифампицином. Синергизм или

аддитивный эффект *in vitro* в отношении *S. aureus* наблюдался между даптомицином и гентамицином, аддитивный эффект отмечен для комбинации даптомицина с рифампицином. Однако в некоторых работах были получены противоположные результаты.

Персистирующая MRSA-бактериemia является сложной клинической ситуацией, особенно в случаях, когда хирургический контроль очага инфекции неэффективен или невозможен. Хотя ванкомицин и даптомицин являются единственными препаратами, одобренными FDA в качестве монотерапии для лечения пациентов с MRSA-бактериемией, комбинированные режимы терапии могут быть жизнеспасающими в случаях персистирующих инфекций кровотока. Несмотря на существующую неопределенность, рациональный подход основан на коррекции неэффективной терапии ванкомицином с переходом на даптомицин при рассмотрении вопроса о добавлении  $\beta$ -лактамов антибиотиков в случае сохраняющейся бактериемии. Данный подход нуждается в обосновании в хорошо спланированных рандомизированных контролируемых исследованиях [25]. При подтверждении эффективности комбинированных режимов в исследованиях с достаточным уровнем доказательности, комбинация  $\beta$ -лактамов с даптомицином может также стать стандартным режимом терапии для лечения инфекций, вызванных ванкомицинорезистентными энтерококками (VRE) [26].

Результаты, полученные *in vitro*, свидетельствуют о том, что комбинация даптомицина с  $\beta$ -лактамами антибиотиками и кларитромицином может препятствовать развитию устойчивости к даптомицину в случаях, требующих длительной антибактериальной терапии [27–29]. Описано повышение активности комбинации  $\beta$ -лактамов с даптомицином в отношении MRSA [30]. Имеются отдельные наблюдения эффективного использования комбинации ампициллина и даптомицина у пациентов с ИОХВ после протезирования коленного сустава и бактериемией, вызванной штаммом *Enterococcus faecium* с множественной лекарственной устойчивостью, чувствительным к даптомицину. Особенности локализации инфекции требуют удаления протеза и установки спейсера с длительной (до 8 недель) антибактериальной терапией [26]. Синергидный эффект в отношении MSSA и MRSA, достигаемый использованием даптомицина и  $\beta$ -лактама с ингибитором  $\beta$ -лактамаз обуславливает благоприятный прогноз у пациентов с гнойным медиастинитом [31].

Точный механизм синергидного эффекта использования даптомицина и ампициллина неясен.

Текущая гипотеза предполагает, что ампициллин вызывает уменьшение положительного заряда бактериальной клетки, возможно путем высвобождения липотейхоевой кислоты из клеточной стенки, что увеличивает способность катионного комплекса даптомицин/кальций связываться с клеточной стенкой [26].

В настоящее время планируется проведение рандомизированного контролируемого исследования в 29 центрах Австралии, Новой Зеландии, Сингапура и Израиля у больных с MRSA бактериемией. Целью исследования является ответ на вопрос, улучшает ли клинические исходы при бактериемии, вызванной MRSA, добавление антистафилококковых  $\beta$ -лактамов (флуклоксациллина, клоксациллина или цефазолина) к стандартной терапии ванкомицином или даптомицином [32].

Даптомицин показал высокую эффективность и безопасность при оИКМТ, бактериемии и правостороннем эндокардите, вызванном чувствительными грамположительными бактериями у взрослых. Современные терапевтические подходы к лечению персистирующей MRSA-бактериемии или бактериемии, вызванной VRSA и VISA, могут включать даптомицин, цефтаролин и режимы комбинированной терапии. Существует острая необходимость получения доказательств высокого уровня для обоснования данных схем лечения [33].

На фоне возрастающей проблемы селекции и распространения устойчивых грамотрицательных патогенов большой интерес представляют собой данные об эффективности комбинаций на основе даптомицина, активных в отношении данных возбудителей, в частности — против полирезистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*.

В исследовании L. Phee et al. [34] определена активность комбинации даптомицина и колистина (полимиксина E) в отношении 30 изолятов грамотрицательных бактерий, в том числе *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *A. baumannii*. Среди 14 протестированных штаммов *A. baumannii* был контрольный штамм ATCC 19606 и два изолята, устойчивых к колистину. Синергизм комбинации оценивался с помощью E-теста с даптомицином, который помещали на инокулированный тестируемой культурой агар, содержащий добавку в виде колистина в субингибирующей концентрации (0,125–0,75 мг/л). МПК даптомицина для всех изолятов на агаре без добавления колистина ожидаемо превышали 256 мг/л. Все штаммы *A. baumannii*, чувствительные к колистину, продемонстрировали снижение МПК даптомицина до 4–64 мг/л при тестировании на среде с добавлением малых кон-

центраций колистина. В случае прочих грамотрицательных бактерий, равно как и для устойчивых к колистину *A. baumannii*, снижения МПК даптомицина отмечено не было.

Известно, что некоторые антибиотики, активные в отношении грамположительных микроорганизмов, могут проявлять активность в отношении грамотрицательных патогенов при условии обеспечения прохождения их через наружную мембрану микробной клетки. По-видимому, это не так для даптомицина: реализация антимикробного действия даптомицина в составе комбинации с колистином в отношении *A. baumannii* ассоциирована с мишенью, отсутствующей у других протестированных грамотрицательных бактерий. Это подтверждается результатами исследования, в котором комбинация даптомицина с полимиксином не продемонстрировала активности в отношении протопластов *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* и *Salmonella typhimurium*, лишенных клеточной стенки [35].

В связи с существенной ограниченностью вариантов лечения инфекций, вызванных полирезистентными штаммами *A. baumannii*, использование комбинации даптомицина с колистином может оказаться полезным в некоторых ситуациях, однако прежде чем рекомендовать это для использования на практике, требуется проведение соответствующих исследований.

### Применение даптомицина в педиатрии

Инфекции, вызванные стафилококками и энтерококками, имеют не меньшее значение в педиатрической практике по сравнению с взрослыми пациентами. Вместе с тем, педиатры существенно ограничены в выборе ряда современных лекарственных средств, которые, как правило, в силу отсутствия достаточной доказательной базы не разрешены для применения в детском возрасте. Несмотря на то что официально применение даптомицина разрешено с 18-летнего возраста, существует немало работ, в которых показана его эффективность у детей.

Авторы из американской клиники Джонса Хопкинса недавно опубликовали ретроспективный анализ результатов применения даптомицина у детей (медиана возраста — 12 лет, минимальный возраст — 2,5 мес.), получавших данный препарат в период с октября 2008 г. по июнь 2014 г. Из 146 пациентов, которые получили не менее 3 дней терапии даптомицином, 109 больных имели доказанную инфекцию грамположительной этиологии и были включены в дальнейший анализ. Средняя продолжительность терапии составила 16 дней (от 3 до 121 дней). Наиболее частым показанием к назначе-

нию даптомицина были катетер-ассоциированные инфекции кровотока (81 случай), причем 31 (38%) пациент имели онкогематологическую патологию. На фоне терапии в 107 (98%) из 109 случаев была зарегистрирована клиническая эффективность даптомицина. У 104 (95%) пациентов был определен исходный уровень *креатинфосфокиназы* (КФК); из них у 48 (46%) по крайней мере один раз определяли уровень КФК после начала терапии, при этом лишь у 3 больных было отмечено повышение уровня данного фермента [36].

Систематический обзор, выполненный S. Karg Georgos с соавт. [37] и посвященный применению даптомицина у детей, включил в себя 29 оригинальных исследований (1 рандомизированное контролируемое исследование, 5 клинических исследований I фазы, 6 когортных исследований, 2 серии случаев и 15 описаний клинических случаев). Большинство исследований были проведены в Европе и США. Суммарно проанализированы данные 1332 пациентов от 21 дня жизни до 18 лет, среди которых было 28 новорожденных. Наиболее частыми показаниями к назначению даптомицина в наблюдательных исследованиях и описаниях клинических случаев были бактериемия ( $n=98$ ), оИКМТ ( $n=41$ ) и инфекционный эндокардит ( $n=17$ ). Другие показания включали остеомиелит, септический артрит, неосложненные ИКМТ, менингит, лимфаденит, эпидидимит, а также инфекции мочевыводящих путей. В рандомизированное контролируемое исследование вошло 257 детей с оИКМТ. При микробиологическом исследовании клинического материала (132 случая) лидировали *S. aureus* ( $n=46$ ) и MRSE ( $n=32$ ); реже выделялись энтерококки (ванкомицинорезистентные — у 7 пациентов) и *Streptococcus pyogenes*.

Доза даптомицина колебалась от 4 до 15 мг/кг/сут, продолжительность лечения варьировала от 1 до 8 недель, в зависимости от типа инфекции и выделенного патогена. В целом, авторами отмечена высокая активность даптомицина: в частности, во включенном в данный обзор рандомизированном исследовании частота клинической эффективности даптомицина составила 88% и была сопоставима с таковой в группе пациентов, получавших ванкомицин, клиндамицин или полусинтетические пенициллины. Неэффективность терапии отмечалась лишь у 13 (4%) из 324 больных, вошедших в 6 исследований и в большинстве случаев определялась как отсутствие клинического и/или лабораторного улучшения. В остальных исследованиях случаи неэффективности терапии не отмечались. Частота нежелательных явлений на фоне терапии даптомицином варьировала в разных исследова-

ниях: в 10 публикациях сообщено об отсутствии нежелательных явлений, еще в 14 исследованиях соответствующая информация не была представлена. Большинство (93%) зарегистрированных нежелательных явлений не было связано с применением даптомицина. Ассоциированные с даптомицином реакции включали повышение аминотрансфераз, головную боль, флебит и инфузионные реакции. Повышение уровня КФК отмечено у 15 из 1284 пациентов, у которых имелась соответствующая информация [37].

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о том, что даптомицин имеет благоприятный профиль безопасности и переносимости у педиатрических пациентов, в связи с чем он может являться эффективной альтернативой для лечения бактериемии, инфекционного эндокардита, инфекций кожи и мягких тканей, костей и суставов, вызванных грамположительными микроорганизмами, особенно при участии устойчивых возбудителей. Вместе с тем, требуется проведение дальнейших исследований для определения оптимальных режимов дозирования и фармакокинетических параметров в различных возрастных группах.

### Амбулаторная терапия

Даптомицин представляется оптимальным выбором для парентеральной антибактериальной терапии в амбулаторных условиях за счет назначения один раз в сутки и хорошего профиля безопасности. В Испании проведено проспективное многоцентровое пилотное исследование оценки безопасности амбулаторного применения даптомицина у 54 больных с предполагаемой или подтвержденной инфекцией, вызванными грамположительными микроорганизмами (DARTODOM). Основными показаниями для включения в исследование были оИКМТ (52%), а также бактериемия или инфекционный эндокардит (34%). *S. aureus* составили 44% изолятов (MRSA — 24%), коагулазонегативные стафилококки — 15%, энтерококки — 7%. У 18 больных препарат вводили болюсно в течение двух минут, что не сопровождалось нежелательными явлениями.

Клиническая эффективность зарегистрирована в 96% случаев. У одного больного зарегистрировано увеличение уровня КФК в сыворотке крови, с нормализацией данного показателя после отмены даптомицина [38].

Использование даптомицина в амбулаторных условиях обеспечивает снижение частоты инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, снижает общую стоимость терапии, а также повышает комплаентность пациентов [39].

## Резистентность к даптомицину

Несмотря на широкое использование даптомицина, сообщения об устойчивости к нему являются редкими [40].

При множественных серийных пассажах на среде, содержащей даптомицин, была показана возможность повышения его МПК в отношении *S. aureus*, причем у отдельных штаммов — до 8–32 раз по сравнению с исходным штаммом [41]. Однако в отношении всех подобных изолятов препарат оставался бактерицидным при  $8 \times \text{МПК}$ . Что также интересно, у многих мутантов с повышенными значениями МПК снижалась вирулентность *in vivo*. Кроме того, для многих штаммов были характерны выраженные дефекты роста [41]. На животных моделях инфекционного эндокардита удавалось наблюдать развитие резистентности к даптомицину при его дозировании в субоптимальных концентрациях (1,5 мг/кг/сут), в то время как при режимах дозирования 6 и 10 мг/кг/сут даптомицин во всех случаях демонстрировал бактерицидную активность и приводил к эрадикации возбудителя [42]. Несмотря на то что возможность развития резистентности к даптомицину была описана уже давно, точные механизмы и их генетические детерминанты до сих пор окончательно не установлены.

Существует опасность развития устойчивости к даптомицину при его использовании в стандартной дозе, особенно после неэффективности ванкомицина при инфекционном эндокардите, а также в случае лечения инфекций, связанных с использованием имплантов [43].

Большое внимание уделялось исследованиям случаев снижения чувствительности *S. aureus* к даптомицину на фоне предшествующей терапии ванкомицином (при сниженной чувствительности к ванкомицину), особенно при длительном применении препарата у пациентов с инфекциями крови (бактериемия и эндокардит) и инфекциями протезированных суставов [44–49]. Похожие наблюдения описаны и при энтерококковых инфекциях [50, 51]. Несмотря на различные механизмы действия даптомицина и гликопептидов, точкой приложения обоих препаратов являются близкорасположенные структуры (клеточная мембрана и клеточная стенка). Из-за сопоставимо большого молекулярного веса ванкомицина (1485,7) и даптомицина (1,620.67) утолщение клеточной стенки при длительной (и неэффективной) терапии ванкомицином служит физическим барьером для обоих препаратов. Результатом этого является увеличение МПК не только ванкомицина, но и даптомицина [46]. В любом случае, самый важный вывод,

который должен быть сделан, это — необходимо использование адекватно высоких доз препарата для предупреждения развития устойчивости в процессе лечения, особенно в случае длительной терапии. Так, при соотношении площади под фармакокинетической кривой (ПФК) к МПК для свободного даптомицина  $>40$  риск развития устойчивости у *S. aureus* минимален, в то время как при ПФК/МПК  $<30$  наблюдается устойчивая тенденция к селекции штаммов с повышенными значениями МПК [52].

## Вопросы безопасности применения высоких доз даптомицина

Учитывая потенциальные микробиологические и клинические преимущества более высоких (по сравнению со стандартными) доз даптомицина, интерес представляют данные по их переносимости и безопасности. Данные регистров CORE и EU-CORE, отчасти представленные выше, свидетельствуют, что частота нежелательных лекарственных реакций в целом сопоставима при использовании стандартных и более высоких доз препарата при условии его однократного введения в сутки. Даптомицин обладает линейной фармакокинетикой при дозах до 12 мг/кг/сут [10].

Тем не менее, возможность повышения сыровоточного уровня КФК у больных, получающих даптомицин, особенно в высоких дозах, требует рутинного мониторинга уровня данного фермента у всех пациентов [53].

## Заключение

Как было показано в ряде исследований, даптомицин является эффективным и безопасным препаратом, рекомендуемым для лечения оИКМТ, бактериемии и правостороннего инфекционного эндокардита, вызванных чувствительными к нему грамположительными бактериями у взрослых. Кроме того, в соответствии с постмаркетинговыми исследованиями, даптомицин может успешно применяться при ряде других, в том числе трудно поддающихся стандартному лечению инфекций, в частности — при левостороннем инфекционном эндокардите, остеомиелите, парапротезных инфекциях и др. Даптомицин представляется перспективным для использования в педиатрической практике, однако требуются соответствующие клинические исследования для разработки оптимальных режимов дозирования. На основании изучения линейного фармакокинетического профиля даптомицина и дозозависимой бактерицидной активности высокие дозы даптомицина могут быть более эффективными и предпочтительными при лечении тяжелых



инфекций. При этом высокие дозы (>6 мг/кг/сут) даптомицина продемонстрировали хороший профиль безопасности и переносимости.

Одной из важных особенностей даптомицина является возможность его использования у амбулаторных больных, что обусловлено высокой эффек-

тивностью, безопасностью и удобным способом дозирования препарата (1 раз в сутки, возможно введение в виде болюсной инъекции). Несмотря на то что в настоящее время описаны случаи устойчивости к даптомицину, в настоящее время они являются редкостью.

## Литература

1. Дехнич А.В., Данилов А.И. Даптомицин: обзор фармакологических, клинических и микробиологических параметров. Клин микробиол антимикроб химиотер 2010; 12(4):295-313.
2. Wang S.Z., Hu J.T., Zhang C., Zhou W., Chen X.F., Jiang L.Y., Tang Z.H. The safety and efficacy of daptomycin versus other antibiotics for skin and soft-tissue infections: a meta-analysis of randomised controlled trials. BMJ Open 2014 24;4(6): e004744.
3. Chao L., Zhi M., Mengmeng Y., Hongjun K., Hui L., Liang P., Jie H., Jun L., Feihu Z. Efficacy and safety of daptomycin for skin and soft tissue infections: a systematic review with trial sequential analysis. Ther Clin Risk Manag 2016; 12:1455-66.
4. Cogo A., Gonzalez-Ruiz A., Pathan R., Hamed K. Real-world treatment of complicated skin and soft tissue infections with daptomycin: results from a large european registry (EU-CORE). Infect Dis Ther 2015;4(3):273-82.
5. Claeys K.C., Zasowski E.J., Casapao A.M., et al. Daptomycin improves outcomes regardless of vancomycin MIC in a propensity-matched analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60(10):5841-8.
6. Browne C., Muszbek N., Chapman R., Marsh K., Gould I.M., Seaton R.A., Allen M. Comparative healthcare-associated costs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia-infective endocarditis treated with either daptomycin or vancomycin. Int J Antimicrob Agents 2016; 47(5):357-61.
7. Zhao M., Liang L., Ji L., Chen D., Zhang Y., Zhu Y., Patel K. Similar efficacy and safety of daptomycin versus linezolid for treatment of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis. Int J Antimicrob Agents 2016; 48(3):231-8.
8. Seaton R.A., Gonzalez-Ruiz A., Cleveland K.O., Couch K.A., Pathan R., Hamed K. Real-world daptomycin use across wide geographical regions: results from a pooled analysis of CORE and EU-CORE. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2016; 15:18.
9. Habib G., Lancellotti P., Antunes M.J., et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: the task force for the management of infective endocarditis of the European society of cardiology (ESC). Eur Heart J 2015; 36(44):3075-128.
10. Gonzalez-Ruiz A., Seaton R.A., Hamed K. Daptomycin: an evidence-based review of its role in the treatment of Gram-positive infections. Infect Drug Resist 2016; 9:47-58.
11. Montange D., Berthier F., Leclerc G., et al. Penetration of daptomycin into bone and synovial fluid in joint replacement. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(7):3991-6.
12. Peñalba A.P., Furustrand T.U., Bétrisey B., Vogt S., Trampuz A., Borens O. Activity of bone cement loaded with daptomycin alone or in combination with gentamicin or PEG600 against *Staphylococcus epidermidis* biofilms. Injury 2015; 46(2):249-53.
13. Park K.H., Chong Y.P., Kim S.H., et al. Clinical characteristics and therapeutic outcomes of hematogenous vertebral osteomyelitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect 2013; 67(6):556-64.
14. Rangaraj G., Cleveland K.O., Gelfand M.S. Comparative analysis of daptomycin and vancomycin in the treatment of vertebral osteomyelitis. Infect Dis Clin Pract 2014; 22(4):219-22.
15. Malizos K., Sarma J., Seaton R.A., et al. Daptomycin for the treatment of osteomyelitis and orthopaedic device infections: real-world clinical experience from a European registry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016; 35(1):111-8.
16. Goutelle S., Roux S., Gagnieu M.C., et al. Pharmacokinetic variability of daptomycin during prolonged therapy for bone and joint infections. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60(5):3148-51.
17. Ma T.K.-W., Leung C.B., Chow K. Mi., Kwan B.C., Li P.K.T., Szeto C.C. Newer antibiotics for the treatment of peritoneal dialysis-related peritonitis. Clinical Kidney J 2016; 9(4):616-23.
18. Li P.K., Szeto C.C., Piraino B., et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. Perit Dial Int 2010; 30:393-423.
19. Huen S.C., Hall I., Topal J., Mahnensmith R.L., Brewster U.C., Abu-Alfa A.K. Successful use of intraperitoneal daptomycin in the treatment of vancomycin-resistant enterococcus peritonitis. Am J Kidney Dis 2009; 54:538-41.
20. Roveta S., Marchese A., Schito G.C. Activity of daptomycin on biofilms produced on a plastic support by *Staphylococcus* spp. Int J Antimicrob Agents 2008; 31:321-28.
21. García-López L., M. Luis J.F., Criado-Illana M.T., Gómez-Sayago L., Heras-Benito M. Intraperitoneal administration of daptomycin in recurrent peritonitis with suspected biofilm. Nefrologia 2012; 32(2):139-42.
22. Denetclaw T.H., Suehiro I., Wang P.K., Tolliver G.L. Successful treatment of ventriculostomy-associated

- meningitis caused by multidrug resistant coagulase-negative *Staphylococcus epidermidis* using low-volume intrathecal daptomycin and loading strategy. *Ann Pharmacother* 2014; 48(10):1376-9.
23. Len O., Montejo M., Cervera C., et al. Daptomycin is safe and effective for the treatment of gram-positive cocci infections in solid organ transplantation. *Transpl Infect Dis* 2014; 16(4):532-8.
  24. Lübbert C., Rodloff A.C., Hamed K. Real-world treatment of Enterococcal Infections with daptomycin: insights from a large European Registry (EU-CORE). *Infect Dis Ther* 2015; 4(3):259-71.
  25. Kullar R., Sakoulas G., Deresinski S., van Hal S.J. When sepsis persists: a review of MRSA bacteraemia salvage therapy. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(3):576-86.
  26. Desai H., Wong R., Pasha A.K. A novel way of treating multidrug-resistant enterococci. *N Am J Med Sci* 2016; 8(5):229-31.
  27. Berti A.D., Wergin J.E., Girdaukas G.G., Hetzel S.J., Sakoulas G., Rose W.E. Altering the proclivity towards daptomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using combinations with other antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(10):5046-53.
  28. Mehta S., Singh C., Plata K.B., et al. Beta-lactams increase the antibacterial activity of daptomycin against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and prevent selection of daptomycin-resistant derivatives. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(12):6192-200.
  29. Rose W.E., Schulz L.T., Andes D., Striker R., Berti A.D., Hutson P.R., Shukla S.K. Addition of ceftaroline to daptomycin after emergence of daptomycin-nonsusceptible *Staphylococcus aureus* during therapy improves antibacterial activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(10):5296-302.
  30. Dhand A., Bayer A.S., Pogliano J., et al. Use of antistaphylococcal beta-lactams to increase daptomycin activity in eradicating persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: role of enhanced daptomycin binding. *Clin Infect Dis* 2011; 53:158-63.
  31. Palma D.M., Giuliano S., Cracchiolo A.N., et al. Clinical features and outcome of patients with descending necrotizing mediastinitis: prospective analysis of 34 cases. *Infection* 2016; 44(1):77-84.
  32. Tong S.Y., Nelson J., Paterson D.L., et al. CAMERA2 – combination antibiotic therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 2016; 17:170.
  33. Holubar M., Meng L., Deresinski S. Bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: new therapeutic approaches. *Infect Dis Clin North Am* 2016; 30(2):491-507.
  34. Phee L., Hornsey M., Wareham D.W. *In vitro* activity of daptomycin in combination with low-dose colistin against a diverse collection of Gram-negative bacterial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(10):1291-4.
  35. Randall C.P., Mariner K.R., Chopra I., O'Neill A.J. The target of daptomycin is absent from *Escherichia coli* and other Gram-negative pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 57(1):637-9.
  36. Namtu K.C., Crain J.C., Messina A.F., Dumois J.A., Berman D.M. Clinical experience with daptomycin in pediatrics. *Pharmacotherapy* 2016; doi: 10.1002/phar.1872.
  37. Karageorgos S.A., Miligkos M., Dakoutrou M., Tsioutis C. Clinical effectiveness, safety profile, and pharmacokinetics of daptomycin in pediatric patients: A Systematic Review. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2016; 5(4):446-457.
  38. Cervera C., Sanroma P., González-Ramallo V., Safety and efficacy of daptomycin in outpatient parenteral antimicrobial therapy: a prospective and multicenter cohort study (DAPTODOM trial). *Infect Dis* 2016; 8:1-8.
  39. Nathwani D. Developments in outpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT) for Gram-positive infections in Europe, and the potential impact of daptomycin. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(3):447-53.
  40. Stefani S., Campanile F., Santagati M., Mezzatesta M.L., Cafiso V., Pacini G. Insights and clinical perspectives of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: a review of the available evidence. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 46(3):278-89.
  41. Silverman J.A., Oliver N., Andrew T., Li T. Resistance studies with daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:1799-802.
  42. Rose W.E., Rybak M.J., Kaatz G.W. Evaluation of daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* bacterial endocarditis: an in vitro and in vivo simulation using historical and current dosing guidelines. *Proceedings of 46<sup>th</sup> ICAAC2006*, A-630.
  43. Moise P.A., North D., Steenbergen J.N., et al. Susceptibility relationship between vancomycin and daptomycin in *Staphylococcus aureus*: facts and assumptions. *Lancet Infect Dis* 2009; 9:617-24.
  44. Mariani P.G., Sader H.S., Jones R.N. Development of decreased susceptibility to daptomycin and vancomycin in a *Staphylococcus aureus* strain during prolonged therapy. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:481-3.
  45. Hayden M.K., Rezai K., Hayes R.A., Lolans K., Quinn J.P., Weinstein R.A. Development of daptomycin resistance *in vivo* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5285-7.
  46. Cui L., Tominaga E., Neoh H.M., Hiramatsu K. Correlation between reduced daptomycin susceptibility and vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1079-1082.
  47. Kosowska-Shick K., Julian K., Brumbach A., Curley E., Whitener C., Parent L., Bogdanovich T. Characteristics of *S. aureus* strain causing endocarditis which acquired VISA and daptomycin-resistant phenotypes after daptomycin therapy. *46<sup>th</sup> Intersci Conf on Antimicrob Agents Chemother* 2006, E-727.

48. Sheth A., Carpenter C.F., Robinson-Dunn B. Reduced vancomycin susceptibility and daptomycin non-susceptibility associated with treatment failure in 2 cases of MRSA bacteremia. 46<sup>th</sup> Intersci Conf on Antimicrob Agents Chemother 2006, C2-1159.
49. Bell J.M., Walter L.J., Turnidge J.D., Jones R.N. Vancomycin hetero-resistance has a small but significant effect on the daptomycin minimum inhibitory concentration of *Staphylococcus aureus*. 46<sup>th</sup> Intersci Conf on Antimicrob Agents Chemother 2006, D-814.
50. Munoz-Price L.S., Lolans K., Quinn J.P. Emergence of resistance to daptomycin during treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* infection. Clin Infect Dis 2005; 41:565-6.
51. McGrath D.M., Barbu E.M., Pasqualini R., Arap W., Quinn J.P., Murray B.E., Arias C.A. Resistance to Daptomycin in Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* Associated with Alterations of Cell Membrane Potential and Surface Charge. Proceedings of ICAAC2010. C1-078.
52. Bowker K.E., Noel A.R., Macgowan A.P. The relationship between daptomycin free drug AUC/MIC, antibacterial effect and emergence of resistance in *S. aureus*. Proceedings of ICAAC2009. A1-1271.
53. Bhavnani S.M., Ambrose P.G., Hammel J.P., Rubino C.M., Drusano GL. Evaluation of daptomycin exposure and efficacy and safety endpoints to support risk-versus-benefit considerations. Antimicrob Agents Chemother 2015; 60(3):1600-7.

## Антибиотикорезистентность *Neisseria gonorrhoeae* в Российской Федерации: современные тенденции

А. А. Кубанов, М. Р. Рахматулина, В. С. Соломка, К. И. Плахова,  
А. В. Честков, Н. П. Петрова, Д. Г. Дерябин

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России,  
Москва, Россия

**Цель исследования.** Оценить показатели чувствительности современных российских штаммов *Neisseria gonorrhoeae* к антимикробным препаратам и охарактеризовать тенденции их изменения в период реализации программы RU-GASP (*Russian Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Programme*).

**Материал и методы.** В работу включены 293 штамма *N. gonorrhoeae*, выделенные в 11 субъектах Центрального, Северо-Западного, Приволжского, Южного и Сибирского федеральных округов Российской Федерации в 2015–2016 гг. Определение чувствительности к бензилпенициллину, цефтриаксону, тетрациклину, спектиномицину, азитромицину и ципрофлоксацину проводили методом серийных разведений в агаре и оценивали по критериям CLSI, EUCAST и МУК 4.2.1890–04 с использованием программы WHONET (версия 5.4). Полученные данные сопоставлены с результатами программы RU-GASP за 2005–2013 гг.

**Результаты.** Современные российские штаммы *N. gonorrhoeae* проявляют высокую устойчивость к бензилпенициллину, тетрациклину и ципрофлоксацину (доля нечувствительных штаммов — 46,8, 51,9 и 33,1% соответственно). При этом в период реализации программы RU-GASP зарегистрирована устойчивая тенденция к постепенному восстановлению чувст-

вительности *N. gonorrhoeae* к данным антимикробным препаратам. Доля штаммов, нечувствительных к азитромицину и спектиномицину, после достижения максимума в 2011 г. значительно снизилась и в настоящее время составляет 6,5 и 1,0% соответственно. На протяжении всего периода реализации программы RU-GASP чувствительность *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону сохранялась у 100% штаммов без признаков формирования у них устойчивости к данному антимикробному препарату.

**Выводы.** Высокая чувствительность российских штаммов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону сохраняет его значение как препарата выбора при лечении гонококковой инфекции. Спектиномицин с 2010 г. рекомендуется в качестве альтернативного препарата, а возможность использования азитромицина может быть пересмотрена при сохранении современной тенденции восстановления чувствительности к нему. Учитывая низкую активность бензилпенициллина, тетрациклина и ципрофлоксацина в отношении подавляющего большинства штаммов *N. gonorrhoeae*, данные препараты не рекомендуются к использованию для терапии гонококковой инфекции в Российской Федерации.

**Ключевые слова:** *Neisseria gonorrhoeae*, RU-GASP, антибиотикорезистентность.

## Current Trends in Antimicrobial Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Russian Federation

A.A. Kubanov, M.R. Rakhmatulina, V.S. Solomka, K.I. Plakhova, A.V. Chestkov, N.P. Petrova, D.G. Deryabin

Scientific Center of Dermatology, Venereology and Cosmetology, Moscow, Russia

**Objective.** To evaluate antimicrobial susceptibility of current *Neisseria gonorrhoeae* isolates and determine its trends over the RU-GASP (*Russian Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Programme*) period.

**Materials and Methods.** A total of 293 strains of *N. gonorrhoeae* isolated in 11 regions within Central, North-Western, Volga, Southern, and Siberian federal districts over the 2015–2016 were included in this study. Susceptibility to benzylpenicillin, ceftriaxone, tetracycline, spectinomycin, azithromycin, and ciprofloxacin was determined by agar dilution method and assessed according to the CLSI, EUCAST and MUK 4.2.1890-04 criteria using the WHONET software (v5.4). The data from the RU-GASP 2015–2016 were compared to those from the RU-GASP 2005–2013.

**Results.** The current *N. gonorrhoeae* strains in Russian Federation were found to be highly resistant to benzylpenicillin, tetracycline, and ciprofloxacin (46.8%, 51.9% and 33.1% of non-susceptible isolates, respectively). Over the RU-GASP program, there was a consistent tendency to gradual recovery of susceptibility

to these antimicrobial agents. Non-susceptibility rates to azithromycin and spectinomycin have significantly decreased following peak values in the 2011 and are currently 6.5% and 1.0%, respectively. Over the RU-GASP period, susceptibility of *N. gonorrhoeae* to ceftriaxone remained 100% with no emergence of resistance to this antibiotic.

**Conclusions.** Due to a high susceptibility of *N. gonorrhoeae* strains to ceftriaxone, this antibiotic remains drug of choice in the treatment of gonococcal infection. Since the 2010, spectinomycin is recommended as an alternative treatment. In addition, the possible use of azithromycin could be reconsidered, if the current trend of susceptibility recovery remains. Because of their low activity against the majority of *N. gonorrhoeae* strains, benzylpenicillin, tetracycline, and ciprofloxacin are not recommended to use in the treatment of gonococcal infection in Russian Federation.

**Key words:** *Neisseria gonorrhoeae*, RU-GASP, antimicrobial resistance.

### Введение

Заболеемость гонококковой инфекцией в Российской Федерации имеет устойчивую тенденцию к снижению: с 108,7 случаев на 100 тыс. населения в 2001 г. до 23,9 случаев на 100 тыс. населения в 2014 г. [1]. В значительной степени это связано с высокой эффективностью применяемых схем антибиотикотерапии, основанных на использовании цефалоспоринов III поколения, в частности — цефтриаксона и цефиксима [2]. Однако в последние годы в США, странах Западной Европы и Юго-Восточной Азии все чаще регистрируются случаи клинической неэффективности терапии цефалоспоринами [3]. Ситуация начинает напоминать предшествующий опыт использования пенициллинов, тетрациклинов, макролидов и фторхинолонов, рекомендованных в разные периоды для применения в антибиотикотерапии гонококковой инфекции, но по прошествии ряда лет выводимых из схем лечения по причине формирования устойчивости к ним клинических изолятов *N. gonorrhoeae* [4]. При этом фактическое исчерпание ресурса антибактериальных препаратов, использовавшихся для терапии гонококковой инфекции, при отсутствии

препаратов резерва формирует реальные риски развития неизлечиваемых форм этого заболевания [5]. Осознание этой угрозы — появление проекта Глобальной стратегии ВОЗ по инфекциям, передаваемым половым путем, на 2016–2021 гг., в котором именно *N. gonorrhoeae* присвоен статус одного из важнейших приоритетов, борьба с которым требует принятия неотложных мер в системе здравоохранения [6].

Испытанным инструментом контроля антибиотикорезистентности возбудителя гонококковой инфекции являются инициированные ВОЗ международные и национальные программы мониторинга, обозначаемые общим термином GASP (*Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Programme*) [7], предусматривающие сбор, верификацию и стандартизованное тестирование уровня чувствительности *N. gonorrhoeae* к широкому спектру антимикробных препаратов. По инициативе директора ФГБУ «ГНЦ дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России академика РАН А.А. Кубановой отечественная версия подобной программы, признанная мировым сообществом под названием RU-GASP, реализуется с 2002 г., а ее результаты регулярно представляются российскому [8, 9] и мировому [10, 11]

научному и медицинскому сообществу. Выполнение программы RU-GASP на протяжении целого ряда лет позволяло своевременно актуализировать клинические рекомендации, обоснованно уточняя перечень препаратов выбора и альтернативных препаратов, рекомендуемых для лечения больных гонококковой инфекцией в Российской Федерации [12], что позволило избежать случаев неэффективной антибиотикотерапии и положительно сказалось на уровне заболеваемости.

Целью настоящего исследования является оценка показателей антибиотикорезистентности российских штаммов *N. gonorrhoeae*, выделенных в 2015–2016 гг., а также сравнение их с аналогичными данными, полученными при реализации программы RU-GASP в 2005–2013 гг.

### Материал и методы

Исследование чувствительности клинических изолятов *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам проводили в соответствии с RU-GASP в рамках Государственного задания на выполнение прикладных научных исследований в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России на 2015 г. и плановый период — 2016–2017 гг. (Государственный контракт 114/БУ-2015–051 от 16.01.2015).

В исследование были включены 293 штамма *N. gonorrhoeae*, поступившие в 2015 г. (128 штаммов) и 2016 г. (165 штаммов) из специализированных медицинских организаций дерматовенерологического профиля 11 субъектов Российской Федерации, расположенных в Центральном (53 штамма), Северо-Западном (127 штаммов), Поволжском (44 штамма), Южном (20 штаммов) и Сибирском (49 штаммов) федеральных округах.

Первичная идентификация клинических изолятов проводилась в регионах-участниках с использованием бактериоскопического и бактериологического методов. Выделенные чистые культуры сохранялись в криосреде в условиях низкой температуры (от  $-20^{\circ}\text{C}$  до  $-80^{\circ}\text{C}$ ), а их экспресс-доставка в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России осуществлялась курьерской службой с соблюдением принципа «холодовой цепи».

Для подтверждения принадлежности поступивших культур к виду *N. gonorrhoeae* их высевали на шоколадный агар с добавлением 1% ростовой добавки ISOVitalax (Becton Dickinson, США) и 1% селективной добавки VCAT (Becton Dickinson, США). Наблюдение за ростом проводили в течение 48 часов с промежуточным контролем через сутки. Колонии, культуральные свойства которых соответствовали описанию *N. gonorrhoeae*, исследовали с использованием микроскопии и теста на оксидазу.

На следующем этапе оксидазоположительные грамотрицательные диплококки анализировались по совокупности показателей биохимической активности с использованием карт идентификации NH на анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция). В отношении культур, определенных как *N. gonorrhoeae* с менее чем 99% вероятностью, было проведено дополнительное масс-спектрометрическое исследование с помощью времяпролетного масс-спектрометра с ионизацией MALDI Microflex (Bruker Daltonics GmbH, Германия), работающего в диапазоне масс от 2000 до 23000 Да. При сравнении полученных масс-спектров с масс-спектрами референсной библиотеки с использованием программного пакета Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics GmbH, Германия) каждому сравнению присваивали численный рейтинг «Score Value» (от 0 до 3), вычисляемый на основании количества совпадений. Результаты со значением рейтинга выше 2,0 считали достоверными, завершающими цикл видовой идентификации *N. gonorrhoeae*.

Тестирование чувствительности *N. gonorrhoeae* к шести антибиотикам (бензилпенициллин, тетрациклин, ципрофлоксацин, азитромицин, спектиномицин и цефтриаксон) проводили методом серийных разведений в агаре в соответствии с ранее разработанными рекомендациями [13] с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотика. При проведении подобных исследований стерилизованный автоклавированием и остуженный до  $50^{\circ}\text{C}$  шоколадный агар смешивали с 1% ростовой добавкой ISOVitalax (Becton Dickinson, США) и разливали в чашки Петри, содержащие двойные серийные разведения чистых субстанций антибактериальных препаратов (19 мл агара к 1 мл раствора антибиотика). После подсушивания на поверхность агаровых пластин наносили по 1–2 мкл суспензии тестируемых штаммов, приготовленных на основе их 24-часовых агаровых культур и откалиброванных по стандарту мутности 0,5 МакФарланда ( $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Наличие роста оценивали после 24 и 48 часов инкубации при  $37^{\circ}\text{C}$  в газовой среде с содержанием 5%  $\text{CO}_2$ .

На основе соответствия критериев *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) и МУК 4.2.1890–04 [14] (табл. 1) интерпретацию результатов исследования чувствительности *N. gonorrhoeae* к бензилпенициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину, спектиномицину и цефтриаксону проводили по этим значениям. В связи с отсутствием в названных документах критериев чувствительности *N. gonorrhoeae* к азитромицину, использовали значения *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). На их основе тести-

Таблица 1. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам по МПК (в мкг/мл)

Антимикробный препарат	CLSI			EUCAST			МУК 4.2.1890-04			Референс-штамм <i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	
Бензилпенициллин	≤0,06	0,12–1	≥2	≤0,06	0,12–1	>1,0	≤0,06	0,12–1	≥2	0,25–1
Тетрациклин	≤0,25	0,5–1	≥2	≤0,5	1	>1,0	≤0,25	0,5–1	≥2	0,25–1
Ципрофлоксацин	≤0,06	0,12–0,5	≥1	≤0,03	0,06	>0,06	≤0,06	0,12–0,5	≥1	0,001–0,008
Азитромицин	–	–	–	≤0,25	0,5	>0,5	–	–	–	0,25–1
Спектиномицин	≤32	64	≥128	≤64	–	>64	≤32	64	≥128	8–32
Цефтриаксон	≤0,25	–	–	≤0,125	–	>0,125	≤0,25	–	–	0,004–0,015

**Примечание.** Здесь и в табл. 2: S – чувствительные, I – умеренно устойчивые, R – резистентные, I+R – нечувствительные штаммы.

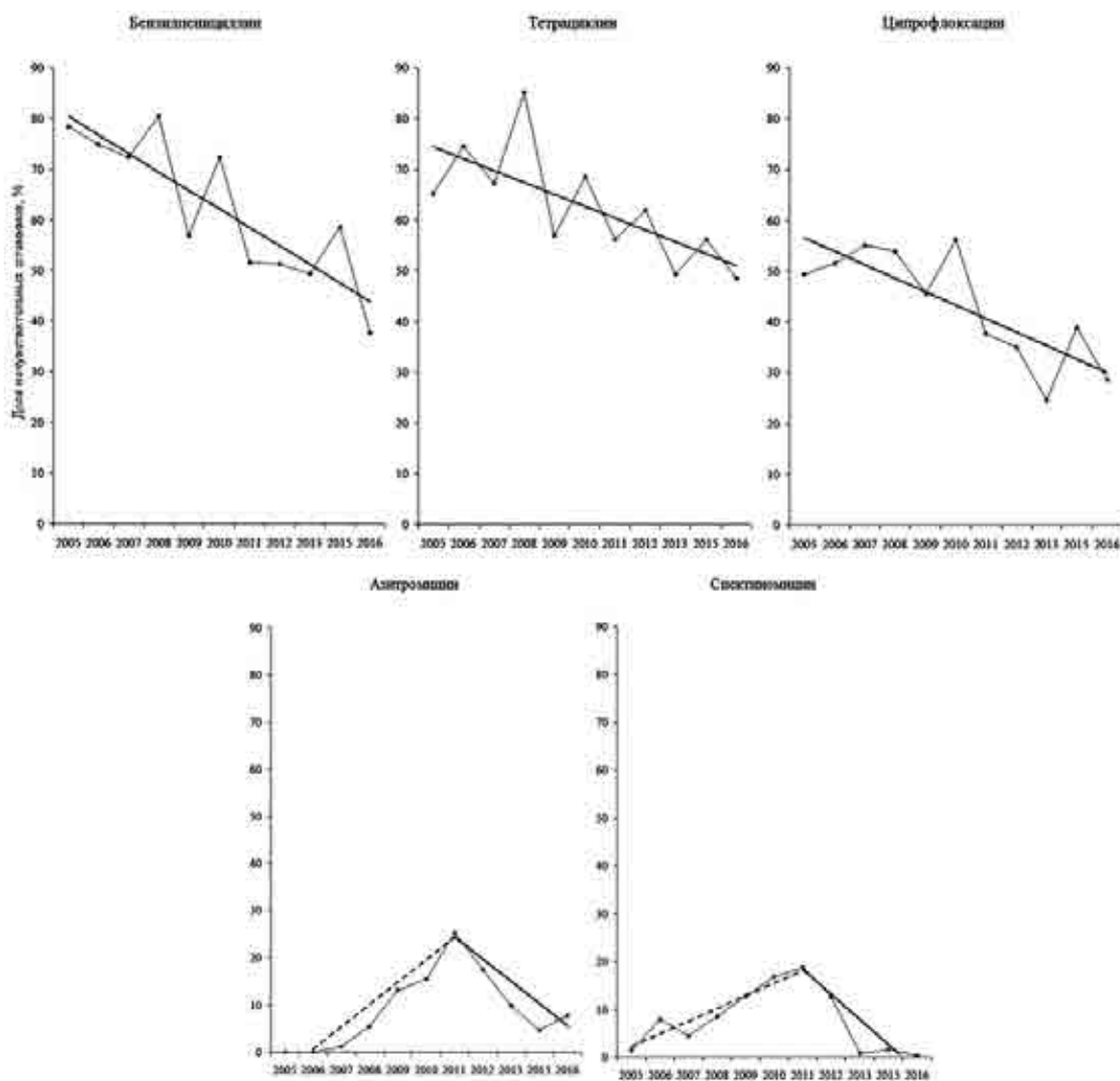


Рис. 1. Изменение доли штаммов *N. gonorrhoeae* (в %), нечувствительных (I+R) к тестируемым антимикробным препаратам, в процессе реализации программы RU-GASP (2005–2016 гг.).

Таблица 2. Показатели чувствительности к антимикробным препаратам у клинических изолятов *N. gonorrhoeae* (n=293), выделенных в Российской Федерации в 2015–2016 гг.

Антимикробный препарат	Распределение штаммов с различными уровнями чувствительности, абс. (%)			
	S	I	R	I+R
Бензилпенициллин	156 (53,2)	123 (42,0)	14 (4,8)	137 (46,8)
Цефтриаксон	293 (100)	0	0	0
Тетрациклин	141 (48,1)	101 (34,5)	51 (17,4)	152 (51,9)
Азитромицин	274 (93,5)	0	19 (6,5)	19 (6,5)
Спектиномицин	290 (99,0)	3 (1,0)	0	3 (1,0)
Ципрофлоксацин	196 (66,9)	3 (1,0)	94 (32,1)	97 (33,1)

руемые штаммы *N.gonorrhoeae* относили к одной из трех категорий: чувствительные (S) – susceptible, умеренно устойчивые (I) – intermediate и резистентные (R) – resistant. В соответствии с рекомендациями Европейской системы по надзору за антибиотикорезистентностью (EARSS), для интегральной характеристики лекарственной устойчивости применяли термин «нечувствительные», объединяющий умеренно устойчивые и резистентные штаммы (I+R).

Контроль качества приготовленных сред с антибактериальными препаратами в каждой серии экспериментов осуществляли с использованием референс-штамма *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 с известным профилем чувствительности к антибиотикам (см. табл. 1).

Обработку результатов исследования проводили с использованием компьютерной аналитической программы WHONET (версия 5.4). Оценку тенденций изменения антибиотикочувствительности *N. gonorrhoeae* проводили с использованием метода регрессионного анализа с помощью компьютерной программы Microsoft Office Excel. Сравнение гистограмм распределения значений МПК осуществляли на основе критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

**Результаты**

Использованные в настоящей работе методы анализа чувствительности *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам, а также применяемые для их интерпретации критерии отнесения тестируемых штаммов к определенным категориям сохраняют свою актуальность с начала XXI века, что определило возможность реализации долговременной программы мониторинга с анализом среднесрочных и долгосрочных тенденций изменения антибиотикорезистентности возбудителя гонококковой инфекции в Российской Федерации.

Полученные на настоящем этапе проведения мониторинга (2015–2016 гг.) обобщенные резуль-

таты определения чувствительности российских штаммов *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам приведены в табл. 2. Сопоставление полученных данных с результатами программы RU-GASP за 2005–2013 гг. представлено на рис. 1.

**Бензилпенициллин**, совершивший в конце 40-х годов XX века настоящую революцию в терапии гонококковой инфекции, через несколько десятилетий утратил свой антимикробный потенциал и, начиная с 1989 г., был выведен из схем эмпирической терапии данного заболевания [4]. Однако, в соответствии с общепринятой мировой практикой, оценка чувствительности к бензилпенициллину продолжает оставаться одним из «маркеров» общего уровня антибиотикорезистентности *N. gonorrhoeae*, что определило целесообразность включения этого антимикробного препарата в реализуемую программу мониторинга.

Изучение клинических изолятов *N. gonorrhoeae*, выделенных на территории Российской Федерации в 2015–2016 гг., позволило констатировать отсутствие чувствительности к бензилпенициллину у 137 из 293 тестированных штаммов (46,8%), преимущественно характеризующихся значениями МПК препарата в диапазоне от 0,125 до 1 мкг/мл (123 штамма; 42,0%) и соответствующих критерию «умеренная устойчивость» (см. табл. 2). В то же время 14 (4,8%) клинических изолятов демонстрировали истинную резистентность к бензилпенициллину (МПК от 2 до 32 мкг/мл), что достаточно типично ассоциировалось с их множественной устойчивостью к нескольким (3 и более) антимикробным препаратам.

Сравнение полученных результатов с данными 2005–2009 [8] и 2010–2013 гг. [9] свидетельствовало о том, что после максимума – 80,4% нечувствительных штаммов в 2008 г. в Российской Федерации регистрируется устойчивая тенденция к частичному восстановлению чувствительности *N. gonorrhoeae* к бензилпенициллину (см. рис. 1). При этом доля штаммов с высоким уровнем устойчивости к пенициллину в современной российской популяции



*N. gonorrhoeae* примерно в два раза уступала частоте их регистрации в 2009–2012 гг. (9,6–13,2%) [11], что также объективно подтверждало тенденцию происходящего восстановления чувствительности возбудителя гонококковой инфекции к данному антимикробному препарату.

**Тетрациклин**, рекомендованный для терапии гонококковой инфекции в период 1962–1986 гг. [4], в настоящее время используется исключительно в качестве «маркера» общего уровня антибиотикорезистентности, а также как показатель устойчивости *N. gonorrhoeae* к доксициклину.

Исследование чувствительности современных российских изолятов *N. gonorrhoeae* (см. табл. 2) к этому антибактериальному препарату позволило констатировать статус чувствительности лишь для 141 штамма (48,1%), в то время как более половины тестированных культур проявляли умеренный (101 штамм; 34,5%) или высокий уровень резистентности к тетрациклину (51 штамм; 17,4%).

Сравнение полученных результатов с данными 2005–2009 [8] и 2010–2013 [9] гг. после максимума в 2008 г. (85,1% нечувствительных штаммов) вновь позволяло говорить о тенденции частичного восстановления чувствительности *N. gonorrhoeae* к тетрациклину (см. рис. 1). Одним из проявлений этого являлось перераспределение доли клинических изолятов с умеренной (МПК 0,5–1,0 мкг/мл) и высокого уровня ( $\geq 2$  мкг/мл) резистентностью к данному антимикробному препарату. Так, если ранее среди клинических изолятов преобладали резистентные штаммы (в т. ч. в 2008 г. — 66,6%), то начиная с 2013 г. высокий процент нечувствительных штаммов сохранялся преимущественно за счет присутствия в анализируемых выборках культур с умеренной чувствительностью к тетрациклину.

**Фторхинолоны**, рекомендованные для терапии гонококковой инфекции на рубеже XX–XXI веков, были включены в реализуемую программу мониторинга в качестве еще одного «маркера» общего уровня антибиотикорезистентности *N. gonorrhoeae*. При этом в качестве анализируемого препарата использовали ципрофлоксацин, чувствительность или устойчивость к которому достаточно четко коррелирует с антибактериальной активностью других фторхинолоновых соединений.

Исследование современных клинических изолятов *N. gonorrhoeae* показало чувствительность к ципрофлоксацину у 196 из 293 тестированных штаммов (66,9%) (см. табл. 2). В свою очередь, треть тестированных культур характеризовалась отсутствием чувствительности к этому антимикробному препарату (главным образом за счет истинно рези-

стентных штаммов — 94; 32,1%), а статус умеренной устойчивости был детектирован лишь у единичных изолятов (3 штамма; 1%).

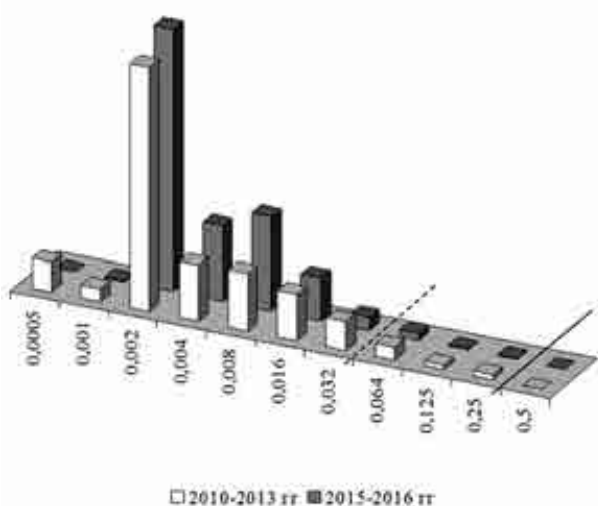
Сравнение изменения чувствительности возбудителя гонококковой инфекции к фторхинолонам после максимумов 2006–2008 гг. (более 50% нечувствительных штаммов) и локального максимума в 2010 г. (56,2% нечувствительных штаммов) вновь свидетельствовало о тенденции к восстановлению чувствительности *N. gonorrhoeae* (см. рис. 1). При этом, как и в случае с бензилпенициллином и тетрациклином, рост показателей чувствительности *N. gonorrhoeae* к препаратам группы фторхинолонов наблюдался преимущественно за счет относительного сокращения истинно резистентных штаммов.

Мониторинг чувствительности *N. gonorrhoeae* к макролидному антибиотику **азитромицину**, в соответствии с *Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines* (CDC, 2010) рассматриваемому в качестве препарата резерва для терапии гонококковой инфекции, в рамках программы RU-GASP проводится с 2007 г. На протяжении этого периода [8, 9] первоначально регистрировался достаточно быстрый рост резистентности к этому антимикробному препарату с максимумом (25,3% устойчивых штаммов) в 2011 г. (см. рис. 1).

Проведенное исследование современной российской популяции *N. gonorrhoeae* позволило констатировать статус чувствительности к азитромицину у 274 из 293 тестированных штаммов (93,5%), в то время как на долю резистентных культур приходилось 6,5% клинических изолятов (см. табл. 2).

Тем самым полученные результаты свидетельствуют о произошедшем за несколько последних лет достаточно быстром восстановлении чувствительности *N. gonorrhoeae* к азитромицину, относительные значения которой вплотную приблизили его к пороговому значению 95%, рекомендуемому ВОЗ в качестве критерия возможности использования антимикробного препарата для терапии гонококковой инфекции [15]. В пользу этой возможности говорят и результаты анализа распределений МПК азитромицина в выборках 2015–2016 гг. в сравнении с 2010–2013 гг., свидетельствующие об их сдвиге в сторону низких концентраций антибиотика, произошедшем в первую очередь за счет сокращения штаммов с МПК  $\geq 0,5$  мкг/мл, оцениваемых как резистентные в соответствии с рекомендациями EUCAST.

Целесообразность исследования чувствительности *N. gonorrhoeae* к аминоциклическому антибиотику **спектиномицину** определялась его использованием в качестве альтернативного препарата для лечения гонококковой инфекции, рекомендуемого



**Рис. 2.** Распределение МПК (в мкг/мл) цефтриаксона в отношении *N. gonorrhoeae*, выделенных в Российской Федерации в 2010–2013 гг. и 2015–2016 гг. Сплошная линия – граница между чувствительными (МПК  $\leq 0,25$  мкг/мл) и устойчивыми штаммами; прерывистая линия – граница между штаммами «дикого типа» (МПК  $\leq 0,032$  мкг/мл) и штаммами с признаками формирующейся устойчивости к цефтриаксону.

European Guideline on the Diagnosis and Treatment of Gonorrhoeae in Adults (2012).

Исследование современной российской популяции *N. gonorrhoeae* подтвердило эту возможность, зафиксировав чувствительность к спектиномицину у 290 из 293 изученных штаммов (99,0%). При этом резистентность к данному антимикробному препарату не детектировалась, а 3 штамма с МПК, составляющей 64 мкг/мл (2 – в 2015 г., 1 – в 2016 г.), в соответствии с использованными критериями были оценены как умеренно устойчивые.

Сопоставление полученных результатов с данными 2005–2009 гг. [8] и 2010–2013 гг. [9] свидетельствовало о том, что в течение первой половины периода реализации программы RU-GASP доля штаммов, нечувствительных к спектиномицину, возросла с 1,4% в 2005 г. до 18,8% в 2011 г. Однако, вслед за этим произошел достаточно быстрый рост доли чувствительных штаммов, и уже с 2013 г. доля подобных культур стала превышать порог 95%, рекомендуемый ВОЗ в качестве критерия возможности использования антимикробного препарата для терапии гонококковой инфекции [15]. Анализ гистограмм распределения МПК спектиномицина в выборках 2015–2016 гг. в сравнении с 2010–2013 гг. подтвердил эту тенденцию, связав ее с исчезновением резистентных (МПК  $\geq 128$  мкг/мл) и существенным сокращением доли умеренно устойчивых штаммов *N. gonorrhoeae*.

**Цефтриаксон**, считающийся в настоящее время препаратом выбора при лечении гонококковой инфекции в Российской Федерации, США и странах Западной Европы, чувствительность к которому является интегральным показателем потенциальной эффективности других цефалоспоринов (в т. ч. перорального препарата цефиксима), представляет наиболее значимый элемент реализуемой системы мониторинга.

Исследование чувствительности современных российских штаммов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону позволило констатировать таковую в 100% случаев (см. табл. 2), что полностью воспроизводило показатели, полученные в 2005–2009 гг. [8] и 2010–2013 гг. [9].

В связи с невозможностью представления полученных данных в категориях чувствительности был проведен сравнительный анализ гистограмм распределения МПК цефтриаксона в выборках 2010–2013 гг. [9] и 2015–2016 гг. (рис. 2). При этом в качестве дополнительного критерия использовалась концентрация  $\leq 0,032$  мкг/мл, предложенная EUCAST в качестве пограничного значения, разделяющего дикую популяцию *N. gonorrhoeae* от штаммов с признаками формирующейся устойчивости к данному антимикробному препарату. Количество подобных культур составило 4,6% в выборке 2010–2013 гг. и 2,1% в выборке 2015–2016 гг., что не позволяет говорить о тенденции к формированию устойчивости к цефтриаксону у российских штаммов *N. gonorrhoeae*. Об этом же свидетельствует сохранение чувствительности большинства тестированных штаммов в зоне частотного максимума МПК – 0,002 мкг/мл (49,0% в 2010–2013 гг. и 52,6% в 2015–2016 гг.), а также статистическая незначимость различий между анализируемыми распределениями значений МПК ( $p > 0,05$ ), оцененная по критерию критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

### Обсуждение результатов

Оценка антибиотикорезистентности современных российских штаммов *N. gonorrhoeae*, а также ее сопоставление с результатами долговременного мониторинга, реализуемого в соответствии с программой RU-GASP с 2005 г., позволили охарактеризовать три основные тенденции изменения чувствительности возбудителя к антимикробным препаратам, исторически и в настоящее время используемым для терапии гонококковой инфекции.

В отношении бензилпенициллина, тетрациклина и фторхинолонов (на примере цiproфлоксацина), ранее рекомендуемых для лечения данного заболевания, но в дальнейшем исключенных из схем терапии гонококковой инфекции по причине фор-

мирования высокого уровня устойчивости к ним у клинических изолятов *N. gonorrhoeae*, основной тенденцией является постепенное восстановление чувствительности к этим антимикробным препаратам.

Оценка полученных данных с использованием алгоритма корреляционного анализа позволила констатировать статистическую значимость снижения доли нечувствительных штаммов *N. gonorrhoeae* в динамике исследования:  $r = -0,8429$ ;  $p = 0,0011$  для бензилпенициллина;  $r = -0,7048$ ;  $p = 0,0154$  для тетрациклина и  $r = -0,7833$ ;  $p = 0,0043$  для ципрофлоксацина. Однако скорость подобного восстановления (1,5–3,7% в год) не позволяет в среднесрочной перспективе прогнозировать возможность возвращения данных антимикробных препаратов в схемы этиотропной терапии гонококковой инфекции. При этом использование регрессионного анализа при сохранении текущего линейного тренда свидетельствует о возможности достижения 95% чувствительности *N. gonorrhoeae* к бензилпенициллину к 2027 г., к тетрациклину только к 2037 г., а к ципрофлоксацину — к 2026 г.

Применительно к азитромицину и спектиномицину, в отношении которых в первые годы реализации программы RU-GASP регистрировался достаточно быстрый рост антибиотикорезистентности гонококков с максимумами в 2011 г., в последующие годы зафиксировано столь же быстрое восстановление чувствительности. При этом текущие значения подтверждают актуальность использования спектиномицина в качестве препарата для альтернативного лечения гонококковой инфекции, а в отношении азитромицина при сохранении текущей тенденции позволяют ожидать решения о его альтернативном или комбинированном с цефалоспорином III поколения использовании в обозримой перспективе.

Формат настоящей статьи не предполагает обсуждения молекулярных механизмов восстановления чувствительности *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам. Однако, следует отметить, что при прекращении селективного давления определенных антибиотиков в результате их исключения из схем терапии, многие мутации, вовлеченные в формирование статуса резистентности, с высокой степенью вероятности оказываются не только бесполезными, но и вредными, поскольку затрагивают важные внутриклеточные мишени, связанные с репликацией

ДНК, синтезом белка или образованием клеточной стенки гонококков. При этом чем более значимые мишени были затронуты мутационным процессом и чем менее высокий уровень резистентности был достигнут, тем более быстрыми могут быть темпы восстановления чувствительности *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам. Происходящее в подобных условиях вытеснение мутантных штаммов штаммами «дикого» типа представляется закономерным следствием их эволюционно сформированной адекватности занимаемой экологической нише.

Третьим важным результатом проведенного исследования является определение тенденции сохранения чувствительности российских штаммов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону, в настоящее время и в обозримой перспективе остающемуся препаратом выбора для терапии гонококковой инфекции. При этом динамический анализ гистограмм распределения МПК цефтриаксона с выделением зоны с признаками формирующейся устойчивости к данному антимикробному препарату в настоящее время не позволяет прогнозировать появление российских цефтриаксонорезистентных штаммов *N. gonorrhoeae*, сохраняя подобную возможность их трансграничного переноса из США, стран Западной Европы и Юго-Восточной Азии.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют констатировать, что в Российской Федерации сложилась относительно благоприятная ситуация по показателям чувствительности *N. gonorrhoeae* к антибактериальным препаратам, следствием которой является высокая эффективность применяемых схем терапии и сокращающаяся заболеваемость гонококковой инфекцией. При этом указанные факты могут быть напрямую соотнесены с многолетней успешной реализацией программы RU-GASP, продолжение которой представляется важным элементом глобальной и национальной стратегии по инфекциям, передаваемым половым путем.

Исследования выполнены в рамках Государственного контракта 114/БУ-2015–051 от 16.01.2015 г. на проведение прикладных научных исследований в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России.

## Литература

1. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Мелехина Л.Е., Богданова Е.В. Дерматовенерология в Российской

Федерации. Итоги 2014 г. Успехи, достижения, основные пути развития. Вестник дерматологии и венерологии 2015; 4:13-26.

2. Рахматулина М.Р. Современные принципы терапии гонококковой инфекции. Фарматека 2015; 12:58-61.
3. Tapsall J.W. *Neisseria gonorrhoeae* and emerging resistance to extended spectrum cephalosporins. Curr Opin Infect Dis 2009; 22(1): 87-91.
4. Unemo M., Shafer W.M. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: origin, evolution, and lessons learned for the future. Ann N Y Acad Sci 2011; 1230: E19-28.
5. Unemo M., Nicholas R.A. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhoea. Future Microbiol 2012; 7(12):1401-22.
6. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Проекты глобальных стратегий сектора здравоохранения. Инфекции, передаваемые половым путем, 2016-2021 гг. Доклад Секретариата: A69/33; 2016.
7. Unemo M., Ison C.A., Cole M., Spiteri G., van de Laar M., Khotenashvili L. Gonorrhoea and gonococcal antimicrobial resistance surveillance networks in the WHO European region, including the independent countries of the former Soviet Union. Sex Transm Infect 2013; 89(Suppl 4):42-6.
8. Лесная И.Н., Соломка В.С., Фриго Н.В., Кубанов А.А., Полевщикова С.А., Сидоренко С.В. Выбор препаратов для лечения гонококковой инфекции на основании результатов мониторинга антибиотикорезистентности *N.gonorrhoeae*. Вестник дерматологии и венерологии 2010; 5:65-73.
9. Соломка В.С. Динамика чувствительности штаммов *N.gonorrhoeae*, выделенных на территории Российской Федерации в 2010-2013 гг., к антимикробным препаратам, применяемым для лечения гонококковой инфекции. Вестник дерматологии и венерологии 2014; 6:93-99.
10. Kubanova A., Frigo N., Kubanov A., et al. The Russian gonococcal antimicrobial susceptibility programme (RU-GASP) - national resistance prevalence in 2007 and 2008, and trends during 2005-2008. Eurosurveillance 2010; 15:14.
11. Kubanova A., Kubanov A., Frigo N., et al. Russian gonococcal antimicrobial susceptibility programme (RU-GASP) - resistance in *Neisseria gonorrhoeae* during 2009-2012 and NG-MAST genotypes in 2011 and 2012. BMC Infectious Diseases 2014; 14:342.
12. Рахматулина М.Р., Соколовский Е.В., Соломка В.С. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных гонококковой инфекцией. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Москва, 2015.
13. Сехин С.В., Вознесенский Д.Л., Васильев М.М., Кубанов А.А. Определение чувствительности гонококков к антибактериальным препаратам Клинический микробиол антимикроб химиотер 2003; 5(2):175-82.
14. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. Москва: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.С.91.
15. World Health Organization (WHO). Department of Reproductive Health and Research: Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Geneva: WHO; 2012:1-36.

## Чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов *Helicobacter pylori*, выделенных от пациентов с предраковыми и онкологическими заболеваниями желудка

Л.Г. Морозова<sup>1</sup>, О.К. Поздеев<sup>1,2</sup>, А.О. Поздеева<sup>1</sup>,  
Л.В. Кипенская<sup>1</sup>, Е.В. Муравьева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России, Казань, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия

<sup>3</sup> ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Республики Татарстан, Казань, Россия

Изучена частота и уровень инфицированности *H. pylori* слизистой оболочки желудка среди пациентов с предраковыми (аденоматозный и гиперпластический полип, очаговая гипертрофия и эрозия) и онкологическими заболеваниями желудка (аденокарцинома, перстневидно-клеточный рак и карциноид). *H. pylori* был обнаружен у 75,5±3,1% обследованных, при этом среди пациентов со злокачественными образованиями — у 72,2±7,5%. У этих больных выявлена очень высокая степень обсемененности (10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> КОЕ/биоптат). У пациентов с предраковыми

заболеваниями преобладали средние и высокие степени обсемененности слизистой оболочки антрального отдела желудка. Исследованы уровни чувствительности выделенных штаммов *H. pylori* к антибактериальным препаратам. Чувствительными к кларитромицину, амоксицилину, метронидазолу, тетрациклину и цiproфлоксацину были 85, 79, 32, 65 и 90% штаммов *H. pylori* соответственно.

**Ключевые слова:** онкологические заболевания желудка, предрак, *Helicobacter pylori*, антибиотикорезистентность.

### Antimicrobial Susceptibility of *Helicobacter pylori* Isolates from Patients with Gastric Cancer and Precancer

L.G. Morozova<sup>1</sup>, O.K. Pozdeev<sup>1,2</sup>, A.O. Pozdeeva<sup>1</sup>, L.V. Kipenskaya<sup>1</sup>, E.V. Muravyeva<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Kazan State Medical University, Kazan, Russia

<sup>3</sup> Republican Clinical Oncology Dispensary, Kazan, Russia

This study was aimed to assess incidence and grade of colonization of gastric mucosa with *Helicobacter pylori* in patients with precancerous conditions (adenomatous polyp, hyperplastic polyp, focal hypertrophy, erosions) and gastric cancer (adenocarcinoma, signet ring cell carcinoma, carcinoid). The incidence of *H. pylori* infection was 75.5±3.1% in the overall patient population and 72.2±7.5% among patients with gastric cancer. The patients with gastric cancer had a high grade of coloni-

zation (10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> CFU/biopsy). Most patients with precancerous conditions had intermediate and high grades of antral mucosa colonization with *H. pylori*. Antimicrobial susceptibility of *H. pylori* was determined by disk diffusion method. Susceptibility rates of *H. pylori* to clarithromycin, amoxicillin, metronidazole, tetracycline, and ciprofloxacin were 85%, 79%, 32%, 65%, and 90%, respectively.

**Key words:** gastric cancer, precancer, *Helicobacter pylori*, antimicrobial resistance.

Контактный адрес:  
Лариса Викторовна Кипенская  
Эл.почта: lkipensk@gmail.com

## Введение

В 1994 году ВОЗ и Международное агентство по изучению рака (IARC) признали *Helicobacter pylori* канцерогеном I порядка [1]. Позднее в ряде исследований было показано, что проведение ранней эрадикационной терапии существенно снижает частоту развития *рака желудка* (РЖ) [2, 3]. В то же время были получены сведения, указывающие на отсутствие подобного влияния эрадикационной терапии [4, 5]. Тем не менее, большинство авторов полагают, что проведение эффективной эрадикационной терапии в определенной степени снижает риск развития РЖ, но не способно полностью предотвратить его развитие [6].

В настоящее время не вызывает сомнений этиологическая значимость *H. pylori* в развитии большинства случаев антрального неатрофического хронического гастрита (типа В), способного приводить к атрофии слизистой желудка и кишечной метаплазии, признанных предраковыми состояниями. Установлена корреляция между степенью развития *H. pylori*-ассоциированного гастрита и выраженностью кишечной метаплазии [7], показана обратимость кишечной метаплазии после успешной эрадикационной терапии [8]. Также показано, что элиминация *H. pylori* может не только предотвращать развитие и прогрессирование атрофии эпителия [9], но также возможно обратное развитие атрофии слизистой оболочки, хотя этот процесс отмечен не у всех пациентов и лишь через несколько лет после антигеликобактериальной терапии [8, 10, 11].

**Цель исследования** — изучить частоту инфицированности *H. pylori* слизистой оболочки желудка (СОЖ) среди пациентов с предраковыми и онкологическими заболеваниями желудка и определить чувствительность выделенных штаммов к антибактериальным препаратам.

## Материал и методы

Обследовано 196 пациентов, обратившихся в отделение эндоскопии ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Республики Татарстан для эндоскопического исследования верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Среди них: 83 человека с полипами желудка (у 28 диагностирован аденоматозный, у 55 — гиперпластический полипы), 35 — с очаговой гипертрофией, 42 — с эрозиями (у 34 диагностированы воспалительно-гиперпластические, у 8 — поверхностные). Также было обследовано 36 онкологических больных, среди которых у 30 диагностирована аденокарцинома желудка, у 5 — перстневидно-клеточный рак и у 1 пациента — карциноид.

От каждого больного брали по два биоптата СОЖ по 5 мг: первый — для первичной микроскопии в мазках, второй — для бактериологических исследований. Эту величину учитывали при расчете уровней обсемененности. Биоптаты помещали в 3–5 мл полужидкой тиогликолевой транспортной среды и немедленно доставляли в лабораторию. Для первичной микроскопии один биоптат стерильно разделяли на две части. Из одной части готовили два «раздавленных» мазка, фиксировали над пламенем горелки и окрашивали разведенным фуксином Пфайфера и по Граму. Мазки просматривали в световом микроскопе под иммерсией. Вторую часть биоптата исследовали в Слю-тесте на уреазную активность по методу, предложенному Б.Д. Старостиним и А.В. Петрутиком [12], модифицируя его внесением в пробирки под пробку индикаторных бумажек, пропитанных реактивом Крушпа для выявления аммиака. Каждую пробу сопровождали контролем среды на отсутствие неспецифического щелочения. Пробы инкубировали в течение от 30–60 минут до 3–24 часов при 37 °С.

Для выделения *H. pylori* второй биоптат гомогенизировали в 1 мл физиологического раствора хлорида натрия и высевали на плотные питательные среды в объеме одной капли (0,05 мл). В качестве питательных сред использовали эритрит-кровяной агар с эритроцитами барана с 2 мкг/мл амфотерицина В (Oxoid Ltd, Великобритания). В исследованиях, проведенных после 2012 года, эритрит-кровяной агар дополняли внесением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (Serva, Германия). Посевы инкубировали в течение 5 суток в микроаэрофильных условиях (10% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>) при 37 °С. Колонии *H. pylori* имели характерный вид: мелкие прозрачные, диаметром 0,5–1 мм, влажные или суховатые, иногда окруженные небольшой зоной гемолиза. У выделенных культур определяли подвижность в препарате «раздавленная капля» при фазово-контрастной микроскопии с масляной иммерсией. Просматривали не менее 10–12 полей зрения и выявляли бактерии с характерной «винтообразной» подвижностью. Биохимическую идентификацию проводили по наличию оксидазной, каталазной и уреазной активности.

Факт присутствия *H. pylori* подтверждали по совокупности положительных результатов бактериологического, бактериологического и биохимического исследования. Как положительный результат рассматривали также случаи обнаружения в мазках-отпечатках грамтрицательных палочек характерной морфологии и положительных результатов Слю-теста. Как отсутствие *H. pylori* рассматривали данные, включающие отрицательные результа-

Таблица 1. Частота обнаружения *H. pylori* в биоптатах СОЖ у больных в зависимости от патологии

Вид патологии	Количество больных, инфицированных <i>H. pylori</i> , n (%)
Рак желудка	26 (72,2±7,5)
Аденоматозный полип	22 (78,6±7,8)
Гиперпластический полип	34 (61,8±6,6)
Эрозия	38 (90,1±4,6)
Очаговая гипертрофия	28 (80±6,8)

Таблица 2. Частота обнаружения *H. pylori* в биоптатах СОЖ в зависимости от места взятия биоптата

Вид патологии	Количество случаев выделения <i>H. pylori</i> , n (%)	
	область патологии	прилегающая слизистая
Аденоматозный полип	16 (72,7±9,5)	20 (90,9±6,1)
Гиперпластический полип	24 (72,7±7,75)	31 (93,9±4,2)
Эрозия	34 (89,5±4,98)	34 (94,0±3,9)
Очаговая гипертрофия	22 (78,6±7,8)	27 (96,4±3,5)
Рак желудка	23 (88,5±6,3)	26 (100)

ты бактериоскопии, выделения культур бактерий и положительный Слю-тест с биоптатом, так как Слю-тест достаточно неспецифичен (он может быть положительным в присутствии других микроорганизмов: протеев, стафилококков, кандид и др.).

Степень обсемененности биоптата определяли путем подсчета колоний, выросших на плотных средах. При этом исходили из следующих расчетов: биоптат массой 5 мг растирали в присутствии 1 мл жидкости, т. е. получали разведение 1:200, засекали на питательные среды по 1 капле (0,05 мл) суспензии. Соответственно уровень обсемененности равнялся частному от деления количества выросших колоний на объем гомогената, умноженному на объем физиологического раствора, в котором гомогенизировали биоптат. Обнаружение в мазках до 20 микробных клеток *H. pylori* рассматривали как слабую обсемененность (+), от 20 до 50 — как умеренную (++), более 50 — высокую степень обсемененности (+++).

Определение чувствительности штаммов *H. pylori* к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом. Следует отметить, что до настоящего времени отсутствует стандартизованный метод определения чувствительности *H. pylori* к антибиотикам. В своих исследованиях мы руководствовались рекомендациями С. McNulty с соавт. [13]. В работе использовали диски с метронидазолом (5 мкг), кларитромицином (2 мкг), эритромицином (5 мкг), тетрациклином (30 мкг), амоксициллином (10 мкг), ципрофлоксацином (5 мкг)

и фуразолидоном (1 мкг) производства HiMedia Lab (Индия).

После идентификации культуры готовили бактериальную взвесь, соответствующую стандарту мутности по шкале Мак-Фарланда 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  микробных тел/мл). Затем 1 мл взвеси наносили на кровяной агар и равномерно распределяли по чашке Петри. Диски вносили из расчета шести дисков на чашку Петри и культивировали пять суток в микроаэрофильных условиях при 37 °С. Затем с помощью штангенциркуля измеряли диаметры зон задержки роста вокруг дисков и сопоставляли с данными таблиц, содержащих пограничные значения диаметров зон задержки роста для устойчивых, умеренно устойчивых и чувствительных штаммов.

Полученные данные подвергали статистической обработке с вычислением средней ошибки показателя *m* с использованием программы «Microsoft Office Excel 2007». Статистически значимыми считали результаты при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Проведенные исследования показали, что среди 196 обследованных пациентов *H. pylori* обнаружен у 148 (75,5±3,1%). Частота обнаружения была практически одинаковой у мужчин и женщин и составила соответственно 73,1±4,6 и 70,7±3,95%.

Наиболее часто бактерии выявляли у пациентов с эрозиями, наименьшую — у больных с гиперпластическими полипами (табл. 1).

Таблица 3. Уровни обсемененности *H. pylori* биоптатов СОЖ в зависимости от вида патологии, КОЕ/биоптат

Диагноз	Количество биоптатов		
	Умеренная обсемененность (10 <sup>1</sup> –10 <sup>2</sup> )	Высокая обсемененность (10 <sup>3</sup> –10 <sup>4</sup> )	Очень высокая обсемененность (10 <sup>4</sup> –10 <sup>5</sup> )
Полипы*	23	24	8
Эрозии	12	25	1
Очаговые гипертрофии	11	13	4
Рак желудка	5	7	14

Примечание: \* — аденоматозные и гиперпластические полипы

Таблица 4. Распределение выделенных изолятов *H. pylori* по чувствительности к антибактериальным препаратам, %

Антибиотик	Чувствительные	Умеренно устойчивые	Устойчивые
Кларитромицин	85,6±11,7	10,4±3,2	3,5±0,7
Амоксициллин	78,5±12,3	21,5±3,6	0
Ципрофлоксацин	91,6±10,9	8,4±2,7	0
Тетрациклин	64,3±8,6	35,7±6,1	0
Фуразолидон	41,7±6,3	58,3±8,3	0
Метронидазол	32,0±5,1	32,3±8,7	35,8±9,2

Также была изучена зависимость частоты выделения бактерий от места забора биоптата. Проведенные исследования выявили определенные различия в частоте выделения *H. pylori* из очага поражения и области визуально неизменной СОЖ, но они не достигали границ статистической достоверности (табл. 2)

Определение уровней обсемененности биоптатов показало, что у больных раком желудка высокая частота обнаружения *H. pylori* коррелировала с высокой степенью обсемененности (10<sup>4</sup>–10<sup>5</sup> КОЕ/биоптат). У пациентов с полипами, эрозиями и очаговыми гипертрофиями СОЖ на фоне высокой частоты выделения *H. pylori* высокие уровни обсемененности биоптатов наблюдали реже. У большинства больных отмечали средние уровни обсемененности СОЖ (табл. 3).

Изучение чувствительности к антибиотикам у выделенных штаммов *H. pylori* показало, что они чувствительны к кларитромицину, амоксициллину и ципрофлоксацину в 86, 79 и 92% случаев соответственно (табл. 4). Чувствительными к тетрациклину были 65% штаммов. Наименьшую чувствительность бактерии проявляли к метронидазолу (32%).

### Заключение

Значение эрадикационной терапии в профилактике рака желудка остается предметом дискуссии. Вполне логично полагать, что элиминация *H. pylori* снижает выраженность воспалительного процесса и, соответственно, атрофического гастрита, что, в свою очередь, снижает риск развития кишечной метаплазии [14]. В пользу этого предположения, впервые выдвинутого Р. Согеа в 1995 г., говорят результаты ряда исследований, различающихся между собой лишь длительностью наблюдений за пациентами [4, 5, 15]. Кроме того, показано, что проведение эрадикационной терапии пациентам, перенесшим оперативное удаление опухоли, также снижает риск ее рецидива [16]. В то же время, проведенные недавно ретроспективные исследования указывают на отсутствие какого-либо влияния предшествующей эрадикации *H. pylori* на риск развития рака желудка [17, 18]. Указанные разногласия указывают на необходимость поиска адекватных прогностических маркеров возможного развития рака желудка среди пациентов с целью разработки показаний для проведения эрадикационной терапии.



## Литература

1. C Working Group: Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. C Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1994; 61:1-241.
2. Wu C.Y., Kuo K.N., Wu M.S., et al. Early *Helicobacter pylori* eradication decreases risk of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 2009; 137:1641-8.
3. Ma J.L., Zhang L., Brown L.M., et al. Fifteen-year effects of *Helicobacter pylori*, garlic, and vitamin treatments on gastric cancer incidence and mortality. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104:488-92.
4. Correa P., Fontham E.T., Bravo J.C., et al. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-*Helicobacter pylori* therapy. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:1881-8.
5. Fuccio L., Zagari R.M., Eusebi L.H., et al. Meta-analysis: can *Helicobacter pylori* eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med* 2009; 151:121-8.
6. Cavaleiro-Pinto M., Peleteiro B., Lunet N., Barros H. *Helicobacter pylori* infection and gastric cardia cancer: systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2011; 22:375-87.
7. Eidt S., Stolte M. Prevalence of intestinal metaplasia in *Helicobacter pylori* gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1991; 29: 607-10.
8. Kokkola A., Sipponen P., Pautelin. H., et al. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:515-20.
9. Sakaki N., Kozswa H., Egea N., et al. Ten-year prospective follow-up study on the relationship between *Helicobacter pylori* infection and progression of atrophic gastritis, particularly assessed by endoscopic findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:198-203.
10. Fichman S., Niv Y. Histological changes in the gastric mucosa after *Helicobacter pylori* eradication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16:1183-88.
11. Hojo M., Miwa H., Ohkusa T., et. al. Alteration of histological gastritis after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:1923-32.
12. Старостин Б.Д., Петрутик А.В. Экспресс-метод диагностики инфицированности *Campylobacter pylori* желудка и двенадцатиперстной кишки. *Клиническая медицина* 1989; 67:50-2.
13. McNulty C., Owen R., Tompkins D., et al. *Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49:601-9.
14. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 (Suppl 1): S37-S43.
15. Take S., Mizuno M., Ishiki K., et al. The long-term risk of gastric cancer after the successful eradication of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol* 2011; 46:318-24.
16. Fukase K., Kato M., Kikuchi S., et al. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 372:392-7.
17. Maehata Y., Nakamura S., Fujisawa K., et al. Long-term effect of *Helicobacter pylori* eradication on the development of metachronous gastric cancer after endoscopic resection of early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2012; 75:39-46.
18. Kato M., Nishida T., Yamamoto K., et al. Scheduled endoscopic surveillance controls secondary cancer after curative endoscopic resection for early gastric cancer: a multicentre retrospective cohort study by Osaka University ESD study group. *Gut* 2013; 62:1425-32.

## Ускоренные методы идентификации положительных гемокультур с применением MALDI-TOF масс-спектрометрии

Д. А. Попов, Е. А. Надточей, Т. Ю. Вострикова, С. Т. Овсеенко

ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Россия

**Цель.** Оценить результаты идентификации положительных гемокультур при применении метода MALDI-TOF масс-спектрометрии (MS).

**Материал и методы.** На первом этапе с помощью метода MALDI-TOF MS проведено исследование *in vitro*, в которое было включено 11 различных видов микроорганизмов: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*. В процессе субкультивирования ежедневно осуществлялись попытки их идентификации с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра (Vitek MS, bioMérieux, Франция) до получения корректных результатов идентификации. На втором (клиническом) этапе работы исследовано 360 положительных гемокультур от 187 кардиохирургических пациентов. В параллели с рутинным способом (суточное субкультивирование с последующим MALDI-TOF MS-анализом) изучены характеристики двух ускоренных методов идентификации гемокультур. Методом сокращенного субкультивирования исследовано 300 образцов (284 монокультуры). Методом прямой идентификации возбудителей бактериемии (минуя этап высева на плотные питательные среды) исследовано 211 образцов (201 монокультура). В 151 случае идентификация проводилась параллельно двумя ускоренными методами.

**Результаты.** На первом этапе время субкультивирования культур на кровяном агаре, требовавшееся для их полной идентификации, не превышало 5 ч для флаконов с полимерными гранулами и 6 ч при использовании флаконов с активным углем. Соответствующие показатели для дрожжеподобных грибов составляли от

10 до 22 ч. После сокращенного субкультивирования на кровяном агаре монокомпонентных гемокультур методом MALDI-TOF MS было идентифицировано 259 из 284 (91,2%) микроорганизмов. Доля успешной идентификации грамотрицательных бактерий, грамположительных кокков и грибов рода *Candida* составляла 97, 94,5 и 43,5% соответственно, а среднее время их субкультивирования — 2,7, 3,9 и 5 ч соответственно. Результаты успешной идентификации микроорганизмов во всех случаях совпадали с результатами, полученными рутинным методом. При прямой идентификации монокомпонентных гемокультур корректно идентифицировано до вида 163 из 201 (81,1%) образца, при этом доля случаев успешной идентификации грамотрицательных, грамположительных микроорганизмов и грибов составила 94, 75,2 и 40% соответственно. Длительность масс-спектрометрического анализа, включая пробоподготовку, составила не более 1 ч. Суммарная доля случаев успешной идентификации монокомпонентных гемокультур ( $n=141$ ) при сочетанном применении обоих ускоренных методов достигла 95%, в том числе 98,4% — для грамотрицательных бактерий, 96% — для грамположительных кокков и 50% — для грибов рода *Candida* (индекс каппы Козна при сравнении с рутинным методом — 0,92).

**Вывод.** Применение методов ускоренной идентификации положительных гемокультур с помощью MALDI-TOF MS позволяет быстро и надежно идентифицировать возбудителей бактериемии, что с использованием данных локального микробиологического мониторинга может способствовать раннему началу адекватной антибиотикотерапии.

**Ключевые слова:** бактериемия, гемокультура, быстрая идентификация, MALDI-TOF масс-спектрометрия.

Контактный адрес:  
Дмитрий Александрович Попов  
Эл. почта: da\_popov@inbox.ru

## Accelerated Techniques of Pathogen Identification from Positive Blood Cultures by MALDI-TOF Mass Spectrometry

D.A. Popov, E.A. Nadtochey, T.Yu. Vostrikova, S.T. Ovseenko

A.N. Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

**Objective.** To assess pathogen identification from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry.

**Material and Methods.** At the first stage, an in vitro study using MALDI-TOF MS and including 11 pathogen species (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*) was performed. This study involved hourly attempts to identify the above listed pathogens by MALDI-TOF MS (Vitek MS, bioMerieux) during incubation until their correct identification. At the second (clinical) stage, a total of 360 positive blood cultures obtained from 187 patients undergoing cardiac surgery were tested. Two accelerated techniques of pathogen identification from the positive blood cultures were studied concurrently with the routine method (MALDI-TOF MS assay following 24-hour incubation). A total of 300 blood samples (284 single cultures) were tested by the short-term incubation technique. A total of 211 blood samples (201 single cultures) were tested by the direct identification technique (with no culture on a solid medium). A total of 151 blood samples were tested by these two identification techniques concurrently.

**Results.** At the first stage, the incubation time (on blood agar) required to complete identification was no more than 5 hours and 6 hours for vials with polymer granules and vials with active charcoal, respectively. The incubation times for *Candida* spp. were 10 to 22 hours. The

identification by MALDI-TOF MS following short-term incubation on blood agar was successful for 259/284 (91.2%) of pathogens, including 97%, 94.5%, and 43.5% of Gram-negative rods, Gram-positive cocci, and *Candida* spp., respectively; the mean incubation times were 2.7, 3.9 and 5 hours, respectively. The results of successful pathogen identification coincided with those obtained by the routine method in all cases. The identification to species level by the direct MALDI-TOF MS assay was correct for 163/201 (81.1%) of pathogens, including 94%, 75.2%, and 40% of Gram-negative rods, Gram-positive cocci, and *Candida* spp., respectively. A turnaround time for this technique, including sample preparation, was no more than 1 hour. The concurrent use of the both accelerated techniques provided the overall successful identification in 95% of cases, including 98.4%, 96%, and 50% of Gram-negative rods, Gram-positive cocci, and *Candida* spp., respectively (Cohen's kappa for comparison with the routine method was 0.92).

**Conclusion.** The accelerated techniques of pathogen identification from blood cultures by MALDI-TOF MS provide rapid and reliable identification of microorganisms causing bacteremia, which in combination with local microbiological monitoring data may contribute to early appropriate antimicrobial therapy.

**Key words:** bacteremia, blood culture, rapid identification, MALDI-TOF mass spectrometry.

## Введение

Несмотря на прогресс современной медицины, показатели заболеваемости и смертности от инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, остаются на высоком уровне [1]. Наиболее часто с проблемой инфекционных осложнений сталкиваются в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), в которых обычно сосредоточены наиболее тяжелые пациенты стационара, нуждающиеся в различных инвазивных методах лечения. Так, по данным масштабных многоцентровых исследований, до половины больных, находящихся в ОРИТ, могут иметь инфекционные осложнения [2, 3]. Быстрая диагностика инфекции и определение ее этиологии являются важными факторами, определяющими положительный исход заболевания: известно, что каждый час задержки назначения эффективной антибиотикотерапии при септическом шоке повышает риск летальности на 7,6% [4].

Одним из осложнений, а в части случаев основным, при ряде инфекций является бактериемия, то есть циркуляция живых микроорганизмов в кровяном русле, наблюдающаяся у 9–15% пациентов ОРИТ [2, 3]. На протяжении многих лет «золотым стандартом» диагностики бактериемии остается традиционный бактериологический метод. С введением в практику микробиологических лабораторий автоматических инкубаторов гемокультур и отказом от использования локально приготавливаемых питательных сред удалось значимо повысить качество выполнения данного исследования за счет увеличения чувствительности и специфичности метода, сокращения времени, необходимого для детекции роста патогенов, а также снижения трудоемкости процесса. Современные среды для гемокультуривирования обладают повышенными ростовыми свойствами, а также могут содержать специальные сорбенты, повышающие чувствительность исследо-

вания у пациентов, получающих антибиотики. При этом уже в первые сутки инкубации может быть выявлено порядка 95% положительных гемокультур [5].

После получения роста пробы крови обычно производится высеv первичной гемокультуры на плотные питательные среды для субкультивирования с последующей идентификацией полученных чистых культур (чаще всего по биохимическим признакам, с применением ручных или аппаратных тест-систем). При этом суммарные затраты времени на весь цикл исследования от момента взятия пробы крови до выдачи окончательного результата в среднем составляют порядка 3 суток.

С целью сокращения времени диагностики бактериемии все большее распространение получают некультуральные методы, основанные на принципах мультиплексного ПЦР-анализа, технологии микрочипов и др. Наряду со значимой экономией времени, данные методы характеризуются конечным набором идентифицируемых патогенов (определяется набором специфических праймеров или антител) и достаточно высокой стоимостью [6]. В связи с тем, что ПЦР может быть ингибирована гепарином, существуют определенные ограничения по применению методов на ее основе у больных, получающих данный препарат, рутинно используемый в интенсивной терапии [7].

Среди новых решений, позволяющих осуществлять ускоренную идентификацию возбудителей бактериемии и определять их чувствительность к антибиотикам, следует отметить систему Accelerate PHENO™ (Accelerate Diagnostics, Inc. США), которая основана на принципе мультиплексной флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и оригинальном методе анализа микроскопических изображений, которые позволяют отслеживать гибель микробных клеток в присутствии антибиотиков в режиме реального времени. Система анализирует первичную гемокультуру (материал из «проросшего» флакона). Очистка образца и все последующие этапы анализа происходят автоматически на борту прибора. Результат идентификации возбудителя доступен в среднем уже через 1–1,5 ч, еще через 5 ч можно получить данные антибиотикограммы. Нижний предел детекции составляет  $10^4$  КОЕ/мл. В настоящее время исследуются возможности применения метода для анализа, помимо первичных гемокультур, других субстратов (отделяемого дыхательных путей, спинномозговой жидкости, мочи, экссудата, тканевых биоптатов, а также цельной крови) [8]. Еще одной технологией «быстрой микробиологии», которая в перспективе может получить распространение в качестве метода

диагностики бактериемии, является магнитно-резонансное исследование цельной крови (без предварительного культивирования) при добавлении в образец парамагнитных частиц, аффинных в отношении тех или иных микроорганизмов-возбудителей (T2 Biosystems, США). В настоящее время разработана панель для детекции наиболее распространенных представителей дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* и *C. glabrata*), позволяющая с высокой чувствительностью и специфичностью (96,4 и 99,4% соответственно) выявить фунгемию в течение 3–5 ч от момента начала исследования. Нижний предел детекции составляет всего 1 КОЕ/мл [9]. Ведутся разработки тест-систем для выявления других возбудителей.

В течение ряда лет исследовались возможности хроматографии и масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов. Ранее нами был предложен способ определения рода возбудителей бактериемии при анализе содержимого «положительного» флакона с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии. Данная методика путем качественного и количественного определения жирных кислот и альдегидов, а также их производных, входящих в состав клеточных стенок бактерий, позволяет определять родовую принадлежность микроорганизма-возбудителя в течение около 3 ч [10].

В настоящее время для ускорения идентификации возбудителей бактериемии перспективным представляется использование возможностей матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии — MALDI-TOF MS. Данный метод, основанный на дезинтеграции микробных клеток до белковых фрагментов с последующим сравнением полученных ионных спектров с эталонными, позволяет сократить время идентификации широкого спектра бактерий и грибов до нескольких минут при высокой достоверности результата. Применительно к рассматриваемой проблеме это означает сокращение времени идентификации бактериемии в среднем с 3 до 2 сут. Дальнейшее ускорение исследования возможно путем сокращения времени инкубации высева первичной гемокультуры, а также при применении специальных способов пробоподготовки, позволяющих проводить прямую идентификацию первичной гемокультуры, минуя этап субкультивирования.

**Целью** настоящей работы была оценка результатов ускоренных способов идентификации положительных гемокультур с применением метода MALDI-TOF MS в сравнении с рутинным методом.

## Материал и методы

Исследование проведено в два этапа. На экспериментальном этапе для определения качественных и временных характеристик роста гемокультур различной этиологии и возможности их последующей ускоренной идентификации с помощью метода MALDI-TOF MS проведено модельное исследование *in vitro*, в которое было включено 11 различных видов микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки ([CoNS] *S. epidermidis* —  $n=5$ , *S. haemolyticus* —  $n=5$ ), *E. faecalis*, *E. faecium*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis* (по 10 штаммов каждого вида —  $n=100$ ). Суспензию микроорганизмов в концентрации, моделирующей таковую при бактериемии (10 КОЕ/мл), в 10 мл отбракованной по срокам годности стерильной донорской крови асептически вносили в парные флаконы для гемокультивирования, содержащие обогащенную питательную среду и различные сорбенты для антибиотиков: активный уголь (флаконы BacT/ALERT FA) и полимерные гранулы (флаконы BacT/ALERT FA Plus), после чего инкубировали их в аппарате BacT/ALERT 3D120 (bioMérieux, Франция). При этом в автоматическом режиме происходил мониторинг состояния индикатора, находящегося в дне флакона и реагирующего на нарастание концентрации углекислого газа, синтезируемого микроорганизмами в процессе своего роста. При изменении цвета индикатора инкубатор подавал сигнал, после чего производили высев культур на подогретый до температуры 37 °С кровяной агар. В процессе последующего субкультивирования ежедневно осуществлялись попытки идентификации культур с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра до получения корректных результатов.

На клиническом этапе работы выполнено исследование 360 положительных гемокультур от 187 кардиохирургических пациентов (162 взрослых и 25 детей) в возрасте от 1 недели до 82 лет. Работа выполнялась с использованием образцов, направляемых в лабораторию по назначениям лечащих врачей, и не предполагала дополнительных интервенционных вмешательств. Показаниями к исследованию крови на стерильность было наличие верифицированного очага инфекции или подозрение на него в сочетании с соответствующими клинико-лабораторными признаками системного воспаления. Образцы крови, взятые в асептических условиях из периферической вены, инкубировали по вышеописанной методике. После получения сигнала о наличии роста гемокультуры производилось

извлечение флаконов из инкубатора с окраской по Граму и микроскопическим исследованием их содержимого, высевом гемокультуры на плотные питательные среды и идентификацией суточных культур микроорганизмов с помощью MALDI-TOF MS (рутинный метод).

Идентификация возбудителей бактериемии после сокращенного субкультивирования первичной гемокультуры осуществлялась в 300 образцах. Параллельно с описанным выше рутинным методом проводили высев соответствующих положительных гемокультур на подогретый до температуры 37 °С кровяной агар. В процессе последующей инкубации при выявлении визуально определяемого роста выполняли попытки идентификации микроорганизмов с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра. Максимальная длительность субкультивирования с учетом режима работы лаборатории была ограничена 6 ч.

Прямая (без субкультивирования) идентификация возбудителей бактериемии осуществлена в 211 образцах. Наряду с вышеописанным рутинным методом идентификации гемокультур выполняли пробоподготовку образцов из «положительных» флаконов, которая включала в себя предварительный этап осаждения крупнодисперсных примесей путем низкоскоростного центрифугирования (400 g, 0,5 мин), не приводящего к седиментации микроорганизмов. Далее 1 мл супернатанта помещали в микропробирку и добавляли 200 мкл 5% водного раствора сапонина для лизиса форменных элементов крови. Смесь инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре, лизат центрифугировали (12 000 g, 1 мин), после чего удаляли супернатант. Осадок промывали 1 мл фосфатно-солевого буфера, затем смесь повторно центрифугировали (12 000 g, 1 мин) и удаляли супернатант. Далее к осадку добавляли сначала 300 мкл бидистиллированной воды для полного извлечения продуктов лизиса и после перемешивания — 900 мкл этанола, центрифугировали (12 000 g, 2 мин), удаляли супернатант, осадок подсушивали при комнатной температуре в течение нескольких минут, после чего к нему последовательно добавляли сначала 20 мкл муравьиной кислоты, затем равное количество ацетонитрила. Полученную суспензию перемешивали на вортексе в течение 10 с, после чего центрифугировали (12 000 g, 2 мин); 1 мкл экстракта подвергали масс-спектрометрическому анализу.

В работе использован MALDI-TOF масс-спектрометр Vitek MS (bioMérieux, Франция). Масс-спектры регистрировали в автоматическом режиме в диапазоне масс 2–20 kDa. Исследуемые образ-

цы (культуру микроорганизма или ее экстракт) в двух повторностях наносили на одноразовый слайд, добавляли раствор матрикса ( $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричная кислота) и высушивали при комнатной температуре. Далее заполненный слайд помещали в вакуумную камеру прибора, где под воздействием лазерного излучения образцы последовательно подвергались мягкой ионизации. Образующиеся при этом заряженные частицы двигались в электрическом поле к аноду-детектору со скоростью, пропорциональной их массе, формируя соответствующий масс-спектр. При сканировании каждого образца получали до 100 спектров. Идентификация микроорганизмов осуществлялась путем автоматического сравнения полученных масс-спектров с референсной базой данных, содержащей информацию о более чем 750 клинически значимых видах микроорганизмов.

Данные представлены в виде абсолютных значений и долей, а также среднего значения, минимума и максимума. Степень согласованности результатов, полученных с применением исследованных методик и традиционным методом, оценивалась с использованием индекса капшы Коэна.

## Результаты

### Этап I – модельный эксперимент

Среднее время с момента помещения инокулированных флаконов в инкубатор до подачи сигнала о наличии роста в модельном эксперименте составило 11,2 ч (от 8,2 до 16 ч) для грамотрицательных бактерий, 13,8 ч (от 9,6 до 25,4 ч) для грамположительных бактерий и 28,7 ч (от 16,8 до 36 ч) для дрожжеподобных грибов (табл. 1). Индикация роста микроорганизмов во флаконах, в которых в качестве

сорбента использовались полимерные гранулы, происходила раньше, чем во флаконах, содержащих активный уголь. При этом временная разница в среднем составила 1,6 ч для грамотрицательных, 2,1 ч – для грамположительных микроорганизмов и 0,55 ч – для грибов рода *Candida*.

Время субкультивирования тестируемых бактериальных культур на кровяном агаре, потребовавшееся для их полной идентификации с помощью метода MALDI-TOF MS, не превышало 5 ч для флаконов с полимерными гранулами и 6 ч при использовании флаконов с активным углем. Соответствующие показатели для дрожжеподобных грибов были существенно выше и составили 10 и 11 ч для *C. parapsilosis* и 21 и 22 ч для *C. albicans* соответственно. Данные представлены на рис. 1, а-д. Следует отметить, что в течение первых 20 ч субкультивирования в 2 из 10 (20%) случаев *C. albicans* были ошибочно идентифицированы как *Geotrichum fermentans*.

### Этап II – исследование клинических образцов

Среднее время индикации роста микроорганизмов у больных с бактериемией составило 19 ч (от 4 до 96 ч). При этом сигнал о наличии роста грамотрицательных микроорганизмов подавался в среднем через 13 ч (от 4 до 68 ч), грамположительных – через 19 ч (от 6 до 86 ч), дрожжеподобных грибов – через 44 ч (от 22 до 96 ч). Суммарно в первые сутки инкубации был выявлен рост 87% положительных гемокультур (рис. 2).

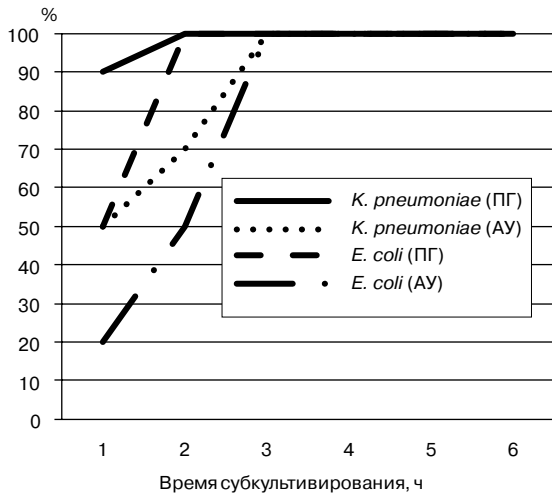
Метод ускоренной идентификации гемокультур после их сокращенного субкультивирования. По данным микроскопического исследования содержимого «проросших» флаконов, 284 из 300 образцов были

Таблица 1. Время инкубации экспериментальных гемокультур до момента детекции роста микроорганизмов (по 10 штаммов каждого вида, n=100)

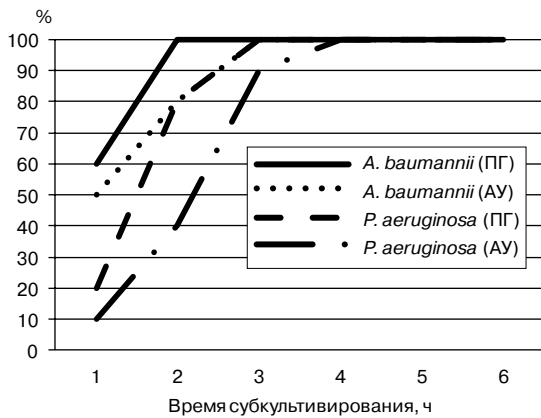
Микроорганизмы	Флаконы с сорбентом в виде активного угля	Флаконы с сорбентом в виде полимерных гранул
	время детекции роста, ч [М (min-max)]	
Грамотрицательные бактерии	<i>P. aeruginosa</i>	14 (12,5–15,1)
	<i>E. coli</i>	12,5 (11–14,2)
	<i>A. baumannii</i>	11,1 (9,6–16)
	<i>K. pneumoniae</i>	10 (8,5–11,3)
Грамположительные кокки	CoNS	19,8 (12–25,4)
	<i>E. faecium</i>	15,3 (11,5–22,3)
	<i>S. aureus</i>	12,2 (11–14)
	<i>E. faecalis</i>	12 (10,8–13,2)
Грибы	<i>C. albicans</i>	30,8 (20,8–36)
	<i>C. parapsilosis</i>	27,8 (16,8–35,5)

монокомпонентными. После сокращенной инкубации на кровяном агаре методом MALDI-TOF MS было идентифицировано 259 из 284 (91,2%) образцов. Доля успешной идентификации грам-отрицательных и грамположительных бактерий, а также дрожжеподобных грибов при максимальной длительности инкубации до 6 ч составила 97, 94,5 и 43,5% соответственно (табл. 2). Среднее время субкультивирования грамотрицательных, грамположительных бактерий и грибов рода *Candida* составило 2,7 ч, 3,9 ч и 5 ч соответственно. Полученные результаты полностью совпали с результатами рутинного метода, которые становились доступными на следующий рабочий день.

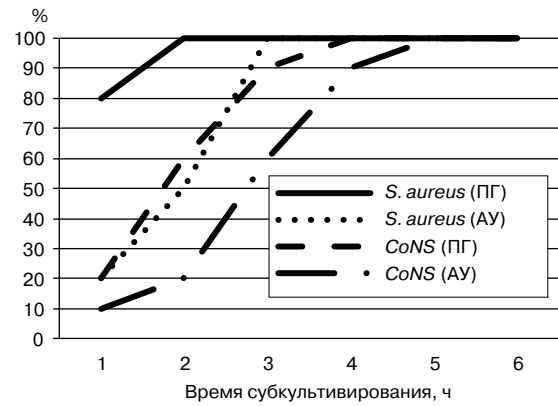
Не удалось идентифицировать 25 (8,8%) образцов, которые рутинным методом были опреде-



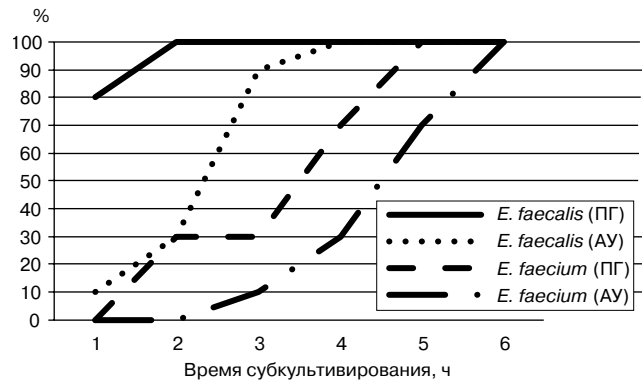
**Рис. 1, а.** Частота успешной идентификации энтеробактерий с помощью MALDI-TOF MS в зависимости от длительности субкультивирования экспериментальных гемокультур. Здесь и на рис. 1, б–д: ПГ — флаконы с сорбентом в виде полимерных гранул; АУ — флаконы с сорбентом в виде активного угля.



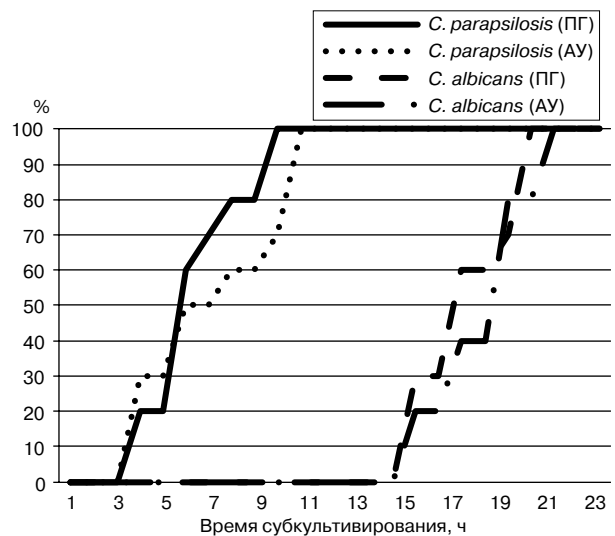
**Рис. 1, б.** Частота успешной идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий с помощью MALDI-TOF MS в зависимости от длительности субкультивирования экспериментальных гемокультур.



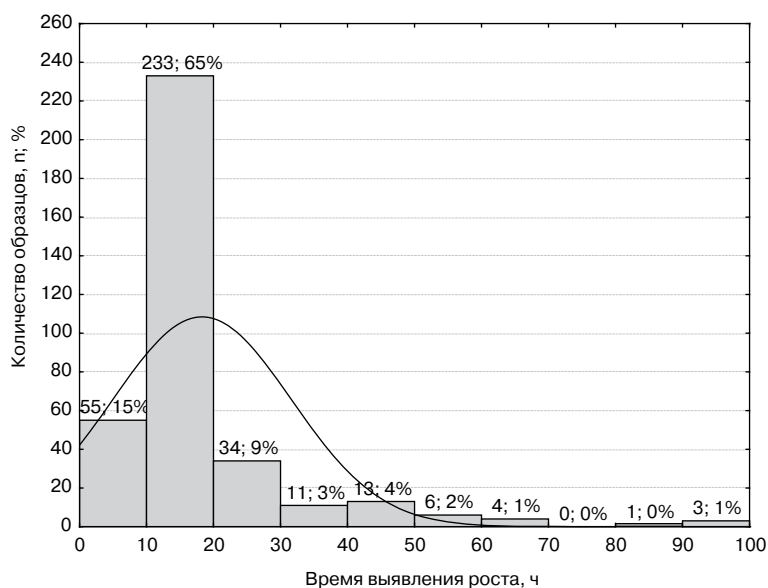
**Рис. 1, в.** Частота успешной идентификации стафилококков с помощью MALDI-TOF MS в зависимости от длительности субкультивирования экспериментальных гемокультур.



**Рис. 1, г.** Частота успешной идентификации энтерококков с помощью MALDI-TOF MS в зависимости от длительности субкультивирования экспериментальных гемокультур.



**Рис. 1, д.** Частота успешной идентификации грибов рода *Candida* с помощью MALDI-TOF MS в зависимости от длительности субкультивирования экспериментальных гемокультур.



**Рис. 2.** Частота положительных результатов в зависимости от времени инкубации гемокультур,  $n=360$ .

лены как дрожжеподобные грибы рода *Candida* ( $n=13$ ), *S. epidermidis* ( $n=6$ ), *S. marcescens* ( $n=2$ ), *S. aureus* ( $n=1$ ), *S. haemolyticus* ( $n=1$ ), *S. hominis* ( $n=1$ ) и *P. mirabilis* ( $n=1$ ).

Среди включенных в исследование образцов было 16 смешанных культур (ассоциации из двух микроорганизмов), которые также были подвергнуты масс-спектрометрическому анализу. При этом в 13 (81%) случаях до вида был определен один, еще в 1 случае — оба микроорганизма из ассоциации (за счет постановки теста в двух повторностях). Результат идентификации отсутствовал в 2 случаях (табл. 3).

*Ускоренная идентификация гемокультур с помощью метода прямой MALDI-TOF масс-спектрометрии.* При прямой идентификации монокомпонентных гемокультур (201 из 211) корректно идентифицировано до вида 163 (81,1%) образца, при этом доля успешных идентификаций грамотрицательных бактерий, грамположительных кокков и грибов была 94, 75,2 и 40% соответственно (табл. 4). В 18 из 201 (9%) образца результат идентификации отсутствовал. Еще в 20 из 201 (10%) случая имело место расхождение полученных результатов с рутинным методом, причем в группе коагулазонегативных стафилококков в половине случаев наблюдалось несоответствие на уровне вида, не имевшее клинического значения (табл. 5).

Среди включенных в исследование образцов было 10 смешанных культур (ассоциации из двух микроорганизмов). При их анализе методом MALDI-TOF MS в 7 (70%) случаях был определен

до вида один микроорганизм из ассоциации, в 2 случаях имела место корректная идентификация обоих микроорганизмов (за счет постановки теста в двух повторностях); в одной пробе результат получен не был (см. табл. 3). Временные затраты на проведение масс-спектрометрического анализа, включая пробоподготовку, составляли не более 1 ч.

В 151 случае идентификацию проводили одновременно двумя ускоренными методами с применением MALDI-TOF MS. При этом в монокомпонентных гемокультурах ( $n=141$ ) суммарная доля успешных идентификаций достигла 134 из 141 (95%) — 61 из 62 (98,4%) для грамотрицательных бактерий, 70 из 73 (96%) для грамположительных кокков и 3 из 6 (50%) для дрожжеподобных грибов. При сравнении результатов сочетанного применения обеих методик с рутинным методом индекс капши Коэна составил 0,92,

что свидетельствует о высокой степени их согласованности.

## Обсуждение

Быстрое получение результатов микробиологического обследования больных является важным условием повышения эффективности лечения и улучшения его результатов [4]. Внедрение метода MALDI-TOF MS в клиническую практику явилось, без преувеличения, настоящим прорывом в направлении ускорения этиологической диагностики бактериальных и грибковых инфекций [5,11–13].

Объем биомассы микроорганизмов, необходимый для исследования с помощью метода MALDI-TOF MS, весьма невелик. Это в ряде случаев дает возможность идентификации «молодых» культур. Такой подход не требует специальной пробоподготовки и легко реализуем на практике. Данные литературы свидетельствуют о его высокой эффективности: так, в работе Е. А. Idelevich с соавт. показано, что среднее время субкультивирования с момента посева первичной гемокультуры на подогретый кровяной агар до успешной идентификации с помощью MALDI-TOF MS составило 2 ч для грамотрицательных бактерий и 5,9 ч для грамположительных кокков. Всего в течение первых 6 ч субкультивирования было корректно идентифицировано 64,5% образцов (97,6% грамотрицательных бактерий и 64% грамположительных кокков) [14]. В исследовании R. Kohlmann с соавт. доля успешной идентификации с помощью MALDI-TOF MS положительных культур ( $n=325$ ) после их субкультивирования



Таблица 2. Результаты идентификации гемокультур методом MALDI-TOF MS после сокращенного субкультивирования,  $n=284$ 

Микроорганизмы	$n$	Успешная идентификация, $n$ (%)	Время субкультивирования, ч [М (min-max)]
<b>Грамположительные</b>	163	154 (94,5)	3,9 (3–6)
Стафилококки	118	109 (92,4)	3,9 (3–6)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	56	51	4 (3–6)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	32	30	4 (3–6)
<i>Staphylococcus hominis</i>	17	16	4 (3–6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12	3,2 (3–4)
Энтерококки	32	32 (100)	3,7 (3–4,5)
<i>Enterococcus faecium</i>	16	16	3,8 (3–4,5)
<i>Enterococcus faecalis</i>	16	16	3,6 (3–4,5)
Прочие грамположительные	13	13	4 (3–6)
<b>Грамотрицательные</b>	98	95 (97)	2,7 (1,5–5,5)
Энтеробактерии	65	62 (95,4)	2,5 (1,5–5,5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40	40	2,1 (1,5–3)
<i>Serratia marcescens</i>	13	11	3,7 (2–5,5)
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	6	2,7 (2–4)
<i>Escherichia coli</i>	4	4	2,5 (1,5–3)
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	4
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	6
Неферментирующие	33	33 (100)	2,9 (1,5–5)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	15	2,6 (1,5–3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10	3 (2–5)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7	7	3,4 (2–5)
<i>Delftia acidovorans</i>	1	1	4
<b>Грибы</b>	23	10 (43,5)	5 (4–6)
<i>Candida parapsilosis</i>	18	9	5,2 (4–6)
<i>Candida albicans</i>	5	1	5,4 (5–6)
<b>ВСЕГО</b>	284	259 (91,2)	3,6 (1,5–6)

в течение 4 ч на шоколадном агаре составила 69,5% (97,6% для грамотрицательных бактерий и 64,8% для грамположительных кокков). При исследовании полимикробных культур ( $n=52$ ) в 72,7% случаев был успешно идентифицирован один микроорганизм из ассоциации. Грамположительные палочки удалось идентифицировать только в 1 из 25 образцов; грибы не были определены ни в одном из 4 случаев, что является ожидаемым при столь коротком времени инкубации [15].

По результатам проведенного нами модельного эксперимента установлено, что среднее время субкультивирования, достаточное для успешной идентификации гемокультур методом MALDI-TOF MS, в целом меньше для грамотрицательных бактерий (2,5 ч), чем для грамположительных кокков (3,5 ч)

и особенно таких медленно растущих микроорганизмов, как грибы рода *Candida* (>10 ч), что полностью согласуется с приведенными выше данными литературы.

Принцип метода MALDI-TOF MS применительно к идентификации микроорганизмов (детектирование спектра константных белков «домашнего хозяйства») позволяет использовать для анализа не только чистые культуры бактерий и грибов, но и специальным образом полученные экстракты из содержащих микроорганизмы сред (в частности первичных гемокультур). При этом возможно исключить из цепочки исследования биоматериала ранее обязательный этап получения чистых культур микроорганизмов в виде отдельных колоний на плотных питательных средах, что приводит к суще-

Таблица 3. Результаты идентификации микробных ассоциаций в гемокультурах двумя ускоренными методами с помощью MALDI-TOF MS

Рутинный метод	Идентификация после сокращенного субкультивирования (n=16)	Прямая идентификация (n=10)
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecalis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecalis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
<i>S. marcescens</i> + <i>E. faecalis</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. marcescens</i>
<i>E. cloacae</i> + <i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>
<i>E. faecium</i> + <i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
<i>K. pneumoniae</i> + <i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecalis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecalis</i>
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecium</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecium</i>
<i>S. marcescens</i> + <i>E. faecium</i>	<i>S. marcescens</i>	Нет идентификации
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	Не исследовалось
<i>E. faecium</i> + <i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	Не исследовалось
<i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	Не исследовалось
<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecium</i>	<i>A. baumannii</i> + <i>E. faecium</i>	Не исследовалось
<i>A. baumannii</i> + <i>S. haemolyticus</i>	Нет идентификации	Не исследовалось
<i>A. baumannii</i> + <i>S. epidermidis</i>	Нет идентификации	Не исследовалось

ственной экономии времени. Непосредственный анализ содержимого флаконов с положительной гемокультурой не представляется возможным из-за наличия различных примесей, с целью удаления которых необходимо проведение соответствующей пробоподготовки, обычно включающей в себя несколько последовательных этапов (лизис форменных элементов крови, центрифугирование, отмывка осадка микроорганизмов, экстракция белков) [5, 16, 17]. Описаны также методы, позволяющие выделить микроорганизмы с помощью фильтрации, центрифугирования первичной гемокультуры в пробирках, содержащих гель для отделения примесей, и др. [18]. Сложившаяся практика показывает, что в лабораториях, применяющих метод прямого MALDI-TOF MS-анализа положительных гемокультур, в процессе работы обычно производится модификация взятой на начальном этапе за основу той или иной схемы пробоподготовки, что позволяет адаптировать метод к местным условиям и достичь наилучших результатов. В настоящее время также доступны коммерческие наборы реагентов, которые обеспечивают проведение пробоподготовки в оптимальных условиях.

Согласно нашим ранее опубликованным данным, доля успешной идентификации положительных гемокультур методом прямого MALDI-TOF MS-анализа составила 76,1%, причем грамтри-

цательные бактерии идентифицировались корректно чаще, чем грамположительные кокки (85,4 и 69,1% соответственно,  $p=0,01$ ). В случае грибов был идентифицирован один образец из двух [5]. Накопленный опыт позволил нам несколько улучшить эти показатели: по данным настоящего исследования, указанным методом было корректно идентифицировано 81,1% положительных гемокультур (94% грамотрицательных бактерий, 75,2% грамположительных кокков и 40% грибов).

Прямой (без субкультивирования) MALDI-TOF MS-анализ положительных гемокультур по сравнению с методом их сокращенной инкубации в целом характеризуется несколько меньшей частотой успешных идентификаций, а также требует специального обучения лаборантов и дополнительных (пусть небольших) затрат на химические реагенты и расходные материалы [11]. При этом он может дать определенный выигрыш во времени, что особенно актуально в случаях фунгемий. Для улучшения результатов идентификации микроорганизмов данным методом необходима дальнейшая оптимизация способов пробоподготовки.

Метод сокращенного субкультивирования первичных гемокультур занимает несколько больше времени по сравнению с прямым методом, однако дает более высокий процент успешной идентификации бактериальных культур. В то же время, при-

Таблица 4. Результаты прямой идентификации гемокультур с помощью метода MALDI-TOF MS, n=201

Микроорганизмы	n	Успешная прямая идентификация, n (%)
<b>Грамположительные</b>	109	82 (75,2)
Стафилококки	73	52 (71,2)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	34	24
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	21	15
<i>Staphylococcus hominis</i>	12	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	1
Энтерококки	21	19 (90,5)
<i>Enterococcus faecalis</i>	11	11
<i>Enterococcus faecium</i>	10	8
Прочие грамположительные	15	11 (73,3)
<b>Грамотрицательные</b>	82	77 (94)
Энтеробактерии	51	50 (98)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28	28
<i>Serratia marcescens</i>	12	12
<i>Escherichia coli</i>	5	5
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	4
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1
Неферментирующие	31	27 (87)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	13
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	5
<i>Delftia acidovorans</i>	1	1
<b>Грибы</b>	10	4 (40)
<i>Candida parapsilosis</i>	6	2
<i>Candida albicans</i>	3	2
<i>Candida glabrata</i>	1	0
<b>ИТОГО</b>	201	163 (81,1)

менение данной методики ограничено для медленно растущих микроорганизмов (например, грибов рода *Candida*), для идентификации которых лучше воспользоваться методом прямой идентификации с помощью MALDI-TOF MS.

Совместное использование обоих экспресс-методов позволяет дополнительно повысить долю успешного определения возбудителей бактериемии. Следует отметить, что это не приводит к значимому росту расходов лаборатории, так как идентификация микроорганизмов с помощью MALDI-TOF MS по сравнению с культуральным методом является практически «бесплатной».

Штатное программное обеспечение MALDI-TOF MS рассчитано на идентификацию чистых

культур микроорганизмов. Тем не менее, в нашем исследовании в значительном количестве случаев был корректно определен один микроорганизм из ассоциации (81% — после сокращенного субкультивирования и 70% — при использовании прямого метода). В одном случае после краткосрочного субкультивирования и в двух при прямой идентификации были идентифицированы оба микроорганизма за счет повторностей. С целью полноценной экспресс-диагностики бактериемий, вызванных ассоциацией микроорганизмов, перспективным может оказаться рассев первичной гемокультуры на селективные и/или хромогенные питательные среды с последующей их сокращенной инкубацией и идентификацией с помощью MALDI-TOF MS.

Таблица 5. Случаи расхождения результатов прямой идентификации гемокультур с помощью MALDI-TOF MS в сравнении с рутинным методом, n=20

№ п/п	Прямая идентификация	Рутинный метод
1	<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
3	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
4	<i>Brevi bacillus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
5	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>
6	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
7	<i>Candida lusitanae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
8	<i>Cryptococcus terreus</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
9	<i>Debaryomyces etchellsii</i>	<i>Candida albicans</i>
10	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
11	<i>Kytococcus sedentarius</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
12	<i>Listeria grayi</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
13	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
15	<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
16	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
17	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
18	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
19	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
20	<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>

Идентифицированные после сокращенной инкубации монокультуры микроорганизмов при наличии достаточного количества биомассы могут быть использованы для определения их антибиотикограммы, например с помощью автоматических микробиологических анализаторов. Имеющиеся в литературе данные указывают на высокую эффективность такого подхода [19].

Таким образом, применение методов ускоренной идентификации положительных гемокультур с помощью MALDI-TOF MS позволяет быстро и достаточно надежно идентифицировать возбудителей бактериемий. Ранняя идентификация этиологически значимых микроорганизмов при использо-

вании результатов локального микробиологического мониторинга обеспечивает возможность назначения адекватной антибиотикотерапии в кратчайшие сроки, что может способствовать улучшению результатов лечения больных как в клиническом, так и в экономическом аспектах [20]. В связи с этим, рассмотренные ускоренные методы идентификации положительных гемокультур как альтернативно, так и в параллели целесообразно включать в рутинную работу современных микробиологических лабораторий.

**Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МД-6572.2016.7.**

#### Литература

- Magill S.S., Edwards J.R., Bamberg W., et al. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. *New Engl J Med* 2014; 370:1198-208.
- Vincent J.L., Rello J., Marshall J. and EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302(21): 2323-9.
- Руднов В.А., Бельский Д.В., Дехнич А.В., исследовательская группа РИОРИТа. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 4:294-303.

4. Kumar A., Roberts D., Wood K.E., et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *J Crit Care Med* 2006; 34 (6):1589-96.
5. Попов Д.А., Овсенко С.Т., Вострикова Т.Ю. Экспресс-идентификация положительных гемокультур с помощью метода прямой MALDI-ToF масс-спектрометрии. *Анестезиология и реаниматология* 2015; 5:71-5.
6. Попов Д.А., Вострикова Т.Ю. Первый опыт применения метода ПЦР в режиме реального времени для диагностики бактериемии в послеоперационном периоде у кардиохирургических больных. *Клиническая лабораторная диагностика* 2011; 8:49-52.
7. Костюк С.А., Кулага О.К., Хворик Д.Ф. Новые аспекты клинического применения полимеразной цепной реакции. *Медицинские новости* 2006; 5:14-18.
8. Price C., Douglas I., Tuttle E., et al. Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing of bacteria in bloodstream infections using the Accelerate ID/AST technology. *ECCMID* 2015; EV0493.
9. Pfaller M.A., Wolk D.M., Lowery T.J. T2MR and T2Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future Microbiology* 2016; 11(1):103-17.
10. Попов Д.А., Овсенко С.Т., Осипов Г.А., Вострикова Т.Ю. Ускоренный способ идентификации возбудителей бактериемий с применением метода газовой хромато-масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика* 2013;5: 54-8.
11. Lagacé-Wiens P.R., Adam H.J., Karlowsky J.A., et al. Identification of blood culture isolates directly from positive blood cultures by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and a commercial extraction system: analysis of performance, cost, and turnaround time. *J Clin Microbiol* 2012; 50:3324-8.
12. Patel R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass-spectrometry in clinical microbiology. *J Clin Infect Dis* 2013; 57: 564-72.
13. Wieser A., Schneider L., Jung J., Schubert S. MALDI-ToF MS in microbiological diagnostics – identification of microorganisms and beyond (mini review). *J Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93:965-74.
14. Idelevich E.A., Schule I., Grunastel B., Wullenweber J., Peters G., Becker K. Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry subsequent to very short-term incubation on solid medium. *J Clin Microbiol Infect* 2014; 20(10):1001-6.
15. Kohlmann R., Hoffmann A., Geis G., Gatermann S. MALDI-TOF mass spectrometry following short incubation on a solid medium is a valuable tool for rapid pathogen identification from positive blood cultures. *Int J Med Microbiol* 2015; 305 (4-5):469-79.
16. Christner M., Rohde H., Wolters M., Sobottka I., Wegscheider K., Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *J Clin Microbiol* 2010; 48(5):1584-91.
17. Spanu T., Posteraro B., Fiori B., et al. Direct MALDI-TOF mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2012; 50(1):176-9.
18. Schmidt V., Jarosch A., März P., Sander C., Vacata V., Kalka-Moll W. Rapid identification of bacteria in positive blood culture by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 31(3):311-7.
19. Idelevich E.A., Grünastel B., Peters G., Becker K. Direct blood culturing on solid medium outperforms an automated continuously monitored broth-based blood culture system in terms of time to identification and susceptibility testing. *J New microbes and new infections* 2015; 10:19-24.
20. Попов Д.А., Вострикова Т.Ю. Микробиологический мониторинг в кардиохирургическом стационаре – опыт за 10 лет. *Бюллетень НИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания»* 2012; 5:68-76.

## Опыт применения метода ПЦР в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами

А. В. Ляпунов, М. А. Хаснатинов, Э. Л. Манзарова, Д. В. Егорова, Г. А. Данчинова  
ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

Проанализированы результаты исследований 842 обращений в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск) людей, пострадавших от иксодовых клещей в 2014 г. Диагностика на наличие РНК/ДНК возбудителей клещевого энцефалита, клещевого боррелиоза, моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека сывороток крови этих людей или клещей, снятых с пострадавших от их присасывания и укусов людей, проведена с помощью метода ПЦР

в реальном времени. Показана возможность применения этого метода для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, и проведения эффективной профилактики с целью снижения инфекционной заболеваемости.

**Ключевые слова:** таежный клещ, степной клещ, клещевой энцефалит, клещевой боррелиоз, моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека, диагностика, ПЦР.

### Real-Time PCR for the Diagnosis of Tick-Born Infections

A.V. Lyapunov, M.A. Hasnatinov, E.L. Manzarova, D.V. Egorova, G.A. Danchinova

Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

Overall 842 cases of admission due to tick bites in Irkutsk area during 2014 were analyzed. Detection of DNA/RNA of the tick-born encephalitis virus, Lyme borreliosis, monocytic ehrlichiosis and granulocytic anaplasmosis in the human serum and in the ticks was performed using real-time PCR. According to the study results we

have demonstrate that real-time PCR could be used as a routine tool for diagnostics of tick-born infections.

**Key words:** tick-born infections, tick-born encephalitis, Lyme borreliosis, monocytic ehrlichiosis, granulocytic anaplasmosis, diagnosis, PCR.

### Введение

Трансмиссивные инфекции, передающиеся человеку при укусах иксодовых клещей, являются серьезной угрозой для здоровья людей, проживающих в эндемичных районах. К настоящему времени в России обнаружено пять основных трансмиссив-

ных клещевых инфекций: *клещевой энцефалит* (КЭ), *болезнь Лайма* или *клещевой боррелиоз* (КБ), *клещевой риккетсиоз* (КР), *моноцитарный эрлихиоз человека* (МЭЧ) и *гранулоцитарный анаплазмоз человека* (ГАЧ) [1–6]. И в третьем тысячелетии проблема заболеваний, связанных с иксодовыми клещами, несмотря на пристальное внимание и предпринимаемые профилактические мероприятия (вакцинация, развитие сети центров диагностики инфекций, разработка современных репеллентов и противоядоч-

Контактный адрес:  
Галина Анатольевна Данчинова  
Эл. почта: dan-chin@yandex.ru

фалитных костюмов и пр.), не теряет актуальности. Это связано с несколькими причинами: расширением ареалов и удлинением сроков активности иксодовых клещей, выявлением и генетическим разнообразием новых «клещевых» патогенов, регистрацией новых заболеваний, увеличением частоты контактов населения с природными и антропоургическими очагами, ростом урбанизации, туризма и т. д.

В Восточной Сибири многие из этих причин зависят, в том числе, от глобального потепления и взаимосвязи между собой. Практически ежегодно увеличивается число людей, пострадавших от укусов иксодовыми клещами, и, как следствие, растут показатели заболеваемости КЭ и КБ. Так, в 2014 г. по данным Роспотребнадзора по Иркутской области, показатель обращаемости населения по поводу укусов клещей превысил среднероссийский более чем в 1,5 раза (всего обратилось в лечебные учреждения 11 780 жителей области), а уровень заболеваемости КЭ — в 3,2 раза [7]. Кроме того, отмечена циркуляция *Anaplasma phagocytophilum* и *Ehrlichia chaffeensis/E. muris* — возбудителей ГАЧ и МЭЧ соответственно. Интересны факты обнаружения иксодовых клещей в Республике Саха [8]: за 2008–2014 гг. в 13 районах было собрано 32 экз. клещей *Ixodes persulcatus* и 14 экз. *Haemaphysalis concinna*, хотя авторы признают, что правильность определения клещей не подтверждена акарологами.

Для естественных и преобразованных человеком биоценозов Предбайкалья установлено обитание шести видов иксодовых клещей: *I. persulcatus* P. Sch., 1930 (таежный клещ); *I. lividus* Koch, 1844; *I. trianguliceps* Bir., 1895; *Dermacentor nuttalli* Ol., 1929 (степной клещ); *D. silvarum* Ol., 1932 (лесостепной клещ) и *H. concinna* Koch, 1844 [9], которые являются переносчиками разнообразных заболеваний вирусной, бактериальной и риккетсиозной природы. Кроме того, установлены случаи обращений людей, пострадавших от присасывания клещей других видов, причём как на территории региона, так и в других регионах страны [10].

Экстренная диагностика спектра клещевых инфекций с последующей специфической профилактикой (при необходимости) имеет первостепен-

ное значение для снижения заболеваемости. В соответствии с СанПиН сегодня в РФ регистрируется пять инфекционных заболеваний, передающихся иксодовыми клещами [11].

### Материал и методы

В 2013 г. нами впервые апробирован метод *полимеразной цепной реакции* (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени», позволяющий идентифицировать возбудителей четырех инфекций в образцах проб от людей, пострадавших от укусов клещей. В 2014 г. этот метод был внедрен в практику Центра диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ. Всего было исследовано 448 сывороток крови людей и 394 экз. иксодовых клещей двух видов (табл. 1).

Для детекции нуклеиновых кислот *вируса КЭ* (ВКЭ), боррелий, анаплазм и эрлийих использовали коммерческую тест-систему «Amplisens® TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. muris* / *E. chaffeensis* — F1» («АмплиСенс», Россия). Проведение амплификации, анализ и учёт результатов проводили с помощью прибора «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия). Подробные характеристики каждого исследованного образца с географической привязкой и детализацией обстоятельств обращаемости населения содержатся в электронных базах данных, зарегистрированных нами в Федеральной службе по интеллектуальной собственности, ежегодно обновляемых и пополняемых [12, 13].

Для оценки валидности полученных результатов все материалы параллельно исследовали с помощью методов диагностики, рекомендованных для экстренной индивидуальной профилактики заболеваний КЭ и КБ, дающих высокую эффективность, это — *иммуноферментный анализ* (ИФА) и микроскопия [11, 14]. Для выявления антигена ВКЭ в сыворотках крови и клещах использовали тест-системы «ИФА ТС АГ ВКЭ» (НПО «Микроген», Томск) и ВектоВКЭ-антиген (ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск).

Пациентам, у которых был получен при первом обращении положительный результат на

Таблица 1. Материал и характеристика населения, пострадавшего от присасывания клещей

Материал для исследования	Количество проб	Число людей с полисами ДМС, n (%)	Число людей, вакцинированных от КЭ, n (%)	Средний возраст людей, лет
<i>Ixodes persulcatus</i>	361	172 (47,6)	46 (10,3)	35,69±1,61
<i>Dermacentor</i> sp.	33	20 (60,6)	6 (18,2)	27,00±2,88
Сыворотка крови	448	195 (43,5)	39 (10,8)	35,75±1,02
Всего ...	842	387 (46,0)	91 (10,8)	35,20±0,88

любой из патогенов комплекса клещевых инфекций, назначались профилактическое введение донорского иммуноглобулина и/или курс антибиотиков. Эффективность профилактических мероприятий у людей оценивали на основе выявления в сыворотке крови иммуноглобулинов класса G (Ig G) через 6 недель после проведения профилактики. Для выявления Ig G к ВКЭ и боррелиям применяли ИФА с тест-системами ЗАО «Вектор Бест» (Новосибирск). Для выявления Ig G к МЭЧ и ГАЧ использовали соответствующие наборы реагентов производства ООО «Омникс» (Санкт-Петербург). Все серологические исследования проводились в соответствии с инструкциями производителей.

При работе с пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki), 1964, в редакции 2000 г. [15]. Все исследования проводились с одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ и при информированном согласии пациентов.

## Результаты

В ходе исследования установлено, что средний возраст людей, пострадавших от присасывания клещей, составляет 36–37 лет, с незначительным преобладанием лиц мужского пола (57%). Оказалось, что лишь каждый десятый человек имеет вакцинацию от КЭ и менее половины застрахованы по программам добровольного медицинского страхования «ДМС Антиклещ» с включенной услугой ПЦР-диагностики.

При экологогеографической характеристике установлено, что свыше 92% обследованных людей пострадали от укусов клещей в Иркутской области, в основном в пригороде, в зонах рекреационного освоения при посещении садоводческих товариществ или на отдыхе. У 58 (6,9%) человек присасывание клещей произошло на территории Республики Бурятия — в любимых местах отдыха иркутян (Тункинская долина, восточное

и юго-восточное побережье оз. Байкал). Случаи присасывания клещей в других регионах были единичны: по два человека пострадало в Забайкальском и Красноярском краях, по одному — в Алтайском и Приморском краях, Еврейской АО, Омской области и Республике Монголия.

В ПЦР, так же как при микроскопии фиксированных препаратов из содержимого кишечника клещей, чаще всего выявлялись возбудители КБ: в среднем — 12,7%, хотя у таежных клещей этот показатель почти в два раза выше (табл. 2).

Результаты исследования клещей и сывороток крови на клещевые инфекции приведены на рисунке. Наибольшая доля проб с наличием РНК/ДНК возбудителей «клещевых» инфекций выявлена среди *I. persulcatus*. Зараженность степных клещей ниже по всем изученным патогенам (см. табл. 2 и рисунок). Тем не менее, и единичные инфицированные степные клещи могут стать причиной серьезного заболевания.

При исследовании сывороток крови людей обнаружено, что доля положительных находок по всем патогенам ниже, чем у клещей: в 2,6–2,9 раза для ВКЭ, *A. phagocytophillum*, *E. chaffeensis* / *E. muris* и в 5,3 раза для *B. burgdorferi sensu lato*. Этот факт служит еще одним доказательством того, что не каждый инфицированный клещ может заразить человека.

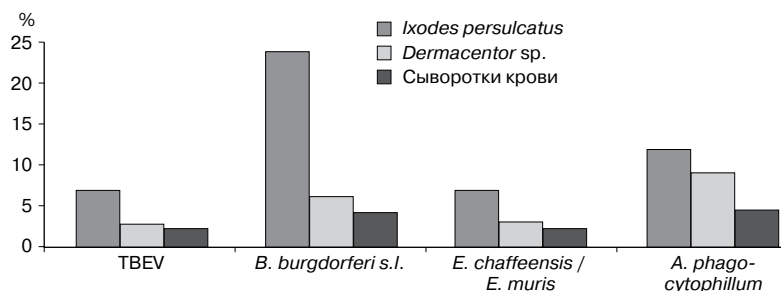
Также заслуживают особого внимания 6,5% микст-инфицированных клещей, у которых одновременно выявлено по два патогена в различных сочетаниях (табл. 3). Чаще всего у микст-инфицированных клещей встречались анаплазмы (52%), большинство из которых сочетались с боррелиями (61,5%) и ВКЭ (31%) и только одна — с эрлихиями. Кроме того, выявлен единичный случай инфицирования таежного клеща тремя различными возбудителями: ВКЭ, *B. burgdorferi s. l.* и *A. phagocytophillum*. Три эпизода микст-инфицирования (0,7%) обнаружено при анализе сывороток крови людей: у одного человека обнаружено одновременное инфицирование ВКЭ и эрлихиями,

Таблица 2. Результаты исследования клещей и сывороток крови людей на наличие РНК/ДНК возбудителей клещевых инфекций

Материал для исследования	ВКЭ*	<i>B. burgdorferi s. l.</i>	<i>E. chaffeensis</i> / <i>E. muris</i>	<i>A. phagocytophillum</i>	Всего
<i>I. persulcatus</i>	25	86	25	43	179
<i>Dermacentor</i> sp.	1	2	1	3	7
Сыворотка крови	11	19	10	20	60
Всего ...	37	107	36	66	246

Примечание. \* В таблице приведены абсолютные числа.





Доля клещей и сывороток крови людей с РНК/ДНК ВКЭ (ТБЕВ), *B. burgdorferi s.l.*, *E. chaffeensis / E. muris*, *A. phagocytophillum*

у второго — ВКЭ и анаплазмами, у третьего — боррелиями и эрлихиями.

При одновременном заражении людей несколькими патогенами при единичном присасывании клещей существует опасность в неправильной постановке диагноза и некорректном проведении профилактических или лечебных мероприятий.

Для сравнения достоверности применения разных методик (ПЦР и ИФА) мы провели оценку результатов исследования сывороток крови на наличие ВКЭ и показали, что данные согласуются с материалами, полученными нами ранее (2007–2011 гг.). При анализе методом ИФА 14,2 тыс. сывороток крови людей через 2–3 суток после присасывания клещей доля положительных проб с антигеном ВКЭ варьировала от 2% в 2011 г. до 3,7% в 2010 г. [16]. Полученный нами в 2014 г. с помощью метода ПЦР результат в 2,5% случаев сопоставим с этими данными.

Всем людям, пострадавшим от присасывания зараженных клещей, было рекомендовано повторное обследование через 1,5–2 месяца после введения иммуноглобулина человека против ВКЭ и/или приема антибиотиков. Из них на контрольное обследование обратились менее половины (43,5%).

Анализ сывороток крови этих пациентов показал, что после проведения антибиотикопрофилактики в случае выявления в клеще или сыворотке крови возбудителей бактериальных инфекций (КБ, МЭЧ, ГАЧ) отмечается практически 100% эффективность. Лишь у одного человека с наличием возбудителя ГАЧ в момент обращения (9 июня), при повторном обследовании (28 июля) в сыворотке крови наблюдалось присутствие IgG-антител к ГАЧ. При изучении сроков обращения и обстоятельств присасывания клеща оказалось, что пациент обратился за помощью через две недели после укуса клеща с жалобами на температуру 38,5–39,8 °С, боль в мышцах и ломоту в суставах. Возможно, этот пациент, направленный в инфекционную больницу, по результатам первичного обращения не получил адекватного лечения, поскольку в течение 2014 г. в Иркутской области официально не было зарегистрировано ни одного случая ГАЧ.

При изучении эффективности профилактики КЭ было показано, что у 28% невакцинированных от КЭ людей, подвергшихся укусу инфицированного ВКЭ клеща, выявлялись IgG-антитела в титре от 1:200 до 1:2000 через полтора месяца после введения противоклещевого иммуноглобулина. Однако при этом никаких жалоб на протяжении всего периода после присасывания клеща эти пациенты не предъявляли. Этот факт может свидетельствовать либо о естественной иммунизации, либо о нарушении сроков вакцинации, когда человек, не желающий проверить напряженность иммунитета, считается не вакцинированным, либо о легкой форме заболевания после произошедшего присасывания клеща.

Таблица 3. Сочетания и количество случаев выявления двух-трех патогенов в клещах, снятых с людей (по результатам ПЦР)

Патогены и их сочетания	Наименование и количество патогенов / сочетаний				
	2 патогена				3 патогена
	ВКЭ	<i>B. burgdorferi s.l.</i>	<i>E. chaffeensis / E. muris</i>	<i>A. phagocytophillum</i>	<i>B. burgdorferi s.l.</i> + <i>A. phagocytophillum</i>
ВКЭ	—	4	3	4	1
<i>B. burgdorferi s.l.</i>	4	—	5	8	—
<i>E. chaffeensis / E. muris</i>	3	5	—	1	—
<i>Phagocytophillum</i>	4	8	1	—	—
<i>B. burgdorferi s.l.</i> + <i>A. phagocytophillum</i>	1	—	—	—	—

## Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют как об актуальности проблемы для медицинской науки и практического здравоохранения, так и о возможности применения метода ПЦР в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, что позволяет выявить наличие возбудителей КЭ,

ИКБ, МЭЧ и ГАЧ в клеще или сыворотке крови, провести эффективную профилактику и, тем самым, снизить инфекционную заболеваемость.

Установлено, что в Байкальском регионе таежные клещи являются основными переносчиками исследованных нами патогенов. Степные клещи также могут являться носителями всех этих инфекций, но в гораздо меньшей степени могут влиять на осложнение эпидемиологической ситуации.

## Литература

1. Коренберг Э.И., Ковалевский Ю.В., Кузнецова Р.И. и др. Выявление и первые результаты изучения болезни Лайма на Северо-Западе СССР. Мед паразитол и паразитарные болезни 1988; 1:45-8.
2. Alekseev A.N., Dubinina N.V., Van De Pol I., Schouls L.M. Identification of *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* in ixodes ticks in the Baltic regions of Russia. J Clin Microbiology 2001; 39(6):2237-42.
3. Борисов В.А., Малов И.В., Ющук Н.Д. Клещевой энцефалит. - Новосибирск, «Наука», 2002.
4. Афанасьева М.В., Воробьева Н.Н., Коренберг Э.И. и соавт. Гранулоцитарный анаплазмоз человека: особенности клинических проявлений в России. Инфекционные болезни. Научно-практический журнал Российского общества инфекционистов 2006; 4(2):24-8.
5. Шпынов С.Н., Рудаков Н.В., Гранитов В.М. и соавт. Выявление альфа1-протеобактерий в иксодовых клещах и образцах от больных в России. Омский научный вестник 2006; 3:32-7.
6. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М., «Наука», 2013.
7. Официальный сайт Управления Роспотребнадзора по Иркутской области [http://38.rosпотребнадзор.ru/c/journal/view\\_article\\_content?groupId=10156&articleId=328812&version=1.0](http://38.rosпотребнадзор.ru/c/journal/view_article_content?groupId=10156&articleId=328812&version=1.0) (дата обращения 04.03.2015).
8. Решетников А.Д., Барашкова А.И., Прокопьев З.С. Иксодовые клещи (Ixodida: Ixodidae) Якутии. Теоретические и прикладные аспекты современной науки 2014; 5:141-3.
9. Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Сунцова О.В. и соавт. Переносчики и возбудители трансмиссивных клещевых инфекций на юге Восточной Сибири и севере Монголии. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН 2004; 1-3:107-12.
10. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. и соавт. Эколого-географическая характеристика обращаемости людей, пострадавших от укусов клещей в Иркутской области и за её пределами. Сибирский медицинский журнал 2012; 4:64-7.
11. СП 3.1.3.2352-08. Профилактика инфекционных болезней. Кровяные инфекции. Профилактика клещевого вирусного энцефалита. М.; 2008.
12. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Петрова И.В. и др. Информационно-справочная система «Пациенты, подвергшиеся укусу клеща, результаты лабораторных исследований их клещей и сывороток крови, и меры профилактики» (ИСС «Клещи»). Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем 2009; 1.
13. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. и соавт. Информационно-аналитическая система «Регистр обращаемости населения за медицинской помощью, результаты лабораторных исследований и профилактика инфекций» (ИАС «Регистр-инфекции»). Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем 2015; 2(100), 20.02.2015.
14. Коренберг Э.И. Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма. М.; 1991.
15. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (в редакции 52-й сессии Генеральной Ассамблеи ВМА в Эдинбурге, Шотландия, октябрь 2000 г).
16. Хаснатинов М.А., Ляпунов А.В., Данчинова Г.А. и соавт. Клещевой энцефалит: встречаемость и профилактика инфекции на доклинической стадии у людей, пострадавших от присасывания иксодовых клещей. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы 2012; 5:19-24.

## Перечень статей, опубликованных в 2016 г.

### Болезни и возбудители

Кондратенко О.В., Лямин А.В., Акимова Н.Л. —

Новые патогены у пациентов с муковисцидозом:

*Inquilinus limosus*.....3,162

Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Младов В.В.,  
Макушкин Б.Б., Нарезкин Д.В., Козлов Р.С. —  
Ретроспективный анализ структуры выделяемых  
микроорганизмов при вторичных инфекциях  
кожи и мягких тканей с использованием  
пермутационных тестов..... 1,33

Маянский Н.А., Алябьева Н.М., Лазарева М.А.,  
Иваненко А.М., Пономаренко О.А., Лазарева А.В.,  
Катосова Л.К., Куличенко Т.В. — Чувствительность  
к антибиотикам, клональное и серотиповое  
разнообразие пневмококков у детей с острым  
средним отитом в г. Москве..... 2,84

Рачина С.А., Козлов Р.С., Таточенко В.К., иссле-  
довательская группа ПАТРИОТ: Жаркова Л.П.,  
Дудникова Э.В., Сакулина И.Б., Мальцев С.В.,  
Спичак Т.В., Сероклинов В.Н., Чиркова О.И.,  
Климова Н.В., Шуматова Т.А., Батищева Г.А.,  
Хохлова С.П., Крюкова Л.А., Манеров Ф.К., Казанова Т.И.,  
Павлюнова Е.Б., Косенко И.М., Кондюрин Е.Г.,  
Захаренков И.А. — Анализ подходов к применению  
антибиотиков при инфекциях верхних дыхательных  
путей и ЛОР-органов у детей: результаты опроса  
участковых педиатров..... 1,20

Резолюция заседания общественного  
Координационного совета по пневмококковой  
инфекции и вакцинации в России..... 1,4

Тапальский Д.В. — Препараты бактериофагов  
и комбинаций антибиотиков: *in vitro* активность  
в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa*  
ST235 с экстремальной  
антибиотикорезистентностью..... 4,242

Федяшев Г.А., Елисеева Е.В. — Антибактериальное  
периоперационное сопровождение хирургического  
лечения катаракты.....3,166

Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Маянский Н.А. —  
Матрикс микробных биопленок..... 1,9

### Антимикробные препараты

Андреева И.В., Стецюк О.У. — Эффективность  
и безопасность комбинации *Lactobacillus acidophilus*

LA-5 и *Bifidobacterium lactis* BB-12 в гастроэнтерологии,  
педиатрии и аллергологии.....2,113

Белькова Ю.А., Рачина С.А., Козлов Р.С., Голуб А.В.,  
Портнягина У.С., Шамаева С.Х. — Перспективы  
включения тедизолида в формуляр российского  
многопрофильного стационара для лечения  
осложненных инфекций кожи и мягких тканей.....3,174

Божкова С.А., Полякова Е.М., Афанасьев А.В.,  
Лабутин Д.В., Ваганов Г.В., Юдин В.Е. —  
Фосфомицин — возможности применения  
для локальной терапии перипротезной  
инфекции.....2,104

Веселов А.В. — Новые лекарственные  
формы позаконазола: краткий клинико-  
фармакологический обзор.....4,249

Голуб А.В., Якушин С.Б. — Ингибиторозащищенные  
пенициллины при бактериальных респираторных  
инфекциях в педиатрии.....3,191

Зырянов С.К., Козлов Р.С., Макушкин Б.Б. —  
Новый взгляд на известные антибиотики:  
как правильно использовать  
фармакодинамические параметры.....2,125

Кузьмина А.В., Поливанов В.А.,  
Асецкая И.Л., Зырянов С.К. — Медицинские  
ошибки при применении антибиотиков  
пенициллиновой группы..... 2,93

Попов Д.А., Зубарева Н.А., Дехнич А.В. — Обзор  
доказательных данных по применению даптомицина  
при грамположительных инфекциях.....4,270

Привольнев В.В., Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В.,  
Тимохова А.В., Дехнич А.В. — Сравнительная активность  
препаратов мёда и нативного мёда в отношении  
штаммов с экстремальными фенотипами  
устойчивости к антимикробным препаратам..... 1,49

Симджи Ш., Дул Р., Козлов Р.С. — Рациональное  
применение антибиотиков в животноводстве  
и ветеринарии.....3,186

Яблонский П.К., Виноградова Т.И., Левашев Ю.Н.,  
Павлова М.В., Зильбер Э.К., Старшинова А.А.,  
Сапожникова Н.В., Чернохаева И.В., Арчакова Л.И.,  
Заболотных Н.В., Витовская М.Л. — Доклинические  
и клинические исследования нового  
противотуберкулезного препарата  
«Перхлозон®»..... 1,42

**Антибиотикорезистентность**

- Арепьева М.А., Колбин А.С., Сидоренко С.В., Курьлев А.А., Балькина Ю.Е., Мухина Н.В., Спиридонова А.А.* — Математическая модель прогнозирования развития бактериальной резистентности, построенная на основе зависимости между уровнем резистентности и объемом потребления антибиотиков .....3,200
- Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Шляхто Е.В.* — Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге .....3,196
- Веселов А.В.* — Ассоциированная с мутациями генов FKS резистентность *Candida glabrata* к эхинокандинам: насколько актуальна проблема? .....2,130
- Кубанов А.А., Рахматулина М.Р., Соломка В.С., Плахова К.И., Честков А.В., Петрова Н.П., Дерябин Д.Г.* — Антибиотикорезистентность *Neisseria gonorrhoeae* в Российской Федерации: современные тенденции .....4,282
- Морозова Л.Г., Поздеев О.К., Поздеева А.О., Кипенская Л.В., Муравьева Е.В.* — Чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов *Helicobacter pylori*, выделенных от пациентов с предраковыми и онкологическими заболеваниями желудка .....4,291
- Поздеев О.К., Морозова Л.Г., Поздеева А.О., Валева Ю.В., Гуляев П.Е.* — Мониторинг первичной антибиотикорезистентности штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных в республике Татарстан в 2008–2013 гг. ....2,146
- Опыт работы**
- Бонцевич Р.А., Щуровская К.В., Покровская Т.Г., Батищева Г.А., Гончарова Н.Ю.* — Оценка знания студентами старших курсов вопросов антимикробной химиотерапии .....3,226
- Егшатын Л.В., Ткачева О.Н., Алексеев Д.Г., Тяхт А.В., Попенко А.С., Кострюкова Е.С., Бабенко В.В., Вахитова М.Т., Бойцов С.А.* — Особенности микробиоты кишечника у пациентов с различной массой тела .....3,212
- Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А., Манзарова Э.Л., Егорова Д.В., Данчинова Г.А.* — Опыт применения метода ПЦР в реальном времени для диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами .....4,308
- Попов Д.А., Надточей Е.А., Вострикова Т.Ю., Овсеенко С.Т.* — Ускоренные методы идентификации положительных гемокультур с применением MALDI-TOF масс-спектрометрии .....4,296
- Привольнев В.В., Пасхалова Ю.С., Родин А.В.* — Местное лечение ран и раневой инфекции по результатам анонимного анкетирования хирургов России .....2,152
- Розова Л.В., Годовых Н.В.* — Антибиотикорезистентность возбудителей хронического посттравматического остеомиелита .....1,63
- Семененко Т.А., Никитина Г.Ю., Птушкин В.В., Ярош Л.В., Кожевникова Г.М., Полонский В.О., Суслов А.П.* — Распространенность скрытых и мутантных форм гепатита В у пациентов гематологических отделений многопрофильного стационара .....1,56
- Шибанов А.М., Осадчая О.А., Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Корниенко М.Н., Калугина М.Ю., Зюзя Ю.Р., Стаханов В.А.* — Клинический случай острой сочетанной герпетической инфекции и пневмоцистоза у пациента с прогрессирующим течением фиброзно-кавернозного туберкулеза лёгких .....3,231
- Шилова А.Н., Ильина В.Н., Субботовская А.И., Козырева В.С., Струнин О.В., Ломиворотов В.В.* — Характеристика энтеробактерий с множественной резистентностью, колонизирующих кишечный тракт у детей раннего возраста с врожденными пороками сердца при поступлении в кардиохирургический стационар .....1,68
- Информация**
- Список конференций .....1,75
- Правила для авторов .....1,77
- Перечень статей, опубликованных в 2016 г. ....4,313
- Список авторов .....4,315

## Список авторов

<b>А</b>		<b>З</b>		<b>М</b>	
Акимова Н.Л. ....	3,162	Заболотных Н.В. ....	1,42	Манеров Ф.К. ....	1,20
Алексеев Д.Г. ....	3,212	Захаренков И.А. ....	1,20	Манзарова Э.Л. ....	4,308
Алябьева Н.М. ....	2,84	Зильбер Э.К. ....	1,42	Маянский А.Н. ....	1,9
Андреева И.В. ....	2,113	Зубарева Н.А. ....	4,270	Маянский Н.А. ....	1,9; 2,84
Арпьева М.А. ....	3,200	Зырянов С.К. ....	2,93; 125	Младов В.В. ....	1,33
Арчакова Л.И. ....	1,42	Зюзя Ю.Р. ....	3,231	Морозова Л.Г. ....	2,146; 4,291
Асецкая И.Л. ....	2,93	<b>И</b>		Муравьева Е.В. ....	4,291
Афанасьев А.В. ....	2,104	Иваненко А.М. ....	2,84	Мухина Н.В. ....	3,200
<b>Б</b>		Ильина В.Н. ....	1,68	<b>Н</b>	
Бабенко В.В. ....	3,212	<b>К</b>		Надточей Е.А. ....	4,296
Балыкина Ю.Е. ....	3,200	Каганова Т.И. ....	1,20	Нарезкин Д.В. ....	1,33
Баранцевич Е.П. ....	3,196	Калугина М.Ю. ....	3,231	Никитина Г.Ю. ....	1,56
Баранцевич Н.Е. ....	3,196	Каражас Н.В. ....	3,231	<b>О</b>	
Батищева Г.А. ....	1,20; 3,226	Катосова Л.К. ....	2,84	Овсенко С.Т. ....	4,296
Белькова Ю.А. ....	3,174	Кипенская Л.В. ....	4,291	Осадчая О.А. ....	3,231
Божкова С.А. ....	2,104	Климова Н.В. ....	1,20	<b>П</b>	
Бойцов С.А. ....	3,212	Кожевникова Г.М. ....	1,56	Павлинова Е.Б. ....	1,20
Бонцевич Р.А. ....	3,226	Козлов Р.С. ....	1,20; 33; 2,125; 3,174, 186	Павлова М.В. ....	1,42
<b>В</b>		Козырева В.С. ....	1,68	Пасхалова Ю.С. ....	2,152
Ваганов Г.В. ....	2,104	Колбин А.С. ....	3,200	Петрова Н.П. ....	4,282
Валеева Ю.В. ....	2,146	Кондратенко О.В. ....	3,162	Плахова К.И. ....	4,282
Вахитова М.Т. ....	3,212	Кондюрин Е.Г. ....	1,20	Поздеев О.К. ....	2,146; 4,291
Веселов А.В. ....	2,130; 4,249	Корниенко М.Н. ....	3,231	Поздеева А.О. ....	2,146; 4,291
Виноградова Т.И. ....	1,42	Косенко И.М. ....	1,20	Покровская Т.Г. ....	3,226
Витовская М.Л. ....	1,42	Кострюкова Е.С. ....	3,212	Поливанов В.А. ....	2,93
Вострикова Т.Ю. ....	4,296	Крюкова Л.А. ....	1,20	Полонский В.О. ....	1,56
<b>Г</b>		Кубанов А.А. ....	4,282	Полякова Е.М. ....	2,104
Годовых Н.В. ....	1,63	Кузьменков А.Ю. ....	1,33	Пономаренко О.А. ....	2,84
Голуб А.В. ....	3,174, 191	Кузьмина А.В. ....	2,93	Попенко А.С. ....	3,212
Гончарова Н.Ю. ....	3,226	Куличенко Т.В. ....	2,84	Попов Д.А. ....	4,270, 296
Гуляев П.Е. ....	2,146	Курылев А.А. ....	3,200	Портнягина У.С. ....	3,174
<b>Д</b>		<b>Л</b>		Привольнев В.В. ....	1,49; 2,152
Данчинова Г.А. ....	4,308	Лабутин Д.В. ....	2,104	Птушкин В.В. ....	1,56
Дерябин Д.Г. ....	4,282	Лазарева А.В. ....	2,84	<b>Р</b>	
Дехнич А.В. ....	1,49; 4,270	Лазарева М.А. ....	2,84	Рахматулина М.Р. ....	4,282
Дудникова Э.В. ....	1,20	Левашев Ю.Н. ....	1,42	Рачина С.А. ....	1,20; 3,174
Дул Р. ....	3,186	Ломиворотов В.В. ....	1,68	Родин А.В. ....	2,152
<b>Е</b>		Лямин А.В. ....	3,162	Розова Л.В. ....	1,63
Егорова Д.В. ....	4,308	Ляпунов А.В. ....	4,308	Рыбалкина Т.Н. ....	3,231
Егшатын Л.В. ....	3,212	<b>М</b>		<b>С</b>	
Елисеева Е.В. ....	3,166	Макушкин Б.Б. ....	1,33; 2,125	Сакулина И.Б. ....	1,20
<b>Ж</b>		Мальцев С.В. ....	1,20	Сапожникова Н.В. ....	1,42
Жаркова Л.П. ....	1,20	<b>Н</b>		Семененко Т.А. ....	1,56
<b>З</b>		<b>О</b>		Сероклинов В.Н. ....	1,20

Сидоренко С.В. ....	3,200	Ткачева О.Н. ....	3,212	Шилова А.Н. ....	1,68
Симджи Ш. ....	3,186	Трушин И.В. ....	1,33	Шляхто Е.В. ....	3,196
Соломка В.С. ....	4,282	Тягт А.В. ....	3,212	Шуматова Т.А. ....	1,20
Спиридонова А.А. ....	3,200	<b>Ф</b>		<b>Щ</b>	
Спичак Т.В. ....	1,20	Федяшев Г.А. ....	3,166	Щуровская К.В. ....	3,226
Старшинова А.А. ....	1,42	<b>Х</b>		<b>Э</b>	
Стаханов В.А. ....	3,231	Хаснатинов М.А. ....	4,308	Эйдельштейн М.В. ....	1,49
Стецюк О.У. ....	2,113	Хохлова С.П. ....	1,20	<b>Ю</b>	
Струнин О.В. ....	1,68	<b>Ч</b>		Юдин В.Е. ....	2,104
Субботовская А.И. ....	1,68	Чеботарь И.В. ....	1,9	<b>Я</b>	
Суслов А.П. ....	1,56	Чернохаева И.В. ....	1,42	Яблонский П.К. ....	1,42
Сухорукова М.В. ....	1,49	Честков А.В. ....	4,282	Якушин С.Б. ....	3,191
<b>Т</b>		Чиркова О.И. ....	1,20	Ярош Л.В. ....	1,56
Тапальский Д.В. ....	4,242	<b>Ш</b>			
Таточенко В.К. ....	1,20	Шамаева С.Х. ....	3,174		
Тимохова А.В. ....	1,49	Шибанов А.М. ....	3,231		