

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2011

ВЫСОКАЯ БЕТА-ЛАКТАМАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МОКРОТЫ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР НЕУДАЧИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПНЕВМОНИЙ И ХОБЛ

ЖИЛЬЦОВ И.В.*, ВЕРЕМЕЙ И.С.*, СЕМЕНОВ В.М.*, ШАТАЛОВ С.Ю.***, КУРЬЯНОВИЧ А.В.***,
МАЛИНОВСКИЙ В.А.**

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
кафедра инфекционных болезней,*
УЗ «Витебская городская больница скорой медицинской помощи»,
эндоскопическое отделение***

Резюме. Нами разработана тест-система «БиоЛактам», позволяющая регистрировать уровень бета-лактамазной активности в биологических субстратах. В настоящем исследовании мы оценили принципиальную возможность определения бета-лактамазной активности мокроты при помощи тест-системы «БиоЛактам», а также выполнили анализ клинической значимости данного параметра. В результате было установлено, что разработанная нами тест-система может успешно использоваться для качественной и количественной оценки бета-лактамазной активности мокроты. Показано, что до 89% проб мокроты обладает бета-лактамазной активностью, отличной от нуля; при этом бета-лактамазная активность мокроты у больных пневмониями, ХОБЛ и раком легких значимо не различается. По крайней мере в некоторых случаях определенный вклад в суммарный уровень бета-лактамазной активности мокроты вносит ЧСА; влияние свойств ЧСА на результаты замеров можно устранить путем обработки проб мокроты взвесью гранул голубой сефарозы. Относительно высокая (более 20%) бета-лактамазная активность мокроты достоверно увеличивает вероятность неудачи стартовой эмпирической антибиотикотерапии бактериальных поражений бронхов и легких в 2,0-3,1 раза. В конечном итоге, тест-система «БиоЛактам» позволяет оценить наличие и уровень бета-лактамазной активности мокроты без обязательного этапа выделения из нее чистой культуры возбудителя.

Ключевые слова: *тест-система «БиоЛактам», бета-лактамазная активность, мокрота, антибактериальная терапия, бактериальные поражения легких.*

Abstract. We have designed the test system «BioLactam» which is capable of registering the level of beta-lactamase activity in biological substrates. In the present study we have evaluated the fundamental possibility of determining beta-lactamase activity of sputum using the test system «BioLactam», and also made an analysis of clinical significance of this parameter. As a result it has been revealed that our test system may be successfully used for qualitative and quantitative evaluation of beta-lactamase activity in sputum. Up to 89% of sputum samples possess beta-lactamase activity which is above zero; for all this, beta-lactamase activity of sputum in patients having pneumonia, chronic obstructive pulmonary diseases and cancer of the lungs doesn't differ reliably. At least in some cases human serum albumin contributes to the total level of beta-lactamase activity of sputum; this influence may be eliminated by the treatment of sputum samples with suspension of Blue Sepharose beads (Sigma cat. # R9903). Relatively high (above 20%) beta-lactamase activity of sputum reliably increases 2,0-3,1 times the probability of failure of starting empirical antibacterial treatment of bacterial lesions of bronchi and lungs. Ultimately, test system «BioLactam» enables us to evaluate the presence and the level of sputum beta-lactamase activity avoiding the mandatory step of obtaining pure culture of microbial agent from the sputum.

Адрес для корреспонденции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра инфекционных болезней, тел. 8 (0212) 24-33-46 – Жильцов И.В.

Бета-лактамы – семейство антибиотиков, включающее более 6 структурных разновидностей, каждая из которых содержит 2-ацетидиноновое кольцо. Они проявили необычайно высокую активность против широкого спектра бактериальных патогенов, обладая при этом низкой (если не нулевой) токсичностью для клеток млекопитающих. Принято считать, что антибиотики бета-лактаманной группы – самые удачные антибактериальные препараты с начала эры антибиотиков [1]. Устойчивость бактерий к бета-лактаманным антибиотикам и ингибиторам бета-лактамаз – непрерывно растущая проблема. За последние 60 лет частота и уровень устойчивости бактерий к данному классу антибиотиков неуклонно возрастали, вплоть до настоящего момента, когда многие полагают, что бета-лактамы вскоре окажутся неспособными бороться с тяжелыми бактериальными инфекциями [2]. Считается, что основным механизмом возрастающей резистентности бактерий к данному классу антибактериальных препаратов является врожденная либо приобретенная способность продуцировать бета-лактамазы – ферменты, способные гидролизовать эндоциклическую пептидную связь в бета-лактаманых антибиотиках [3, 4, 5]. Выявление факта продукции бета-лактамаз болезнетворными бактериями и оценка их способности гидролизовать ключевые антибиотики бета-лактаманного ряда лежит в основе способа коррекции антибактериальной терапии, широко применяемого в практике работы соматических и инфекционных стационаров. Для этого обычно используют диско-диффузионный метод либо (гораздо реже) метод Е-тестов либо серийных разведений в агаре [6]. Тем не менее, перечисленные методы бактериологического анализа имеют, наряду с достоинствами, и серьезные недостатки. Так, считающийся наиболее точным и обладающий наилучшей воспроизводимостью метод серийных разведений в агаре отличается высокой стоимостью, значительной сложностью проведения, большим расходом реагентов и лабораторной посуды, строгими требованиями к качеству питательных сред

и соблюдению рекомендованных способов их приготовления, а также значительной продолжительностью собственно анализа. Метод Е-тестов прост в исполнении, но наборы реагентов для него чрезвычайно дороги. В свою очередь, диско-диффузионный метод позволяет получить удовлетворительную воспроизводимость результатов только при условии соблюдения достаточно строгих рекомендованных условий тестирования и приготовления расходных материалов [7, 8], что на практике приводит к существенным различиям в результатах данного анализа, получаемых на идентичном материале в разных лабораториях. Более того, постоянно встает вопрос о сопоставимости данных, полученных с использованием разных методов анализа антибиотикоустойчивости. Важным является и то, что отнюдь не всегда сотрудникам бактериологических лабораторий удается выделить из биологического материала чистую культуру возбудителя заболевания, даже при наличии типичной клинической картины и четкого эпидемиологического анамнеза; без чистой же культуры нельзя выполнить ни один из вышеперечисленных методов анализа.

С целью упрощения, ускорения и удешевления процедуры анализа устойчивости микроорганизмов к бета-лактаманым антибиотикам, а также унификации получаемых результатов нами разработана тест-система «Био-Лактам». Указанная тест-система позволяет количественно оценивать уровень «суммарной» бета-лактаманной активности в биологических жидкостях (сыворотке крови, спинномозговой жидкости, моче, слюне), а также в биологических субстратах, из которых можно приготовить прозрачный фильтрат (в частности, в мокроте), независимо от факта выделения чистой культуры возбудителя заболевания из данного биологического материала.

Соответственно, целью настоящего исследования была оценка принципиальной возможности определения бета-лактаманной активности мокроты при помощи тест-системы «БиоЛактам», а также анализ клинической значимости данного параметра.

Методы

Образцы мокроты (всего 163) были получены при фибробронхоскопии, проводимой больным с бронхолегочной патологией в процессе планового обследования в эндоскопическом отделении БСМП г. Витебска. Из 163 больных, включенных в исследование, у 124 была диагностирована пневмония, у 45 – ХОБЛ, у 23 – рак легких, у 6 был выявлен саркоидоз, у 3 – ТЭЛА. У многих больных была выявлена комбинированная патология, т.е. одновременное наличие пневмонии и ХОБЛ (26 случаев), пневмонии и рака легких (5 случаев), а также ХОБЛ и рака легких (5 случаев). Среди обследованных лиц преобладали мужчины ($n=127, 77,9\%$); соответственно женщин в группе было 36 (22,1%). Средний возраст больных составил 57,9 лет (95% ДИ: 55,6...66,3). Среднетяжелое течение заболевания наблюдалось у 149 больных (91,4%), тяжелое – у 14 (8,6%); случаев легкого течения выявлено не было. Средний срок госпитализации больных, включенных в исследование, составил 14,8 суток (95% ДИ: 12,4...17,3). Диагностика пневмонии и определение степени тяжести патологического процесса производилось в соответствии с действующими нормативными документами Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Собранная при фибробронхоскопии мокрота сохранялась при -20°C . Предварительно производилось стандартное бактериологическое исследование мокроты на базе бактериологической лаборатории ВОКИБ в соответствии с приказом МЗ СССР №535 от 22 апреля 1985 г. [9]. Все выделенные изоляты микроорганизмов были протестированы на предмет устойчивости к ампициллину, цефотаксиму и амоксициллин/клавуланату, что должно было позволить нам зафиксировать продукцию бета-лактамаз вообще, и БЛРС – в частности. Для этого был использован диско-диффузионный метод [6].

Непосредственно перед экспериментом все пробы мокроты были одновременно заморожены; пробирки с образцами мокроты 1) выдерживались в ультразвуковой ванне в те-

чение 30 минут при 37°C с целью дезинтеграции плотных комочков мокроты и гноя и перехода их содержимого в раствор; 2) интенсивно встряхивались на вортексе в течение 5 минут до полного перемешивания содержимого, и 3) центрифугировались при 12.000 об/мин в течение 5 минут. По окончании центрифугирования отделялся прозрачный надосадок, который использовался в дальнейших исследованиях, вязкая же часть мокроты (осадок) аннулировалась. В случае, если объем прозрачного надосадка был слишком мал, в пробирку добавлялось 0,5 мл стерильного физиологического раствора хлорида натрия, после чего процесс обработки повторялся с пункта 2.

В основе функционирования тест-системы «БиоЛактам» лежит хроматографическая методика, базирующаяся на изменении окраски синтетического антибиотика цефалоспоринового ряда нитроцефина при распаде его бета-лактамной связи. При этом происходит батохромный сдвиг в хромофорной системе молекулы, и окраска реакционной смеси меняется с желтой на красно-оранжевую. Максимум поглощения продукта реакции меняется с 390 нм на 486 нм, что и делает возможным спектрофотометрическую детекцию. Показано, что нитроцефин разрушается всеми известными бета-лактамазами [10]. Для экспериментов мы использовали химически чистый нитроцефин производства Calbiochem (кат. № 484400). Бета-лактамазная активность оценивалась в % распада стандартного количества нитроцефина, вносимого в каждую пробу.

Статистический анализ результатов исследования производился при помощи аналитических пакетов Statistica 8.0 и SPSS 19.

В качестве показателей центральной тенденции значений изучаемых признаков использовали среднее арифметическое (M) и/или медиану (Me) с указанием 95% доверительного интервала. При необходимости охарактеризовать разброс значений какого-либо признака указывали его минимальное и максимальное значения, а также первый и третий квартили. Уровень достоверности нулевой гипотезы (p) для принятия решения о значимости

полученных результатов во всех тестах был принят равным или менее 0,05. Для выявления корреляционных взаимосвязей мы использовали метод ранговых корреляций Спирмена, для подтверждения достоверности различий изучаемых признаков в независимых выборках – U-тест Манна-Уитни или медианный тест (при попарном сравнении переменных) либо дисперсионный анализ Краскела-Уоллеса (при одновременном сравнении переменных в 3 и более выборках).

Оценка эффективности диагностических методик определялась при помощи ROC-анализа с построением ROC-кривых и расчетом «отсечных» значений бета-лактамазной активности, соответствующих оптимальному сочетанию чувствительности и специфичности метода. Для данных вычислений мы использовали программу MedCalc 10.2.

Результаты и обсуждение

Средний уровень выявленной нами бета-лактамазной активности мокроты составил 13,0% (95% ДИ: 10,5...15,5), медиана уровня активности – 7,3% (95% ДИ: 5,7...9,4). Минимальный выявленный уровень активности был равен 0, максимальный – 83,4%.

При анализе центральных показателей и дисперсии бета-лактамазной активности образцов мокроты больных пневмониями (n=124), декомпенсированным ХОБЛ (n=19) и раком легких (n=18) оказалось, что ни медианы уровня активности, ни межквартильный размах, ни диапазоны разброса значений активности в трех указанных подгруппах значительно не различаются, что подтверждается тестом Краскела-Уоллеса (p=0,97) и медианным тестом (p=0,78).

Корреляционный анализ показал, что уровень бета-лактамазной активности мокроты прямо коррелирует с продолжительностью лихорадочного периода (R=0,177, p=0,024, n=163); данная корреляция является слабой, однако отражает определенную тенденцию. Кроме того, были обнаружены прямые корреляции между уровнем бета-лактамазной активности мокроты и фактом назначения антибиотиков резерва (R=0,235, p=0,003, n=163),

а также фактом назначения антибиотиков резерва бета-лактамазного ряда (R=0,287, p<0,0001, n=163). При проведении аналогичного корреляционного анализа в подгруппе больных пневмониями (n=91) данные зависимости проявились более отчетливо: коэффициент корреляции уровня бета-лактамазной активности мокроты с фактом назначения антибиотиков резерва составил 0,322 (p=0,002), а с фактом назначения антибиотиков резерва бета-лактамазного ряда – 0,286 (p=0,006). Более того, в данной подгруппе были выявлены также прямые корреляции уровня бета-лактамазной активности мокроты с числом замен схем антибактериальной терапии (R=0,231 при p=0,027), а также с фактом назначения антибиотиков резерва, не относящихся к бета-лактамам (R=0,214 при p=0,042).

Необходимо отметить, что бета-лактамами антибиотиками резерва в составе стандартных схем антибактериальной терапии, принятых в БСМП г. Витебска, по факту являлись имипенем, цефепим и амоксициллин/клавуланат, а в качестве препаратов резерва, не относящихся к бета-лактамному ряду, использовались левофлоксацин и доксициклин.

Соответственно, ясно прослеживается тенденция, согласно которой, высокий уровень бета-лактамазной активности мокроты у больных с бактериальными инфекциями дыхательных путей соответствует сниженной эффективности проводимой таким больным антибактериальной терапии с применением бета-лактаменных препаратов первой линии, а также более частому появлению необходимости назначения антибиотиков резерва, включая бета-лактаменные препараты, устойчивые к большинству бета-лактамаз (карбапенемы, цефалоспорины 4-го поколения, ингибитор-защищенные препараты), а также антибиотики резерва, не относящиеся к группе бета-лактамов. С целью углубленного изучения данной тенденции нами был предпринят факторный анализ клинико-лабораторных данных в подгруппе больных с пневмониями.

В результате оказалось, что значительная (73,2%) часть анализируемой выборки отчетливо подразделяется на три неодинаковых группы:

1) группа 1 – характеризуется высокой бета-лактамазной активностью мокроты, средним возрастом больных, средней продолжительностью госпитализации и лихорадочного периода, но крайне высокой ($R=0,95$) частотой назначения антибиотиков резерва, включая как бета-лактамы препараты, так и антибиотики из других фармакологических групп;

2) группа 2 – отличается средним возрастом больных, большой длительностью госпитализации, высоким максимальным уровнем лихорадки и значительной продолжительностью лихорадочного периода, при этом у них отмечался средний уровень бета-лактамазной активности мокроты, а антибактериальные препараты резерва обоих типов назначались лишь изредка;

3) группа 3 – характеризуется низкой бета-лактамазной активностью мокроты, пожилым возрастом больных, а также небольшой продолжительностью госпитализации и лихорадочного периода; антибиотики резерва этим больным не назначались практически никогда.

Таким образом, результаты выполненного ранее корреляционного анализа подтверждаются данными, полученными на том же материале с применением факторного анализа: группа больных пневмониями неоднородна – в ней выделяется подгруппа больных с высокой бета-лактамазной активностью мокроты и низкой эффективностью стартовой антибактериальной терапии, что вынуждает лечащих врачей назначать сильнодействующие антибиотики резерва почти всем таким пациентам. Замена антибактериальной терапии у этих больных явно эффективна, поскольку данная подгруппа характеризуется средней продолжительностью госпитализации и лишь незначительной тенденцией к удлинению лихорадочного периода ($R=0,32$). Логично предположить, что высокая бета-лактамазная активность мокроты и низкая эффективность стартовой антибактериальной терапии у таких больных – это причина и следствие.

Частотный анализ распределения значимого уровня бета-лактамазной активности мокроты показал, что оно сильно смещено впра-

во, т.к. большая часть проб мокроты не обладает значимой бета-лактамазной активностью. В то же время четко выделяется небольшая группа образцов мокроты, обладающих высокой (более 20%) бета-лактамазной активностью; количество данных проб не превышает 30, и они составляют 18,4% от всей выборки (95% ДИ: 12,5...24,4). Естественно предположить, что данные пробы мокроты получены от больных, заболевание у которых было вызвано возбудителями, продуцирующими значительное количество бета-лактамаз, вследствие чего терапия бета-лактамами антибиотиками у таких пациентов могла быть малоэффективной.

Для подтверждения указанного предположения нами был проведен анализ достоверности различий клинико-лабораторных показателей, характеризующих тяжесть течения заболевания и эффективность проводимой антибактериальной терапии, между подгруппами пациентов с высокой и низкой бета-лактамазной активностью мокроты. Для этого использовался U-тест Манна-Уитни. Полученные в процессе сравнения результаты приведены в таблице 1.

Из материалов, представленных в таблице, определенно следует, что относительно высокая (более 20%) бета-лактамазная активность мокроты соответствует приблизительно удвоенной вероятности неуспеха антибактериальной терапии, что выражается в повышенной частоте замен схем терапии, более частом назначении антибиотиков резерва, включая сильнодействующие бета-лактамы препараты (карбапенемы, цефалоспорины 4-го поколения, ингибитор-защищенные бета-лактамы), а также в большем количестве суммарно назначенных за время стационарного лечения антибиотиков.

Для некоторых показателей из перечисленных в таблице 1 (тех, где характеризуемый признак может находиться только в двух взаимоисключающих состояниях: он либо есть, либо полностью отсутствует) можно вычислить отношение рисков (risk ratio, RR [11]), а также доверительные интервалы для него. Вычисленные нами значения RR приведены в таблице 2.

Таблица 1

Достоверность различий клинико-лабораторных показателей, характеризующих тяжесть течения заболевания и эффективность проводимой антибактериальной терапии, между подгруппами пациентов с высокой и низкой бета-лактамазной активностью мокроты (U-тест Манна-Уитни)

Показатель	Подгруппа 1 (бета-лактамазная активность мокроты < 20%), n=133 M (95% ДИ)	Подгруппа 1 (бета-лактамазная активность мокроты ≥ 20%), n=30 M (95% ДИ)	Достовер- ность раз- личий, p
Количество смен антибактериальной терапии	1,9 (1,8...2,0)	2,3 (2,1...2,5)	0,0019
3 и более смены антибактериальной терапии	0,1 (0,05...0,15)	0,3 (0,13...0,47)	0,0035
Вероятность назначения антибиотиков резерва, %	18,0 (11,4...24,7)	36,7 (18,4...55,0)	0,025
Вероятность назначения антибиотиков резерва из группы бета-лактамов, %	11,3 (5,8...16,7)	26,7 (9,9...43,5)	0,029
Общее количество назначенных антибиотиков	3,4 (3,2...3,6)	3,9 (3,6...4,3)	0,013
Всего назначено 5 и более антибиотиков	0,14 (0,08...0,19)	0,30 (0,13...0,47)	0,029

Таблица 2

Значения отношения рисков (RR) для некоторых показателей, характеризующих эффективность антибактериальной терапии, проводимой пациентам с бактериально-воспалительными поражениями бронхов и легких

Показатель	Risk Ratio	95% ДИ
3 и более смены антибактериальной терапии	3,07	1,45...6,51
Факт назначения антибиотиков резерва	2,03	1,12...3,68
Факт назначения антибиотиков резерва из группы бета-лактамов	2,36	1,10...5,06
Всего назначено 5 и более антибиотиков	2,22	1,11...4,44

Данные, приведенные в таблице 2, полностью подтверждают сделанные нами ранее выводы: относительно высокая (более 20%) бета-лактамазная активность мокроты достоверно увеличивает вероятность неудачи стартовой эмпирической антибактериальной терапии, проводимой пациентам с бронхолегочными заболеваниями, в 2,0-3,1 раза. Нижний предел доверительных интервалов всех рассчитанных нами отношений рисков превышает единицу, что указывает на высокую статистическую значимость результатов вычислений.

Согласно результатам проведенных нами ранее экспериментов, человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), содержащийся в биологической жидкости, может обусловить наличие в ней бета-лактамазной активности, определяемой по распаду нитроцефина [12, 13]. Для того, чтобы оценить влияние ЧСА на уровень бета-лактамазной активности мокроты, мы обработали 17 проб мокроты с наиболее высокой активностью взвесью гранул голубой сефарозы (пр-ва Sigma, кат. № R9903), способных избирательно абсорбировать ЧСА из раствора. В результате оказалось, что в 5

пробах мокроты из 17 (29,4%) уровень бета-лактамазной активности после обработки не изменился, а в оставшихся 12 (70,6%) – снизился в среднем на 23,6 процентных пункта (п.п.), причем указанная разница была статистически значима (ранговый знаковый тест, $p=0,0015$); в целом же бета-лактамазная активность мокроты после обработки голубой сефарозой значимо не изменилась (снизилась на 7,8 п.п., $p=0,14$).

Таким образом, можно утверждать, что по крайней мере в некоторых образцах мокроты наличие ЧСА вносит определенный вклад в суммарный уровень выявляемой бета-лактамазной активности; влияние свойств ЧСА на результаты замеров можно устранить путем обработки проб мокроты взвесью гранул голубой сефарозы.

При бактериологическом исследовании мокроты в 60 образцах из 163 (36,8%) был выделен бета-гемолитический стрептококк группы А, в 6 случаях (3,7%) – *S. pneumoniae*, в 1 случае (0,6%) – *E. coli*, в 4 случаях (2,5%) – *K. pneumoniae*, в 1 случае (0,6%) – *P. aeruginosa*; из 91 образца мокроты (55,8%) не было выделено патогенной микрофлоры. Таким образом, более чем в половине случаев при наличии у пациентов клинически и лабораторно очевидной бактериальной патологии бронхолегочной системы возбудитель из мокроты не был выделен, что свидетельствует о неадекватности методов бактериологического обследования, используемых лабораторной службой. Более того, значительную часть (83,3%) выделенной микрофлоры составляет бета-гемолитический стрептококк группы А – условно-патогенный возбудитель, обитающий в ротовой полости и, реже, в верхних дыхательных путях больных и здоровых лиц. В этой связи не приходится удивляться тому, что корреляционный анализ не выявил значимой зависимости между уровнем бета-лактамазной активности мокроты и фактом высева из соответствующих образцов мокроты патогенной микрофлоры, устойчивой к бета-лактамам антибиотикам. При этом 66 из 72 обнаруженных возбудителей (91,7%) оказались устойчивы к ампициллину (т.е.,

возможно, данные изоляты продуцируют какие-либо бета-лактамазы), 6 (8,3%) – к цефотаксиму (что указывает на продукцию БЛРС соответствующими возбудителями), и лишь 1 (1,4%) – к оксациллину (что является свидетельством наличия у данного штамма метициллинорезистентности).

Заключение

1. Тест-система «БиоЛактам» может успешно использоваться для качественной и количественной оценки бета-лактамазной активности мокроты.

2. До 89% (95% ДИ: 84,2...93,8) проб мокроты обладает бета-лактамазной активностью, отличной от нуля.

3. Бета-лактамазная активность мокроты у больных пневмониями, ХОБЛ и раком легких значимо не различается.

4. По крайней мере в некоторых случаях ЧСА вносит определенный вклад в суммарный уровень бета-лактамазной активности мокроты; влияние свойств ЧСА на результаты замеров можно устранить путем обработки проб мокроты взвесью гранул голубой сефарозы.

5. Относительно высокая (более 20%) бета-лактамазная активность мокроты достоверно увеличивает вероятность неудачи стартовой эмпирической антибиотикотерапии бактериальных поражений бронхов и легких в 2,0-3,1 раза.

6. Тест-система «БиоЛактам» позволяет оценивать наличие и уровень бета-лактамазной активности мокроты без обязательного этапа выделения из нее чистой культуры возбудителя заболевания.

Литература

1. Perez-Llarena, F.J. Beta-lactamase inhibitors: the story so far / F.J. Perez-Llarena, G. Bou // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16, №28. – P. 3740-3765.
2. Abeylath, S.C. Drug delivery approaches to overcome bacterial resistance to beta-lactam antibiotics / S.C. Abeylath, E. Turos // *Expert. Opin. Drug. Deliv.* – 2008. – Vol. 5, №9. – P. 931-949.
3. Rolinson, G.N. Evolution of beta-lactamase inhibitors / G.N. Rolinson // *Rev. Infect. Dis.* – 1991. – Vol. 13, Suppl. 9. – P. S727-S732.

4. Sawai, T. Mechanisms of bacterial resistance to beta-lactams by beta-lactamases / T. Sawai // *Nippon Rinsho*. – 1997. – Vol. 55, №5. – P. 1225-1230.
5. Trehan, I. Inhibition of AmpC beta-lactamase through a destabilizing interaction in the active site / I. Trehan, B.M. Beadle, B.K. Shoichet // *Biochemistry*. – 2001. – Vol. 40, №27. – P. 7992-7999.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 10th informational supplement // NCCLS Document M100-S9. – 1999. – P. 141-156.
7. Решедько, Г.К. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом / Г.К. Решедько, О.У. Стецюк // *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия*. – 2001. – Том 3, №4. – С. 348-354.
8. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology / J. Vandepitte [et al.] // Geneva: World Health Organization (WHO). – 1991. – P. 121.
9. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 22.04.85 №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» // Сайт «BestPravo.ru – Законодательство России» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://bestpravo.ru/fed1991/data03/tex14204.htm>. – Дата доступа: 14.08.2011.
10. Novel method for detection of b-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate / H.C. Callaghan [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 1972. – Vol. 1, №4. – P. 283-288.
11. Kirkwood, B. Essentials of Medical Statistics. 2nd edition / B. Kirkwood, J. Sterne // Wiley-Blackwell. – 2001. – P. 512.
12. Исследование природы бета-лактамазной активности сыворотки крови человека / И.В. Жильцов [и др.] // Сборник материалов конференции «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (65-я научная сессия сотрудников ВГМУ, 24-25 марта 2010 г.). – Витебск. – 2010. – С. 189-192.
13. Природа бета-лактамазной активности сыворотки крови / И.В. Жильцов [и др.] // *Материалы Первого конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням. Журнал инфектол.* – 2010. – Том 2, №4. – С. 67-68.

*Поступила 25.07.2011 г.
Принята в печать 02.09.2011 г.*

