

2. Нарушение цитокиновой регуляции, проявляющееся повышенным уровнем ИЛ-6 и ФНО- α , влияет на регуляторную дезорганизацию иммунной системы, что уменьшает дифференцировку и активность цитотоксических Т-лимфоцитов и их участие в противовирусном и антибактериальном иммунитете.

Л и т е р а т у р а

1. Белозеров Е.С., Змушко Е.И. ВИЧ-инфекция. СПб.: Питер, 2003. 368 с.
2. Растворов А.А., Шарапова И.М., Скороходова Н.О. и др. // Дальневост. вестник дерматовенерологии, дерматокосметологии и сексопатологии. 2007. №1. С. 72-76.
3. Сячина Е.А., Плотнокова Ю.К., Передельская Г.И. // Журнал инфекционной патологии. 2003. Т.10, №4. С. 102-103.

4. Макашева Е.В., Морозова Е.В., Иванова Н.И. и др. // Иммунология. 2007. Т.28, №3. С. 132-134.
5. Смольникова М.В., Прокофьев В.Ф., Сизякина Л.П. // Цитокины и воспаление. 2002. Т.1, №1. С. 29-32.
6. Сахарова И.Я., Алешина Г.М., Вишневский Б.И. // Медицинская иммунология. 2004. Т.6, №3-5. С. 333-334.
7. Хонина Л.Б., Никонов С.Д., Шпилевский С.В. // Проблемы туберкулеза. 2000. №1. С. 30-32.
8. Borrow P., Evans C., Oldstone M. // S. Virol. 1995. Vol. 65, №2. P. 1059-1070.
9. de Martino M., Rossi M.E. // Pediatr. Res. 1998. Vol. 43. P. 752-758.
10. Ferbas J. // AIDS Res. Hum. Retrovir. 1998. Vol. 14, Suppl. 2. P. 153-160.
11. Saile Mih B., Ramodori F.J. Apoptosis // Mediana Viral Join. 2003. Vol. 69, №1. P. 50-58.



УДК 616.9 - 022.369 : 615.33 : 579.841.11

**В.Б. Туркутюков, В.Б. Шуматов, Э.В. Слабенко, Г.А. Смирнов,
В.Н. Краснощеков, В.П. Борзов, Л.М. Климова, Л.Н. Лебедева**

МОНИТОРИНГ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ *P. AERUGINOSA* — ВОЗБУДИТЕЛЯ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

*Владивостокский государственный медицинский университет,
г. Владивосток; Приморская противочумная станция,
г. Уссурийск; МУЗ «Городская клиническая больница №2»;
Краевая клиническая больница №1, г. Владивосток*

Среди различных подгрупп больных наиболее высокая летальность регистрируется при бактериемиях, достигая 50-60%, а при пневмониях, вызванных *P. aeruginosa*, — 70%. Частота же развития синегнойной инфекции во многом определяется нозологической структурой пациентов, тяжестью их исходного состояния, распространенностью инвазивных процедур, длительностью респираторной поддержки.

Клинически важной особенностью неферментирующих микроорганизмов является высокая частота их резистентности к различным классам антимикробных химиопрепаратов [5]. Сопоставление данных о частоте распространения антибиотикорезистентности среди штаммов *P. aeruginosa*, полученных в различных регионах, свидетельствует о значительной их вариабельности. Так, в Бельгии частота устойчивости *P. aeruginosa* к пиперациллин/тазобактаму, цефтазидиму и цефепиму

была на 20-30% ниже, а к имипенему — на 20% выше, чем в исследовании С.В. Сидоренко. с соавт. [1]. Наиболее активными антибиотиками оказались амикацин, пиперациллин/тазобактам и цефепим [7]. Среди штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в Северной Америке, частота устойчивости к карбапенемам была несколько ниже и составила 4,2% для меропенема и 12,5% для имипенема [6]. Такие выраженные колебания в распространении резистентности объясняются лишь принципиальными различиями в практике применения антибиотиков [1]. Следует иметь в виду, что длительное лечение тяжелых псевдомонадных инфекций антибиотиками разных групп может привести к формированию штаммов микроорганизма, устойчивых ко всем известным антипсевдомонадным препаратам [8].

В последнее время, несмотря на определенный прогресс в антибактериальной терапии тяжелых госпиталь-

ных инфекций, вызванных *P.aeruginosa*, частота неудач остается крайне высокой. Приведенные данные однозначно свидетельствуют о невозможности разработки универсальных рекомендаций по эмпирической терапии инфекций, вызванных *P.aeruginosa*, не учитывающих данных локального мониторинга антибиотикорезистентности.

Целью данного исследования стало изучение формирования и особенностей циркуляции резистентных к антибактериальным химиопрепаратам штаммов *P. aeruginosa*, возбудителей внутрибольничных инфекций, как важной составляющей в обеспечении эффективного инфекционного контроля за госпитальными инфекциями.

Материалы и методы

В работе были исследованы 66 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные от больных, находившихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) городской клинической больницы №2 (ГКБ №2) и краевой клинической больницы №1 (ККБ №1), из которых 27 — возбудители внутрибольничной пневмонии, 33 — возбудители раневых инфекций, и 6 были выделены у носителей. Исследованию также были подвергнуты и 12 штаммов *P.aeruginosa*, выделенных из объектов больной среды этих же стационаров.

Для реидентификации и получения изолированных колоний штаммов *P.aeruginosa* использовали среды: селективную среду с цетремидом и налидиксиновой кислотой (Sanofi Pasteur), среду *Pseudomonas Agar* (HiMedia).

Получение ДНК *P.aeruginosa* проводили методом экстракции фенолхлороформом (1:1) [4]. ПЦР проводилась по методике, описанной S. Finnan et al. (2004), и включало в себя следующие этапы: выделение ДНК, амплификацию, секвенирование и электрофоретическую детекцию результатов [3]. Каждый цикл амплификации включает в себя три температурных режима: денатурацию ДНК (92-94°C — 1 мин), отжиг праймеров (45-68°C — 0,5-2 мин), синтез комплементарной цепи (70-72°C — 1-3 мин). Параметры и число циклов амплификации соответствовали протоколам и характеристикам использованных праймеров.

В работе исследована чувствительность штаммов к имипенему, аминогликозидам и фторхинолонам, для чего были использованы праймеры к генам резистентности: *amrA*: 5'-CAT-CAG-CGA-ACG-CGA-CTA-CAC-CGA-AGC-G-3'; *gyrA*: 5'-AGT-CCT-ATC-TCG-ACT-ACG-CGA-T-3'; *gyrB*: 5'-TGC-GGT-GGA-ACA-GGA-GAT-GGG-CAA-GTA-C-3'; *imp*: 5'-GAA-GGG -GTT-TAT-GTT-CAT-AC-3' («СибЭнзим», Россия).

Результаты и обсуждение

В ходе исследования чувствительности к антибиотикам дискодиффузионным методом штаммов *P.aeruginosa*, выделенных от больных с различной нозокомиальной инфекционной патологией, был получен разнообразный фенотипический профиль исследованных культур (табл. 1).

Так, практически все группы антибиотиков, к которым оценивалась чувствительность, были не активными по отношению к большинству исследованных штаммов *P.aeruginosa*, исключение составил лишь имипенем, однако значительный рост числа штаммов с умеренной чувствительностью свидетельствует о процессах активного

Резюме

В последнее время частота неудач в терапии тяжелых госпитальных инфекций, вызванных *P.aeruginosa*, остается крайне высокой. Различия в интенсивности формирования и циркуляции штаммов *P.aeruginosa*, резистентных к антибиотикам, связаны с различиями в практике применения антибиотиков в различных стационарах. Полученные данные свидетельствуют о необходимости коррекции протоколов эмпирической антибиотикотерапии внутрибольничных пневмоний в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Результаты молекулярно-генетического типирования показали низкую эффективность дискодиффузионного метода, что явилось причиной необходимости изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом серийных разведений.

V.B. Turkutjukov, V.B. Shumatov, E.V. Slabenko,
G.A. Smirnov, V.N. Krasnoshchekov, V.P. Borzov,
L.M. Klimova, L.N. Lebedeva

MONITORING OF RESISTENCY TO ANTIBIOTICS OF *P.AERUGINOSA*, AGENTS OF INTRAHOSPITAL INFECTIONS

*Vladivostok state medical university, Vladivostok Seaside
противочумная station, Ussuriisk City clinical hospital №2;
Vladivostok Seaside regional clinical hospital №1, Vladivostok*

Summary

Despite of the certain progress in antibacterial therapy of the heavy hospital infections caused by *P.aeruginosa*, the frequency of failures remains to the highest. Distinctions in intensity of formation and circulation of *P. aeruginosa* resistant to antibiotics are connected to distinctions in a policy of application of antibiotics in various hospitals. The received data testify to necessity of correction of reports empirical antibiotic therapy of intrahospital pneumonias in departments of intensive therapy. Results of molecule genetic typing have shown the low efficiency of disk-diffusions method and prove the necessity of studying of sensitivity of microorganisms to antibiotics with method of serial delutions.

формирования механизмов резистентности. Такие штаммы микроорганизмов требуют увеличения дозы или кратности введения антибиотика, что не всегда возможно.

Сравнивая полученные данные с результатами проведенного Л.С. Страчунским с соавт. (2002) многоцентрового исследования в 1997-1999 гг., необходимо отметить, что полученные нами данные по частоте выявленной резистентности исследованных штаммов к гентамицину и имипенему были практически идентичными [2]. Однако чувствительные штаммы *P. aeruginosa* к ципрофлоксацину, цефтазидиму и к амикацину регистрировались реже.

С целью оценки достоверности полученных результатов было проведено исследование наличия генетически обусловленной резистентности у исследованных штаммов к *P.aeruginosa*. Так, у 20,3% из них был выявлен ген резистентности к имипенему *imp*, что полностью соответствует полученной фенотипической картине чувствительности к данному антибиотику (табл. 1).

Таблица 1

Резистентность к антибиотикам штаммов *P.aeruginosa*, выделенных при нозокомиальных инфекциях (n=78)

Антибиотики	Штаммы (%)		
	R	I	S
Гентамицин	62,5	37,5	0
Амикацин	53,1	37,5	9,4
Цефтазидим	43,8	43,8	12,4
Имипенем	20,0	60,0	20
Ципрофлоксацин	52,9	47,1	0

Примечание. R — устойчивые; I — умеренно чувствительные; S — чувствительные.

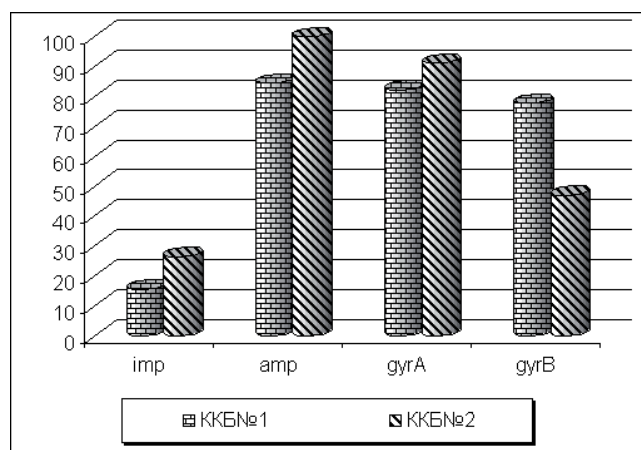
Таблица 2

Наиболее распространенные генотипы резистентности к антибиотикам штаммов *P.aeruginosa*, возбудителей внутрибольничных пневмоний (n=27)

Генотип резистентности	Число штаммов	%
ГКБ №2		
1 генотип: imp, amp A, gyrA, gyrB	3	17,6
2 генотип: imp, amp A, gyrB	0	0
3 генотип: imp, amp A, gyrA	2	11,8
4 генотип: amp A, gyr A, gyrB	5	29,4
5 генотип: amp A, gyr A	6	35,3
6 генотип: amp A	1	5,9
Внешняя среда ЛПУ		
1 генотип: imp, amp A, gyrA, gyrB	1	50
4 генотип: amp A, gyrA, gyrB	1	50
ККБ №1		
1 генотип: imp, amp A, gyrA, gyrB	2	20,0
2 генотип: imp, amp A, gyrB	0	0
3 генотип: imp, amp A, gyrA	0	0
4 генотип: amp A, gyrA, gyrB	7	70,0
5 генотип: amp A, gyrA	1	10,0
6 генотип: amp A	0	0
Внешняя среда ЛПУ		
1 генотип: imp, amp A, gyrA, gyrB	4	40,0
4 генотип: amp A, gyrA, gyrB	5	50,0
5 генотип: amp A, gyrA	1	10,0

Ген, обуславливающий резистентность к аминогликозидам, amp A выявлен у 91% штаммов, что значительно превышает данные, полученные дисконфузионным методом (табл. 1), что свидетельствует о почти трети ложноотрицательных результатов при проведении данного метода.

Несколько выше и число штаммов *P. aeruginosa*, у которых мутированы гены, кодирующие ДНК-гиразу (gyrA, gyrB), фермент, являющийся первичной мишенью для большинства хинолонов. Модификации этих генов (86,1 и 64,6% соответственно), выявленные в ходе исследования, обеспечивают механизмы резистентности к фторхинолонам у исследованных штаммов. Наличие таких мутаций в генах ДНК-гиразы приводит к повышению минимально



Частота выявления генов резистентности к антибиотикам у штаммов *P.aeruginosa*, возбудителей внутрибольничных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров

подавляющей концентрации антибиотика (МПК) в 4-8 раз, что обосновывает необходимость коррекции с целью повышения эффективности антимикробной химиотерапии.

Процессы формирования и циркуляции антибиотикорезистентных штаммов *P.aeruginosa* в ОРИТ многопрофильных стационаров имеют некоторые различия. Так, в ККБ №1 число штаммов *P. aeruginosa*, резистентных к имипенему, было минимальным (рисунок). Однако среди них выявлено значительное число штаммов, имеющих мутации генов, кодирующих ДНК-гиразу.

Среди культур *P. aeruginosa*, выделенных в ГКБ №2, все были не чувствительными к аминогликозидам, и в 1,7 раза чаще выявлялись штаммы, имевшие ген резистентности к имипенему, чем в ККБ №1. Частота обнаружения генов, обуславливающих резистентность к фторхинолонам, носит неравномерный характер. Так, ген gyrA выявлялся практически в два раза чаще, чем gyrB, свидетельствуя об интенсивных процессах формирования резистентности к хинолонам.

Определенный интерес представлял анализ распространения различных генотипов резистентности у штаммов *P.aeruginosa*, выделенных от больных с внутрибольничными пневмониями (ВП) в ОРИТ многопрофильных стационаров. Наиболее распространенные генотипы представлены в табл. 2.

Из полученных данных видно, что в ОРИТ стационаров циркулируют различные резистентные клоны *P.aeruginosa*. Так, из клинического материала от больных с ВП в ГКБ №2 таких клонов было выявлено 5, а в ККБ №1 — 3.

Особое беспокойство вызывает выделение первого генотипа *P.aeruginosa*, имеющего в своем составе гены резистентности (imp, ampA, gyrA, gyrB), которые обеспечивают устойчивость ко всем изученным антибиотикам. Возможность эффективной терапии ВП, вызванных такими штаммами, представляется сомнительной. Данный генотип представлен в близких показателях в ОРИТ обоих стационаров.

Второй и пятый генотипы *P.aeruginosa* были выявлены только в ОРИТ ГКБ №2, однако частота выявления этих вариантов различна, и они, по-видимому, клонально разнородны. Выделенные штаммы микроорганизма с объектов больничной среды отделения относились к 1 и 4 генотипам.

Особенностью генотиповой характеристики штаммов, выделенных от больных с внутрибольничной пневмонией в ОРИТ ККБ №1, является полное их совпадение со спектром резистентности *P.aeruginosa*, выделенных с объектов внешней среды отделения. Это имеет важное эпидемиологическое значение, так как позволяет предположить их участие в возникновении инфекционной патологии у пациентов отделения.

Разнообразие генотипов резистентности к антибактериальным препаратам характерно и для штаммов *P.aeruginosa*, выделенных от больных с раневыми инфекциями в области хирургического вмешательства, находившихся в ОРИТ стационаров. Так, в ГКБ №2 доминировал 5 вариант комплекса генов резистентности к антибиотикам (39,8%), несколько меньше регистрировались 4 (26,7%), 1 (13,4%) и 6 (6,7%).

В ОРИТ ККБ №1 среди генотипов резистентности значительно чаще выявлялся 4 вариант, обнаруженный у 77,9% исследованных штаммов *P.aeruginosa*, реже 1, 2 и 5 (11,1 и по 5,5% соответственно). Однако не встречались 3 и 6 генотипы резистентности.

Таким образом, в госпитальных условиях сформировались и циркулируют полирезистентные штаммы псевдомонад, что подтверждается и результатами изучения генотипов среди штаммов, выделенных с объектов больничной среды. Штаммы *P.aeruginosa*, возбудители внутрибольничных инфекций, по набору генов резистентности к изученным антипсевдомонадным антибиотикам, отнесенные к 1 и 4 геновариантам в ГКБ №2 и ККБ №1 являются госпитальными штаммами.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости коррекции протоколов эмпирической антибиотикотерапии у пациентов с внутрибольничными пневмониями и инфекциями в области хирургического вмешательства для каждого из стационаров.

Л и т е р а т у р а

1. Сидоренко С.В., Резван С.П., Стерхова Г.А. и др. Госпитальные инфекции, вызванные *Pseudomonas aeruginosa*. Распространение и клиническое значение антибиотикорезистентности. <http://science.rambler.ru/db/author.html?id=1002658>.
2. Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Рябкова Е.Л. и др. Рек. по антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в отделениях реанимации и интенсивной терапии: Пос. для врачей. Смоленск: Богрес, 2002. 20 с.
3. Finnan S., Morrissey J.P., O'Gara F. et al. // J.Clinical Microbiology. 2004, Vol. 42, № 12. P. 5783-5791.
4. Gamper M., Ganter B., Polito M.R. et al. // J.Mol. Biol. 1992. Vol. 226, P. 943-957.
5. Haley R.W., Culver D.H., White J.W. et al. // Am. J. Epidemiol. 1985. Vol. 121, P. 159-67.
6. Iaconis J.P., Pitrin D.H., Sheikh W. et al. // Clin. Infect. Dis. 1977. Vol. 24, Suppl. 2. P. 191-196.
7. Pierard D., Emmerechts K., Lauwers S. // J Antimicrob. Chemother. 1998. Vol. 41, P. 443-450.
8. Siegman-Igra Y., Ravona R., Primerman H. et al. // Intern. J. Infect Dis. 1998. Vol. 2, P. 211-215.



УДК 618.15 - 008.8 - 093/- 98 - 053.6

Е.С. Кулакова, Г.И. Чубенко, Е.В. Федулкина

СОСТАВ МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

МУЗ «Детская городская клиническая больница»; Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме микробной флоры влагалища, имеющей важное значение в формировании репродуктивного здоровья у детей и подростков. Известно, что наиболее частой причиной возникновения воспалительных заболеваний половой сферы являются различные инфекции, в том числе передаваемые половым путем [1, 2]. Среди факторов, вызывающих вос-

паление половых органов, инфекционные занимают первое место. В 70% случаев причиной инфекционного воспаления являются бактерии и грибы, в 20% — вирусы [3].

Целью исследования явилось изучение состояния микробиотоза влагалища у девочек-подростков с неспецифическими воспалительными заболеваниями различной природы и локализации.