

DOI: 10.14427/jipai.2014.4.61

Мониторинг антибиотикорезистентности как объективный диагностический и эпидемиологический критерий инфекционного процесса

С.С. Афанасьев¹, А.В. Караулов², В.А. Алёшкин¹, Е.А. Воропаева¹, М.С. Афанасьев², Ю.В. Несвижский², Е.А. Егорова¹, А.В. Алёшкин¹, В.А. Метельская¹, О.Г. Гречишникова, А.Л. Байракова, Ю.Н. Урбан¹, И.В. Евсегнеева²

¹ Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

Monitoring of antibiotic resistance as an objective diagnostic and epidemiological criteria of infectious process

S.S. Afanasiev¹, A.V. Karaulov², V.A. Aleshkin¹, E.A. Voropaeva¹, M.S. Afanasiev², Yu.V. Nesvizhskiy², E.A. Egorova¹, A.V. Aleshkin¹, V.A. Metelskaya¹, O.G. Grechishnikova¹, A.L. Bairakova¹, Yu.N. Urban¹, I.V. Evsegneeveva²

¹ Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Аннотация

В обзоре литературы и результатов собственных исследований антибиотикорезистентность и антибиотикочувствительность представлены как неотъемлемые свойства микроорганизмов, характеризующих их биологический потенциал. По регистрации в микробной клетке наличия соответствующих генетических структур, установлению у последних выраженности супрессии или экспрессии в динамике эпидемического процесса можно существенно оптимизировать верификацию возбудителя заболевания, повысить достоверность прогноза исхода инфекционного процесса.

Ключевые слова

Инфекционный процесс, эпидемиологический процесс, антибиотикочувствительность, антибиотикорезистентность, генетические структуры, патогены, условно-патогенные микроорганизмы, иммуномодулятор.

Имеющее место совершенствование генофонда микроорганизмов (бактерий, вирусов, простейших, риккетсий, хламидий, микоплазм) заставляет практическое здравоохранение об-

Summary

In a review of the literature and the results of our studies antibiotic resistance and antibiotic sensitivity are presented as essential properties of microorganisms that characterize their biological potential. By registering in the microbial cell availability of appropriate genetic structures, the establishment of the latter suppression or expression in the dynamics of the epidemic process the verification of causative agent can be significantly optimized, the accuracy of prediction the outcome of the infection process can be improved.

Keywords

Infectious process, the epidemiologic process, antibiotic sensitivity, antibiotic resistance, the genetic structures, pathogens, opportunistic pathogens, immunomodulator.

ращать всё большее внимание на лечение, профилактику ранее известных и вновь выявляемых инфекционных заболеваний, на реабилитацию больных с острыми и хроническими инфекци-

онными болезнями. Патогенный микроорганизм заставляет хозяина адаптироваться к его изменениям, но с другой стороны - микроб сталкивается с проблемами выживания в адаптивно меняющейся среде хозяина (защитные системы), т.е. происходит ко-эволюция паразита и хозяина. Приспособление микроорганизма, и особенно патогенного, к изменяющимся условиям связано с их генетической вариабельностью. Существует несколько различных механизмов, приводящих к генетической вариабельности, - это накопление точечных мутаций, генетические перестройки и приобретение нового генетического материала посредством горизонтального переноса генов и, в первую очередь, у возбудителей инфекционных заболеваний, затрагивающих факторы патогенности. Факторы патогенности микроорганизмов кодируются геномными островками - островками патогенности. Детерминанты островков патогенности способны распространяться среди одного или родственных видов бактерий путем конъюгации, трансдукции или трансформации. Интеграция, стабилизация и экспрессия генов вирулентности, входящих в островок патогенности лежат в основе формирования новых свойств, в том числе патогенных, у родственных непатогенных видов бактерий различных таксономических групп. Однако возникновение островков патогенности является длительным процессом. Сначала островки патогенности встраиваются в геном определенного патогенного микроорганизма, далее, если патогенный вариант становится «успешным», эволюционный прессинг идет по пути "homing" (закрепление, фиксация) этого островка в геноме, что в дальнейшем приводит к возникновению нового «патогенного» варианта. А дальнейшая эволюция идет по пути появления изменений и в самих островках патогенности, что способствует приобретению новых дополнительных свойств и дает микробам возможность адаптироваться к изменяющимся условиям существования в организме хозяина. Большое значение приобрели инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, госпитальные инфекции, феномен суперинфицирования. В последние два десятилетия исследователями во всем мире отмечается значительное изменение эпидемиологии внутрибольничных (нозокомиальных) и внебольничных инфекционных заболеваний человека. Появляются вновь возникающие (эмерджентные) инфекции, а известные ранее патогены изменяют свои свойства, приобретая новые признаки, увеличивающие их вирулентность и устойчивость к лекарственным средствам [1, 2, 3].

Чувствительность/устойчивость к антибиотикам в настоящее время рассматриваются как объективные показатели генотипических и фенотипических особенностей конкретного микроорганизма [4]. Раскрыты механизмы антибиотикорезистентности как грамотрицательных бактерий, так и грамположительных бактерий. Классическими считаются пять механизмов устойчивости к антибиотикам: модификация мишени, инактивация антибиотика, активное выведение антибиотика из микробной клетки, формирование метаболического «шунта» [5]. Установлен факт дозозависимого влияния в клеточной среде и *in vitro* цитокинов на выраженность антимикробного действия антибиотиков и антимикробных препаратов [6, 7]. В последнее время выделяют микробную биоплёночную антибиотикорезистентность: увеличение в биоплёнках персистеров с заторможенным метаболизмом, фильтрующая способность матрикса биоплёнки, наличие слизи в биоплёнке, присутствие в биоплёнках популяций бактерий одного вида или полимикробная ассоциация с разными механизмами резистентности, дополняющими друг друга. К факторам, формирующим антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий, относятся микроокружение и сигналы «кворум сенсинг». Повышенная выживаемость биоплёночных микроорганизмов при терапевтических концентрациях антимикробных препаратов может быть также обусловлена снижением скорости их фильтрации через биоплёнку [8, 9, 10]. Данные об антибиотикорезистентности различных видов бактерий в стационарах разного профиля значительно отличаются, что в большинстве случаев определяется политикой применения антибактериальных препаратов [11, 12, 13, 14]. Так же как и гены патогенности, гены антибиотикорезистентности способны распространяться в популяции микроорганизмов либо за счет конъюгативных процессов, либо при трансдукции. В настоящее время коагулазонегативные стафилококки, такие как *Staphylococcus haemolyticus* и *S. epidermidis*, рассматриваются как внутрибольничный резервуар генетической информации для *S. aureus* [15, 16]. В качестве резервуара генов антибиотикорезистентности могут выступать также индигенные микроорганизмы, такие как лактобациллы и бифидобактерии [4, 17]. Однако, ведущим механизмом появления антибиотикорезистентных микробных клеток в организме человека, находящегося в стационаре, является попадание их извне. Временные рамки обсеменения госпитальной флорой различных

биотопов пациентов, поступающих в стационар, варьируют, по данным разных авторов, от 1 до 10 дней пребывания в условиях госпитальной среды [18, 19].

Всемирная организация здравоохранения рекомендует в первую очередь сосредоточить усилия исследователей на направлениях, представляющих наибольшую опасность для здравоохранения многих стран мира - шести смертельных инфекциях, являющихся причиной 50% от всех преждевременных смертей в мире (пневмония, туберкулез, кишечные заболевания, малярия, корь и синдром иммунодефицита СПИД/ВИЧ) [20]. Резистентность возбудителей к применяемым антибактериальным препаратам значительно усложнила борьбу с первыми пятью из шести перечисленных смертельных болезней. У многих опасных возбудителей (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Mycobacterium tuberculosis*) отмечается «эскалация» развития резистентности: множественно-резистентные изоляты бактерий (multi drug resistance, MDR) нечувствительны по крайней мере к одному из применяемых для лечения данной инфекции антибиотиков из трех функциональных классов; экстремально-резистентные изоляты бактерий (extreme drug resistance, XDR) – по крайней мере, к одному антибиотику из всех функциональных классов, кроме одного или двух; пан-резистентные изоляты бактерий (pan drug resistance, PDR) - ко всем антибиотикам из всех функциональных классов. Примерами инфекций, вызванных резистентными возбудителями в последние годы, явились: вспышка кишечного заболевания в Европе, вызванная MDR-E. O104:H4 и появление в Индии, с последующим распространением в Европе, PDR-бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, несущих New Delhi металло-β-лактамазу-1 (NDM-1) [21, 22, 23, 24, 25]. Бактерии активно обмениваются генетическими детерминантами резистентности, сформирована концепция о наборах факторов резистентности, присущих конкретным сообществам бактерий (резистом), в том числе - микробному сообществу организма человека (микробиом) [26, 27, 28]. Основные генетические механизмы, определяющие лекарственную устойчивость у бактерий, относящихся к разным таксономическим группам, значительно отличаются. Так, у метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus* (MRSA) важную роль играет стафилококковая хромосомная кассета SCCmec; у *Pseudomonas aeruginosa* - гены нескольких типов эффлюксных насосов, у *Acinetobacter*

baumannii - специфичные мобильные транспозоны Aba; у энтеробактерий – гены β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС); у *Mycobacterium tuberculosis* - точечные мутации в генах, кодирующих ферменты, модифицирующие молекулы лекарства. Свой вклад в резистомы отдельных видов бактерий вносят также и универсальные механизмы устойчивости к некоторым классам лекарств: так, устойчивость к хинолонам формируется благодаря наличию точечных мутаций в генах, кодирующих ферменты DNA-гиразу и топоизомеразу. Большую роль в формировании и распространении наиболее «успешных» механизмов резистентности играют мобильные генетические элементы (транспозоны, интегроны, IS-элементы, плазмиды) и универсальные процессы обмена генетической информацией (конъюгация, трансформация, трансдукция, рекомбинация) [27, 28].

Развитие у *Streptococcus pneumoniae* резистентности к препаратам пенициллинового ряда, а также к цефалоспорином, в большинстве случаев связывают со снижением аффинности пенициллин связывающих белков-ПСБ. Их подразделяют на ПСБ с высокой молекулярной массой класса А (НМW class A-PBP1a, 1b и 2a), с высокой молекулярной массой класса В (НМW class B-PBP 2x, 2b) и с низкой молекулярной массой (LMW PBP3). Основная функция данной группы мембранных белков, являющихся ферментами (трансгликозилазами и транспептидазами) и встречающихся у представителей всех видов бактерий, состоит в катализе биосинтеза муреина. Их активные центры (N-концевые пенициллин-связывающие домены) способны образовывать ковалентные связи с β-лактамным кольцом пенициллинов и цефалоспоринов, в результате чего ферменты инактивируются и бактериальная клетка теряет способность к синтезу клеточной стенки. Мутации в доменах вызывают снижение аффинности ПСБ к β-лактамам, и соответственно для подавления роста культур *in vitro* требуются более высокие концентрации препаратов, что проявляется в повышении их минимальных подавляющих концентраций (МПК). Наиболее выраженное снижение чувствительности клинических изолятов к β-лактамам ассоциируется с мутационными изменениями PBP1a, PBP2x и PBP2b, эти три белка кодируются генами *pbp1a*, *pbp2x* и *pbp2b*, соответственно [29, 30]. У пенициллин устойчивых (ПУ) или пенициллин промежуточноустойчивых (ППУ) штаммов *S. pneumoniae* имеется аномальная мозаичная структура генов *pbp1a*, *pbp2x* и/или *pbp2b*, ко-

торая является нормальной у пенициллин чувствительных (ПЧ) изолятов. Наличие мутации в генах *pbp1a*, *pbp2x* свидетельствует не только о принадлежности штамма к ППУ, но и о его сниженной чувствительности к цефалоспорином III-го поколения - препаратам выбора при лечении бактериальных менингитов [31, 32]. Следует также отметить, что у большей части клинических изолятов пневмококков с МПК пеницилина $\geq 0,25$ мкг/мл, то есть относящихся к ПУ, в геноме присутствуют аллели указанных генов с мозаичной структурой, содержащие фрагменты соответствующих генов родственных видов рода *Streptococcus*, в частности *S. mitis*. Доказано, что межвидовой перенос генетического материала, наблюдающийся между комменсальными видами рода *Streptococcus*, в норме колонизирующими носоглотку, и *S. pneumoniae* играет важную роль в селекции и формировании пенициллин резистентных штаммов последнего [30]. Кроме устойчивости к бета-лактамам в последние годы становится все более актуальной проблема резистентности *S. pneumoniae* к макролидам, в частности к эритромицину. Для *S. pneumoniae* описаны 3 основных механизма реализации лекарственной устойчивости к макролидам [29, 33, 34]: - постраскрипционное метилирование аденина в остатке A2058 под воздействием фермента аденин-N6-метилтранс-феразы; A2058 входит в состав домена V консервативного региона 23S rRNA и играет основную роль в связывании с макролидами, метилирование нарушает его способность к взаимодействию с этими антибиотиками; синтез аденин-N6-метилтрансферазы кодируется генами *ermA* и *ermB*; - мутационные изменения в генах, кодирующих рибосомальные белки L4 и L22, а также в A2058 и A2059 доменах V консервативного региона 23S rRNA; эти мутации приводят к модификации мишени действия макролидов; - также один из механизмов резистентности к макролидам связан с активным выбросом (эффлюксом) антибиотика из бактериальной клетки, он осуществляется за счет протонной помпы, синтез которой кодируется геном *mefA*. Клональная экспансия и распространение мультирезистентных клональных комплексов также внесли существенный вклад в диссеминацию антибиотикорезистентности в популяции *S. pneumoniae* [35].

Наблюдаемая драматическая картина нарастающей резистентности возбудителей инфекционных болезней человека сложилась в результате совокупного действия нескольких факторов: неадекватного использования антибиотиков - вы-

бора препарата, схемы лечения и/ или дозировки (так, в Канаде и США 50%, а во Вьетнаме - 70% назначений антибиотиков амбулаторным больным признано неоправданным) [20]; использования антибиотиков в пищевом производстве (50% производимых антибиотиков используется в животноводстве, растениеводстве и садоводстве); активации эволюционных механизмов у госпитальных сообществ микроорганизмов (мутации, горизонтальный перенос генов, мобильные генетические элементы) [36].

К числу бурно эволюционирующих патогенов относятся *Klebsiella pneumoniae*, широко распространённые в природе - в почве, пресной и морской воде, растениях, промышленных стоках и т.д., они также могут вызывать заболевания у людей, у животных - лошадей, крупного рогатого скота, свиней, обезьян, собак и кошек [37]. Классические *K. pneumoniae* (сKp) и гипервирулентные клебсиеллы (hvKp) в настоящее время распространились как в госпитальных, так и во вне госпитальных экологических нишах, отличаются друг от друга набором вирулентных свойств [38, 39]. Клебсиеллы значительно увеличили свою значимость и опасность благодаря своей способности аккумулировать детерминанты резистентности к антибактериальным препаратам, что привело к усложнению лечения инфекций, вызванных этими бактериями [40]. Данный патоген, по предложению Американского общества инфекционных болезней (Infectious Diseases Society of America, IDSA), включен в группу микроорганизмов ESKAPE-патогенов - способных «избегать» бактерицидного воздействия антибиотиков (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) [41]. Особенно опасными вариантами клебсиелл, появившимися в последние годы, являются множественно устойчивые *K. pneumoniae*, продуцирующие ферменты карбапенемазы (OXA-48, NDM-1), обеспечивающие устойчивость к современным бета-лактамам карбапенемам, а также несущие факторы резистентности к фторхинолонам и аминогликозидам в составе интегронов [42, 43]. В ближайшие годы ожидается появление еще более опасных штаммов клебсиелл, объединивших в себе признаки гипервирулентных (hvKp) и экстремально резистентных (XDR) или панрезистентных (PDR) микроорганизмов - нового бактериального суперпатогена [40]. Карбапенемазы OXA-48 и NDM-1 в России не выявлялись до 2010-х гг. В последние годы появились единичные сообщения о

NDM-1-продуцирующих штаммах, а количество и ареал OXA-48- продуцирующих изолятов расширяется с каждым годом. Данные изоляты зачастую являются множественно резистентными (MDR), поскольку содержат несколько механизмов резистентности одновременно: кроме генов карбапенемаз они часто несут детерминанты бета-лактамаз расширенного спектра (ESBLs) и интегроны, включающие в себя кассеты устойчивости к антибактериальным препаратам других функциональных классов [43]. Охарактеризованы фенотипически и генотипически blaOXA-48-позитивные 17 изолятов *K. Pneumoniae*. Фенотип резистентности - минимальные подавляющие концентрации антибактериальных препаратов - определен с помощью метода микроразведений в бульоне. Наличие генов, кодирующих карбапенемазу OXA-48, ESBLs типов TEM, SHV и CTX-M, а также интегронов класса 1, определено методом ПЦР с помощью специфичных праймеров. Практически все 17 изолятов *K. pneumoniae* одновременно несли гены blaOXA-48, бета-лактамаз расширенного спектра (blaCTX-M), других бета-лактамаз (blaTEM и blaSHV) и интегронов 1 класса. Изоляты были устойчивы к бета-лактамам (только один изолят имел промежуточный уровень устойчивости к цефтазидиму и три изолята – промежуточный уровень устойчивости к цефоперазону/сульбактаму); к ципрофлоксацину (кроме двух изолятов, имеющих промежуточный уровень устойчивости); к хлорамфениколу; к котримоксазолу и к триметоприму. Большинство изолятов (76%) проявляли чувствительность к аминогликозидам гентамицину и амикацину, а 100% из них - к тигециклину. Уровень чувствительности к карбапенемам имипенему и меропенему варьировал у разных изолятов: 29% изолятов были чувствительны к имипенему, а 18% - к меропенему. Причиной данного факта может служить разный уровень экспрессии гена blaOXA-48, а также возможный вклад непроницаемости мембран (утрата поринов) и активности эффлюксных насосов. Выбор адекватной антибиотикотерапии в отделении интенсивной терапии для лечения инфекций, вызванных OXA-48-продуцирующими клебсиеллами, в настоящее время сужен. Использование карбапенемов у клиницистов уже вызывает значительные опасения, т.к. была продемонстрирована их неэффективность при лечении инфекции, вызванной OXA-48-продуцирующими *K. pneumoniae*, на мышинной модели, а также из-за случаев неудачной терапии имипенемом таких инфекций у людей [44, 45].

В процессе микробиологических исследований перитонеального экссудата и биопсийного материала указанных пациентов (сальник, брюшина) при перитонитах, было выделено 15 чистых культур 7 видов микроорганизмов, в 95,3% случаев вызывающих нозокомиальный перитонит. К ним относились, 2 штамма *Acinetobacter baumannii*, 1 штамм *Acinetobacter haemolyticus*, 1 штамм *Enterococcus bovis*, 2 штамма *Enterococcus faecalis*, 4 штамма *Enterococcus faecium*, 2 штамма *Escherichia coli*, 3 штамма *Pseudomonas aeruginosa*. У большинства микроорганизмов выявлена высокая устойчивость к антибиотикам, в том числе и антибиотикам последних поколений (цефалоспорином III, IV поколений, фторхинолонам, карбапенемам). Кроме того, 2 штамма *Pseudomonas aeruginosa* и 1 штамм *Acinetobacter baumannii* были устойчивы к 0,5% водному раствору хлоргексидина, часто используемого для санации брюшной полости, а один штамм *Pseudomonas aeruginosa* и 2 штамма *Enterococcus faecium*, проявляли устойчивость к гипохлориту натрия. Выявление островков патогенности антибиотикорезистентности при определении устойчивости к фторхинолонам (*qnrB*, *qnrS*, *qnrA*) у 75% исследованных штаммов совпадало с результатами, полученными диско-диффузионным методом. В отношении бета-лактамных антибиотиков процент совпадений генотипической (TEM- blaTEM, CTX- blaCTX-M, SHV- blaSHV) и фенотипической устойчивости составляло 62,5% [46, 47].

Изменчивость штаммов *B. pertussis* была показана и в отношении чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам. Масштабное и длительное применение антимикробных препаратов для лечения различных инфекций верхних и нижних дыхательных путей привело к возникновению резистентности у большинства патогенных микроорганизмов и, следовательно, стало одной из основных проблем медицинской микробиологии. В последние двадцать лет частота выявления штаммов, резистентных к макролидным препаратам, увеличивается с каждым годом. Формирование устойчивости популяции возбудителя коклюша прослежено на примере изучения чувствительности к эритромицину штаммов *B. pertussis*, выделенных от больных коклюшем в различные периоды в зависимости от времени их выделения и применения антибактериальных препаратов. В первую группу вошли штаммы *B. pertussis*, выделенные в 1948-1989 гг., когда основными антибактериальными препаратами были тетрациклин и доксициклин, во вторую группу - штаммы, выделенные в 1990-2005 гг.

- в период массового применения макролидных препаратов (в том числе, эритромицина), и в третью группу - штаммы, выделенные в 2006-2012 гг.

- в период начала применения полусинтетических и синтетических антибактериальных препаратов. Показано, что до конца 1980-х годов доминирующее положение в популяции штаммов *B. pertussis* занимали штаммы с высокой чувствительностью к эритромицину, которая была характерна и для большинства (78,0%) штаммов *B. pertussis*, выделенных до 2000 г. Однако, у последних штаммов отмечено увеличение лимитирующей концентрации к эритромицину в среднем до 0,064 мкг/мл. Штаммы *B. pertussis*, выделенные в 2001-2005 гг., уже в 22,0% случаев характеризовались промежуточной чувствительностью к эритромицину с сохранением значения лимитирующей концентрации на уровне 0,060 мкг/мл. Вместе с тем, частота выявляемости таких штаммов в последние 6 лет достигла уже 59,3%. При изучении МПК в методе Е-тест оказалось, что в 42,0% случаев продолжают циркулировать штаммы *B. pertussis* с высокой чувствительностью к эритромицину, однако МПК препарата увеличилась в 2 раза и в среднем составила около 0,125 мкг/мл и в единичном проценте случаев достигает 0,25 мкг/мл. Таким образом, за несколько десятилетий активного использования антибиотиков, возбудитель коклюша претерпел ряд изменений, проявляющихся в снижении чувствительности штаммов *B. pertussis* к эритромицину. Это может свидетельствовать о возможном снижении эффективности действия данного антибактериального препарата на возбудителя коклюша и расширении адаптационных механизмов возбудителя на фоне длительного применения антибактериальной терапии. Полученные данные полностью согласуются с данными зарубежных ученых, свидетельствующих о тенденции снижения чувствительности циркулирующих популяций *B. pertussis* к препаратам макролидного ряда. Вместе с тем, резистентных к эритромицину штаммов *B. pertussis*, как было показано исследователями из США, где такие штаммы регистрируются в 7,0% случаев, на территории России пока не обнаружено [48].

Характерной особенностью подавляющего большинства культур грамположительных и грамотрицательных аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, изолированных из задней стенки глотки (ЗСГ) детей с бронхиальной астмой, является наличие у них полирезистентности к большому числу антимикробных препаратов. Так, если микроорганизмы, устойчивые к 1-3 антибиотикам, изолированные от здоровых де-

тей, выявлялись в 54,5% случаев, то количество штаммов, чувствительных к 1-3 антимикробным препаратам, изолированных от больных детей, было значительно меньше - 20,7%. Напротив, полирезистентные культуры (к 6-7 и более из 20 исследованных антибиотиков) выявляются у детей с бронхиальной астмой в 42,8% случаев, у здоровых детей такие культуры обнаруживались только в 14,3% случаев. Следовательно, даже при отсутствии явных признаков бактериальной инфекции, у больных бронхиальной астмой выделяются культуры микроорганизмов, характеризующиеся полиантибиотикорезистентностью. Обнаружение полирезистентных культур у больных с бронхиальной астмой имеет важное клиническое значение, поскольку требует от клинициста обязательного учета антибиотикограммы при выборе соответствующего антибиотика для элиминации подобных микроорганизмов из дыхательных путей. Можно предположить, что в процессе химиотерапии больных бронхиальной астмой, в результате переноса генов антибиотикорезистентности штаммы микроорганизмов, колонизирующих ротоглотку больных, могут приобретать перечисленные выше факторы агрессии и защиты, а также повышенную адгезивную активность [49].

При определении антибиотикочувствительности уреазплазм от больных урогенитальным уреазплазмозом выявлена высокая чувствительность штаммов к доксициклину, миноциклину, тетрациклину, пристиномицину; к джозамицину, эритромицину и офлоксацину штаммы были умеренно устойчивы; к клиндамицину - в основном устойчивы. При этом характерной особенностью подавляющего большинства культур грамположительных и грам-отрицательных факультативно- и облигатно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов, изолированных от больных с уреазплазменной инфекцией, являлось наличие у них полирезистентности к большому числу антимикробных препаратов. Наблюдалось увеличение резистентности культур условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от больных уреазплазмозом, к доксициклину и фторхинолонам, что связано с интенсивным использованием этих препаратов при лечении инфекций, передаваемых половым путём. При определении чувствительности грибов рода *Candida*, выделенных от больных и обследованных контрольной группы, к фунгицидным препаратам не выявлено устойчивости штаммов к нистатину и амфотерицину. Выявлена устойчивость одного штамма, выделенного от обследованных контрольной группы,

к клотримазолу и флюконазолу. При повторном исследовании 20 штаммов уреоплазм, 13 изолированных от больных I группы (общепринятое лечение) и 7 - от больных II группы (общепринятое лечение с включением иммуномодулятора «Кипферон-суппозитории») после первого курса лечения, практически не было выявлено культур чувствительных к препаратам, широко используемым для лечения внутриклеточных инфекций: джозамицину, клиндамицину, эритромицину. При определении антибиотикочувствительности 109 штаммов микроорганизмов, выделенных от больных после первого курса лечения, к 14 антибактериальным препаратам (ампициллину, цефалексину, цефазолину, доксициклину, гентамицину, эритромицину, азитромицину, клиндамицину, пefлоксацину, ципрофлоксацину, ломефлоксацину, имепенему, метронидазолу и налидиксовой кислоте) выявлено значительное увеличение числа полирезистентных культур, выделенных от больных I группы, по сравнению со II группой (частота встречаемости полирезистентных штаммов бактерий была достоверно выше в 2 раза у больных I группы). Анализ частоты встречаемости антибиотикоустойчивых штаммов уреоплазм и других условно-патогенных микроорганизмов у больных I и II групп показал, что применение препарата «Кипферон-суппозитории» значительно снижало селекцию антибиотикорезистентных культур в процессе лечения у больных II группы, что, вероятно, связано как с более эффективной элиминацией возбудителей, так и с возможной блокировкой экспрессии генов антибиотикорезистентности у штаммов микроорганизмов при сочетанном применении антибиотиков и иммуномодулятора. Сравнительный анализ внутригрупповой чувствительности грибов рода *Candida* к противогрибковым препаратам выявил достоверно более высокую встречаемость устойчивости штаммов у больных I группы после лечения, по сравнению со второй ($p < 0,05$). Следовательно, при ассоциированной уреоплазменной инфекции антибактериальную терапию необходимо подбирать в зависимости от чувствительности не только *U. urealyticum*, но и сопутствующих микробов са-

теллитов. Одним из основных показателей колонизационной резистентности биотопа является чувствительность к противомикробным препаратам колонизирующей его условно-патогенной микрофлоры. Таким образом, предложенная методология оценки выраженности нарушений микробиоценоза влагалища позволяет судить о тяжести течения инфекционного процесса и прогнозировать его исход [50, 51].

Результаты исследований расширяют представления о антибиотикочувствительности и антибиотикорезистентности, а также молекулярно-генетических факторах их обуславливающих, как неотъемлемых составляющих биологических свойств микроорганизмов. Выдвинутая концепция о наборах факторов резистентности, присущих конкретным сообществам бактерий, в том числе - микробному сообществу организма человека, существенно дополняет данное представление. Динамика их изменений объективизирует последствия взаимодействия макро- и микроорганизма, а также течение инфекционного процесса. Генетические структуры резистентности могут быть переданы в микробную клетку в виде островка патогенности или возникнуть в ней в процессе онтогенеза. При передаче в микробную клетку генетических структур резистентности в 30% случаев они могут быть не активизированы и не приводят к проявлению микробной клеткой антибиотикорезистентности; онтогенетически возникшие островки патогенности могут обуславливать чувствительность микробной клетки к антибиотику, а их генетические мутации могут приводить к её антибиотикорезистентности. Одновременная оценка антибиотикорезистентности у патогенов, вызвавших инфекционный процесс, и у его сопровождающих условно-патогенных микроорганизмов позволяет конкретизировать исход заболевания. Положительный эффект от совместного применения антибиотика и иммуномодулятора может проявляться не только в повышении чувствительности микробной клетки к антибиотику, в снижении терапевтически эффективной дозы последнего, но и в торможении формирования антибиотикорезистентных штаммов.

Литература

1. Интерфероновый статус, препараты интерферона в лечении и профилактике инфекционных заболеваний и реабилитация больных. С.С. Афанасьев и др. М., Триада-Х; 2005, 767 с.

2. Hawkey P.M., Jones A.M. The changing epidemiology of resistance. *Antimicrob. Chemother.* 2009; 64. Suppl. 1:i3-10. doi: 10.1093/jac/dkp256.

3. Алёшкин А.В., Караулов А.В., Светоч Э.А. и др. Бактериофаги - пробиотические средства регуляции микробиоценозов и деконтаминации микроорганизмами продуктов питания, животных и растений. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2013; (3): 80-89.
4. Иммунобиологические препараты, перспективы применения в инфектологии. Г.Г. Онищенко, В.А. Алёшкин, С.С. Афанасьев, В.В. Поспелова (ред.). Москва, ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2002, 608 с..
5. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Смоленск: Макмах; 2007, 463 с.
6. Афанасьев С.С., Алёшкин В.А., Воробьёв А.А. и др. Влияние препаратов цитокинов на устойчивость бактерий к антибиотикам *in vitro*. Журн. микробиол. 2005; (3): 95-97.
7. Серебрянский Ю.Е., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А. и др. Проблемы цитокинотерапии инфекционных заболеваний. Москва; 2000, 106 с.
8. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биоплёнки и инфекции. Журн. инфектологии. 2010; 2(3): 4-15.
9. Brackman G., Cos P., Maes L. et al. Quorum sensing inhibitors increase the susceptibility of bacterial biofilms to antibiotics *in vitro* and *in vivo*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55(6): 2655-2660. doi: 1128/AAC.00045-11.
10. Чеботарь И.В. Биоплёнки *Staphylococcus aureus*: структурнофункциональные характеристики и взаимоотношения с нейтрофилами: Автореф. дисс... докт. мед. наук. Москва; 2013, 42 с.
11. Белобородов В.Б. Проблема антибактериальной терапии инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии с позиций доказательной медицины. *Consilium medicum.* 2002; 4(10): 31-38.
12. Сергеев А.Ю., Маликов В.Е., Жарикова Н.Е. Этиология вагинального кандидоза и проблема устойчивости к антимикотикам. М.: Национальная академия микологии, 2001; Вып. 4: 1-6.
13. Martinez J.A., Nicolas J.M., Marco F. et al. Comparison of antimicrobial cycling and mixing strategies in two medical intensive care units. *Crit. Care Med.* 2006; 34(2): 329-336. doi: 10.1097/01.CCM.0000195010.63855.45.
14. Smith D., Dushoff J., Perencevich E.N. Persistent colonization and the spread of antibiotic resistance in nosocomial pathogens - resistance is regional problem. *J. Population Biology.* 2004; 101(10): 3709-3714. doi: 10.1073/pnas.0400456101.
15. Дмитриенко О.А., Шагинян И.А., Прохоров В.Я. и др. Молекулярно-генетическое типирование метициллин-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных в стационарах различных регионов России и Беларуси. Журн. микробиол. 2005; (4): 46-52.
16. Сидоренко С.В., Резван С.П., Еремина Л.В. и др. Этиология тяжелых госпитальных инфекций в отделениях реанимации и антибиотикорезистентность среди их возбудителей. Антибиотики и химиотерапия. 2005; 2-3: 33-41.
17. Temmreman R. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 81(1): 1-10. doi:10.1016/S0168-1605(02)00162-9.
18. Внутрибольничные инфекции: пер. с англ. / под ред. Р.П. Венцела. Москва: Медицина; 1990, 656 с.
19. Брусина Е.Б., Рычагов И.П. Эпидемиология внутрибольничных гнойно-септических инфекций в хирургии. Новосибирск: Наука; 2006, 171 с.
20. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2011. / Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2011.
21. 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: P. 268-281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
22. Menne J., Nitschke M., Stingele R. et al. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ.* 2012; 345: e4565. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.e4565>
23. Rolain J.M., Parola P., Cornaglia G. New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clin. Microbiol. Inf.* 2010; 16(12): 1699-1701. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03385.x
24. Paterson DL, Doi Y. A step closer to extreme drug resistance (XDR) in gram-negative bacilli. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45(9): 1179-1181. doi: 10.1086/522287.
25. Nijssen S., Florijn A., Bonten M.J. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL – producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *J. Antimicrob. Agents.* 2004; 24: 585 - 591. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.08.008>
26. Sommer M.O.A., Dantas G., Church G.M. Functional Characterization of the Antibiotic Resistance Reservoir in the Human. *Microflora Sci.* 2009; 325: 1128-1131. doi: 10.1126/science.1176950.
27. Wright G.D. Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? *Curr. Opin. Microbiol.* 2010; 13: 589-594. doi: 10.1016/j.mib.2010.08.005.
28. Wright G.D. Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? *BMC Biol.* 2010; 8: 123. doi:10.1186/1741-7007-8-123.
29. Tumanen E.I., Mitchel T.J., Morrison D.A. et al. *The Pneumococcus.* Washington : D.C. ASM PRESS; 2004, 427 p.
30. WHO manual, 2nd edition. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* // WHO/IVB.11.09.-2011.
31. John C. Treatment failure with use a third-generation cephalosporin for penicillin-resistant pneumococcal meningitis: case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 1994; 18: 188-193. doi: 10.1093/clinids/18.2.188.
32. Leggiadro R.J. Penicillin-nonsusceptible *Pneumococcus*. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2000; 14: 123-127. doi:10.1016/S0924-8579(99)00171-5.
33. Козлов П.С. Пневмококки: прошлое, настоящее и будущее. Смоленск: Смоленская государственная медицинская академия; 2005, 128 с.
34. Leclercq R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34: 482-492. doi: 10.1086/324626.
35. Klugman KP. The successful clone: the vector of dissemination of resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Chemother.* 2002; 50(2): 1-5. doi: 10.1093/jac/dkf500.
36. Stokes H.W., Gillings M.R. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011; 35(5): 790-819. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00273.x.
37. Поздеев О.К., Фёдоров П.В. Энтеробактерии. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007, 719 с.
38. Kong Q., Beanan J.M., Olson R. et al. Biofilm formed by a hypervirulent (hypermucoviscous) variant of *Klebsiella pneumoniae* does not enhance serum resistance or survival in an *in vivo* abscess model. *Virulence.* 2012; 3: P. 309 - 318. doi: 10.4161/viru.20383.
39. Shon A.S., Bajwa R.P.S., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Virulence.* 2013; 4(2): 107-118. doi: 10.4161/viru.22718.

40. Pendleton J.N., Gorman S.P. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Gilmore Expert. Rev. Antiinfect. Ther.* 2013; 11(3): 297-308. doi: 10.1586/eri.13.12.
41. Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J. Infect. Dis.* 2008; 197(8): 1079-1081. doi: 10.1086/533452.
42. Moellering R.C.Jr. NDM-1- a cause for worldwide concern. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363(25): 2377-2379. doi: 10.1056/NEJMp1011715
43. Potron A., Poirel L., Rondinaud E., Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill.* 2013; 18(31): pii: 20549.
44. Baroud M., Dandache I., Araj G.F. et al. Underlying mechanisms of carbapenem resistance in extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates at a tertiary care centre in Lebanon: role of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2013; 41(1): 75-79. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.08.010.
45. Фурсова Н. К. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. Учебное пособие. Московской обл., Щёлково, ОнтоПринт; 2012, 248 с.
46. Станоевич Углеша. Системная антибактериальная терапия больных с распространённым гнойным перитонитом и абдоминальным сепсисом: Автореф. дис... канд. мед. наук. Москва; 2007, 22 с.
47. Слободенюк В.В., Воропаева Е.А., Алёшкин В.А. и др. Перспективы применения бактериофагов в профилактике и лечении нозокомиальных осложнений в хирургии. Материалы международной научно-практической конференции «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». Ульяновск: УГСХА им. П.А. Столыпина. 2013, Т. II: 68-73.
48. Борисова О.Ю., Алешкин А.В., Ивашишникова Г.А. и др. Чувствительность штаммов *Bordetella pertussis* к антибактериальным препаратам. *Детские инфекции.* 2013; 12(2): С. 46 - 50.
49. Воропаева Е.А. Антибиотикорезистентность и продукция гистамина у бактерий, изолированных из ротоглотки детей, страдающих бронхиальной астмой. *Антибиотики и химиотерапия.* 2002; 3: 19-23.
50. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Факторы резистентности и иммунитет при грибковых инфекциях кожи и слизистых оболочек. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2004; 1: 6-14.
51. Зверев В.В., Несвижский Ю.В., Воропаева Е.А. и др. Микробиология и гуморальный иммунитет слизистых открытых полостей человека в норме и при патологических состояниях. Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей. Москва-Астрахань; 2011, 80 с.

Сведения об авторах:

Афанасьев Станислав Степанович, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук, заместитель директора, тел. 8-903-667-20-68, E-mail: afanasievss409.4@bk.ru;

Караулов Александр Викторович, Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, кафедра клинической аллергологии и иммунологии, член-корреспондент РАМН, профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой клинической аллергологии и иммунологии, тел. 8-903-515-71-36, E-mail: drkaraulov@mail.ru;

Алешкин Владимир Андрианович, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор биологических наук, директор, тел. 8-985-998-01-22, E-mail: info@gabrich.com;

Воропаева Елена Александровна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, кандидат биологических наук, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, заведующая, тел. 8-916-532-03-22, E-mail: voropaeva2011@gmail.ru;

Афанасьев Максим Станиславович, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, кафедра клинической аллергологии и иммунологии, доктор медицинских наук, профессор, тел. 8-916-685-52-38, E-mail: mafa78@inbox.ru;

Несвижский Юрий Владимирович, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, профессор, доктор медицинских наук, декан медико-профилактического факультета, тел. 8-903-557-50-51, E-mail: nesviz@mail.ru;

Егорова Екатерина Александровна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, кандидат медицинских наук, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, старший научный сотрудник, тел. 8-916-594-69-89, E-mail: anaerob.lab@mail.ru;

Алешкин Андрей Владимирович, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, доктор биологических наук, МВА, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов, руководитель лаборатории, тел. 8-964-646-43-79, E-mail: ava@gabri.ru;

Метельская Валерия Алексеевна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, младший научный сотрудник, тел. 8-906-733-83-07, E-mail: revok.1972@mail.ru;

Гречишников Ольга Геннадьевна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, младший научный сотрудник, тел. 8-965-440-45-05, E-mail: grecha77@mail.ru;

Байракова Александра Львовна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, кандидат биологических наук, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, научный сотрудник, тел. 8-926-207-24-15, E-mail: alexandrabl@mail.ru;

Урбан Ю.Н., Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, заведующая, научный сотрудник, тел. 8-926-181-05-60, E-mail: urbanek@mail.ru

Евсегнеева Ирина Валентиновна, Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, кафедра клинической аллергологии и иммунологии, доктор медицинских наук, профессор, тел. 8-903-572-60-25, E-mail: evsegneeve@mail.ru;

Поступила 12.11.2014 г.