

научно обоснованные профилактические, диагностические и оздоровительные технологии, направленные на снижение распространенности нарушений минерального гомеостаза у детей и подростков.

#### Литература

1. Агаджанян Н.А., Скальный А.В. *Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека*. - М.: Изд-во КМК, 2001.
2. Боев В.М. // *Гигиена и санитария*. — 2002. — № 5. — С. 3-8.
4. *Иммунофармакология микроэлементов* / А.В. Кудрин, А.В. Скальный, А.А. Жаворонков и др. — М.: Изд-во КМК, 2000.
3. Копытько М.В., Шагова М.В., Алешко-Ожневский Ю.П. и др. // *Педиатрия*. - 2000. - № 6. - С. 21-25.
5. Кудрин А.В. // *Международ. мед. журн.* — 1998. — № 11-12. - С. 1000-1006.
6. *Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология* / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. — М.: Медицина, 1991.
7. *О санитарно-эпидемиологической обстановке в г. Владивостоке в 2002 году: доклад*. — Владивосток: Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора в городе Владивостоке, 2003.
8. Скальный А.В. *Эколого-физиологическое обоснование эффективности использования макро- и микро-*

*элементов при нарушениях гомеостаза у обследуемых из различных климато-географических регионов: автореф. дис... д-ра мед. наук.* — М., 2000.

9. Смоляр В.И. *Гипо- и гипермикроэлементозы человека*. — Киев: Здоров'я, 1989.
10. Bieger W.P. // *Clinical Lab.* - 1996. - Vol. 42. - P. 243-255.
11. Golow A.A., Kwaansa-Ansah E.E. // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* - 1994. - Vol. 53, No. 3. - P. 325-331.
12. Rivai I.F. // *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* — 2001. - Vol. 66, No. 4. - P. 443-448.

Поступила в редакцию 08.12.05.

#### PREVALENCE, RISK FACTORS AND FORECASTING OF THE MINERAL DYSBALANCE IN CHILDREN

L. V. Trankovskaya, V.N. Luchaninova  
Vladivostok State Medical University

*Summary* — With the purpose of studying of the epidemiology of the mineral dysbalance in children and teenagers — inhabitants of the modern industrial center — authors examined 1450 almost healthy residents of Vladivostok in the age of 3 — 16 years. The method of the atom-absorption spectrometry was used to evaluate the rate of Pb, Cd, Cr, Mn, Cu, Zn, Fe, Ca, Mg. The prevalence of surplus and deficiency of mineral substances is investigated. With the help of the step-by-step discriminant analysis the risk factors of the element homeostasis dysbalance are investigated and the algorithm of the forecast of changes of the element status is developed.

*Pacific Medical Journal*, 2006, No. 2, p. 22—25.

УДК 576.851.214:616.24-002-085.33

В.Б. Туркутюков, В.А. Невзорова, И.М. Мартыненко,  
А.В. Мартынова

## АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММОВ ПНЕВМОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Владивостокский государственный медицинский университет

*Ключевые слова:* внебольничная пневмония, пневмококки, антибиотикорезистентность.

Самой распространенной формой пневмококковой инфекции является инфекция нижних дыхательных путей, а именно — внебольничная пневмония [1, 15]. Внебольничная пневмония до сих пор является заболеванием с высокими показателями летальности, частым развитием осложнений и довольно дорогостоящим лечением. Преобладающим причинным фактором внебольничной пневмонии (от 30 до 60% случаев) остается *Streptococcus pneumoniae* [2, 9, 10]. С микробиологической точки зрения актуальность данного возбудителя можно объяснить постоянной гено- и фенотипической изменчивостью широко представленных вирулентных свойств и персистентных харак-

теристик, к числу которых относится и устойчивость к антибактериальным препаратам [6].

Резистентность *S. pneumoniae* к антибактериальным препаратам резко возросла и начала привлекать пристальное внимание с начала 90-х годов XX века [4, 7]. В некоторых регионах мира встречается до 35% пневмококков, имеющих промежуточную резистентность к пенициллину. Полирезистентные штаммы впервые были обнаружены на юге Африки [2], затем в Испании (около 60% от исследуемого количества). В настоящее время полирезистентные штаммы пневмококка выявляются во многих странах, их количество может достигать 25% от всех выделяемых штаммов.

Особую важность в изучении резистентности микроорганизмов имеет выявление механизмов ее формирования. Так, механизм резистентности к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам и цефалоспорином) связан с изменением пенициллинсвязывающих белков [8]. У *S. pneumoniae* обнаружены шесть подобных высокомолекулярных белков, изменение трех из них приводит к повышению минимальной подавляющей концентрации (МПК) пенициллина, причем степень изменения пенициллинсвязывающих белков коррелирует с величиной МПК [8, 14]. Согласно литературным данным, цефалоспорины (цефотаксим и цефтриаксон) имеют большую активность против пенициллиноустойчивых *S. pneumoniae*, что объясняется их большим

сродством к различным пенициллинсвязывающим белкам [4, 5].

Пенициллинрезистентность является своего рода сигналом мультирезистентности пневмококка. Во многих случаях штаммы *S. pneumoniae* с пониженной чувствительностью к пенициллину обладают перекрестной устойчивостью и к другим антибиотикам. К таким препаратам относятся эритромицин, макролиды нового поколения (азитромицин, кларитромицин), клиндамицин, доксициклин и другие тетрациклины, ко-тримоксазол. По данным общероссийского мультицентрового исследования, *S. pneumoniae* сохраняет чувствительность к пенициллину в 90,5% случаев. Частота распространения резистентности к макролидам составляет 6,2%, к клиндамицину — 1,9%, к хлорамфениколу — 3,6%. Изученная популяция *S. pneumoniae* имеет высокий уровень резистентности к тетрациклину и ко-тримоксазолу — соответственно 34,2 и 37,8% [5]. По данным исследований в Японии и Корее, с каждым годом все больше увеличивается количество макролидрезистентных штаммов пневмококка, что становится главной проблемой терапии инфекций нижних дыхательных путей для всего Дальневосточного региона.

Резистентность пневмококков к макролидам у 75% штаммов связана с наличием механизма усиленного выброса (эффлюкса) антибиотика из клетки. Ответственные за этот процесс белки кодируются плазмидными генами, представителем которых является *mefE* и *mefA*. У 25% штаммов резистентность связана с изменениями в рибосомах. В последнем случае они опосредуются ферментами метилазами, гены которых — чаще всего *ermB* и *ermA* — локализуются на плазмиде [3,4]. Наличие эффлюкса приводит к резистентности со значением МПК 1–32 мкг/мл, а нарушение в рибосомах — к высокому уровню резистентности — МПК >64 МКГ/МЛ [5, 13].

Для *S. pneumoniae* характерна низкая природная активность ранних фторхинолонов (ципрофлокса-

цину, пefлоксацину), тем не менее в последние годы отмечено увеличение частоты выявления штаммов, резистентных к ним, хотя пока, согласно последним исследованиям, сохраняется чувствительность пневмококков к новым фторхинолонам [11, 12].

Таким образом, на практике резистентность к антибактериальным препаратам является основной проблемой в выборе рациональной антибактериальной терапии. В связи с вышеприведенными данными необходимо изучение антибиотикорезистентности пневмококка для получения сведений о локальном уровне устойчивости основного возбудителя внебольничной пневмонии и возможного пересмотра схем антибиотикотерапии при этом заболевании.

Целью настоящего исследования явилось определение структуры резистентности к антибактериальным препаратам штаммов пневмококков, выделенных у пациентов внебольничной пневмонией.

Материалом для микробиологического анализа послужила индуцированная мокрота пациентов внебольничной пневмонией, находившихся на лечении в пульмонологическом отделении Городской клинической больницы № 1 Владивостока. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводилось на 21 штамме *S. pneumoniae* стандартными методами. Первым этапом явился дискодиффузионный метод на чашках с агаром Мюллер-Хинтона с добавлением дефибринированной бараньей крови. Затем МПК определяли макро- и микрометодом с помощью серийных разведений в бульоне Мюллер-Хинтона согласно требованиям Национального комитета по клиническому лабораторному стандарту США (National Committee for Clinical Laboratory Standards — NCCLS). Интерпретацию данных также осуществляли в соответствии с критериями NCCLS. Для оценки чувствительности дискодиффузионного метода использовали диски с амоксициллином/клавуланатом, цефтриаксоном, эритромицином, кларитромицином, азитромицином, ципрофлоксацином, пefлоксацином,

Таблица 1

Резистентность штаммов пневмококков

Антибиотик	Ч, %	УР, %	Р, %	Диапазон МПК, мг/л
Пенициллин	95,2	4,8	0	0,003-0,08
Амоксициллин	95,2	4,8	0	0,004-0,256
Амоксициллин/клавуланат	100,0	0	0	0,004-0,12
Цефтриаксон	100,0	0	0	0,008-0,128
Кларитромицин	47,6	23,8	28,6	0,03-64
Эритромицин	19,0	0	80,9	0,008-64
Азитромицин	33,3	0	66,6	0,03-64
Клиндамицин	57,1	0	42,9	0,008-8
Тровафлоксацин	57,2	14,3	28,6	0,015-8
Тетрациклин	28,6	23,8	47,6	0,03-64
Триметоприм/сульфаметоксазол	23,8	23,8	52,4	0,06-32
Хроламфеникол	66,6	0	33,3	0,5-16
Рифампицин	100,0	0	0	0,12-2
Линезолид	100,0	0	0	0,12-1,5
Ванкомицин	100,0	0	0	0,03-0,5

Примечание: Ч — чувствительные, УР — умеренно-резистентные, Р — резистентные штаммы.

левофлоксацином и ванкомицином. Для определения МПК антибактериальных препаратов применяли двойные серийные разведения химически чистых субстанций антибиотиков: пенициллина, амоксициллина, амоксициллина/клавуланата, цефтриаксона, эритромицина, кларитромицина, азитромицина, клиндамицина, trovafloксацина, тетрациклина, хлорамфеникола, триметоприма/сульфаметоксазола, рифампицина, линезолида, ванкомицина. Методом полимеразной цепной реакции определялись гены резистентности к макролидам (*mefE*, *mefA*, *ermB*, *ermA*) и фторхинолонам (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*).

По данным дискодиффузионного метода процент чувствительных штаммов к амоксициллину/клавуланату составил 95,2%. Цефотаксим и цефтриаксон обладали одинаково высокой 100% чувствительностью в отношении исследуемых штаммов. Процент макролидрезистентных штаммов пневмококков составил: к эритромицину — 23,8%, к азитромицину — 9,5%. Умеренно-резистентные штаммы к вышеуказанным макролидам встречались в единичных случаях (по 4,8%). К кларитромицину резистентных и умеренно-резистентных пневмококков не выявлено. Ранние фторхинолоны показали низкую активность против *S. pneumoniae*. Так, к ципрофлоксацину резистентными оказались 71,4% пневмококков, и все штаммы были резистентны к пefлоксацину. В отношении респираторных фторхинолонов резистентности не отмечено. Чувствительность к спарфлоксацину и левофлоксацину равнялась 100%. Все исследуемые штаммы пневмококков сохраняли 100% чувствительность к ванкомицину.

Таким образом, по данным дискодиффузионного метода все штаммы пневмококков сохраняли 100% чувствительность к цефалоспорином III поколения, респираторным фторхинолонам, кларитромицину и антибиотику резерва ванкомицину. Высокая чувствительность (95,2%) наблюдалась к амоксициллину/клавуланату. Отмечалась низкая активность ципрофлоксацина по отношению к *S. pneumoniae* и отсутствие активности пefлоксацина (табл. 1).

Анализ резистентности пневмококков методом серийных разведений показал, что резистентных к пенициллину с МПК > 2 мг/л и к амоксициллину с МПК > 8 мг/л штаммов не было. В единичных случаях выделены умеренно-резистентные пневмококки к пенициллину и амоксициллину. Все исследованные штаммы оказались чувствительными к амоксициллину/клавуланату. Резистентных *S. pneumoniae* к амоксициллину/клавуланату с МПК > 8/4 мг/л не найдено. Цефтриаксон обладал высокой активностью в отношении исследованных штаммов пневмококков со значением МПК<sub>90</sub> = 0,03 мг/л. Резистентных штаммов к цефалоспорином III поколения не найдено.

В целом макролиды обладали низкой антипневмококковой активностью. Уровень резистентности варьировал в пределах от 53,3 до 80,9%. Резистентность к эритромицину была наибольшей и составляла 80,9%. К азитромицину были нечувствительны до 66,6% ис-

следованных штаммов. К эритромицину и азитромицину умеренно-резистентных *S. pneumoniae* не выявлено. Кларитромицин, согласно литературным данным, как макролид с наибольшей активностью в отношении *S. pneumoniae* и предпочтительным фармакокинетическим профилем [3, 13], имел большую активность. К кларитромицину выявлено 28,6% высокорезистентных и 24,7% умеренно-резистентных штаммов. По значениям МПК<sub>90</sub> в порядке убывания активности исследованные препараты можно расположить следующим образом: азитромицин, эритромицин, кларитромицин.

К клиндамицину были чувствительны более половины штаммов пневмококков (57,2%). К тетрациклину, триметоприму/сульфаметоксазолу и хлорамфениколу было устойчиво большинство штаммов *S. pneumoniae*. К тетрациклину и триметоприму/сульфаметоксазолу нечувствительными оказались 71,4 и 76,2% штаммов соответственно. Из них 47,6% штаммов были высокорезистентны к тетрациклину и 53,4% — к триметоприму/сульфаметоксазолу. Резистентность к хлорамфениколу определена в 33,3% случаев. У шести штаммов пневмококков (28,6%) МПК trovafloксацина составила от 4 до 8 мг/л, что говорит о формировании устойчивости к респираторным фторхинолонам. Все исследованные пневмококки оказались чувствительными к линезолиду, рифампицину и препарату резерва ванкомицину.

Из вошедших в исследование пневмококков 13 (61,9%) обладали полирезистентностью — устойчивостью к трем и более классам антибиотиков. Все полирезистентные штаммы сохраняли 100% чувствительность к амоксициллину/клавуланату, линезолиду, рифампицину, ванкомицину и цефтриаксону.

Таким образом, методом серийных разведений не было выявлено пенициллинрезистентных пневмококков. Согласно нашим данным, *S. pneumoniae* сохраняет высокую чувствительность к амоксициллину/клавуланату, цефтриаксону, линезолиду, рифампицину и ванкомицину. Тем не менее по сравнению с данными дискодиффузионного метода выявлена более высокая резистентность к макролидам. Определена устойчивость 28,6% штаммов пневмококков к респираторному фторхинолону — trovafloксацину.

Высокий показатель резистентности к макролидам и фторхинолонам послужил поводом для определения генов антибиотикорезистентности. Методом полимеразной цепной реакции выявлены 18 штаммов (85,7%), имевших гены резистентности к макролидам и фторхинолонам, из них 11 оказались монорезистентными. Обнаружено 7 мультирезистентных штаммов, имевших два или три гена резистентности. Гены *mefE* и *mefA* к 14- и 15-членным макролидам выделены в 23,8% наблюдений. У 47,6% штаммов обнаружены гены *ermB* и *ermA*, обуславливающие резистентность к 16-членным макролидам и линкосамидам. Гены резистентности к ранним фторхинолонам (*gyrA* и *gyrB*) имели 33,3% штаммов, и гены резистентности к респираторным фторхинолонам (*parC*, *parE*) — 28,6% (табл. 2, 3).

**Таблица 2**  
Монорезистентные гены к макролидам и фторхинолонам

Гены резистентности	Кол-во	
	абс.	%
mefE	0	0
mefA	0	0
ermB	5	23,8
ermA	0	0
gyrA	2	9,5
gyrB	1	4,8
parC	0	0
parE	3	14,3

**Таблица 3**  
Мультирезистентные гены к макролидам и фторхинолонам

Гены резистентности	Кол-во	
	абс.	%
mefA + gyrB	1	4,8
mefE + ermB	1	4,8
ermB + gyrA	1	4,8
ermB + parE	1	4,8
mefA + gyrB + parE	1	4,8
mefA + ermB + gyrB	1	4,8
mefE + ermB + parE	1	4,8

Таким образом, сравнительный анализ результатов дискодиффузионного метода и метода серийных разведений, подтвержденный полимеразной цепной реакцией, показал субъективность дискодиффузионного метода. Его использование возможно в клинических микробиологических лабораториях в качестве скринингового метода. Полимеразной цепной реакцией подтвержден высокий уровень резистентности исследованных штаммов пневмококков к макролидам, отсутствие пенициллинрезистентных *S. pneumoniae* и наличие резистентности к ранним и антипневмококковым фторхинолонам.

## ВЫВОДЫ

1. Дискодиффузионный метод позволяет лишь косвенно судить о величине минимальной подавляющей концентрации антибактериальных препаратов.
2. Для наибольшей точности и информативности в определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам необходимо использовать метод серийных разведений.
3. Клинически значимые пневмококки не обладают резистентностью к бета-лактамам (пенициллину, амоксициллину, амоксициллину/клавуланату, цефтриаксону), что дает возможность использовать их для этиотропной терапии внебольничной пневмонии.
4. Большое количество макролидрезистентных штаммов диктует необходимость ограничения использования их в эмпирической терапии внебольничной пневмонии, а назначать в случае подозрения на наличие атипичной флоры.

5. Полученные гены резистентности у 28,6% пневмококков свидетельствуют о формировании устойчивости к респираторным фторхинолонам.

## Литература

1. Авдеев С.Н. // *Русский медицинский журнал*. — 2001. — Т. 9, №5. — С. 177-182.
2. Бачинская Е.Н. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2000. — Т. 45, № 11. — С. 21-28.
3. Буданов С.В., Васильев А.Н. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2004. — Т. 49, № 2. — С. 19-25.
4. Грудинина С.А., Сидоренко С.В., Федорчук В.В. и др. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2004. — Т. 49, № 4. — С. 25-33.
5. Козлов Р.С., Кречикова О.И., Сивая О.В. и др. // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. — 2002. — Т. 4, № 3. — С. 267-277.
6. Новиков Ю.К. // *Русский медицинский журнал*. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 11-16.
7. Сидоренко С.В. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1999. — Т. 44, № 12. — С. 19-21.
8. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. // *Русский медицинский журнал*. — 1997. — Т. 5. — С. 1367-1381.
9. Синопальников А.И. // *Consilium Medicum*. — 2004. — Т. 6, № 4. — С. 238-245.
10. Синопальников А.И. // *Врач*. — 2002. — № 3. — С. 29-31.
11. Синопальников А.И., Фесенко О.В. // *Российские медицинские вестн*. — 1998. — № 3. — С. 69— 74.
12. Страчунский Л.С. // *Клиническая фармакология и терапия*. — 2000. — Т. 9, № 2. — С. 6-9.
13. Яковлев В.П., Хлебников Е.П., Павлова М.В., Гаранина Т.А. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 2000. — Т. 45, № 11. — С. 34-42.
14. Barlett J., Breiman R., Man dell L., File T. // *Clin. Inf. Dis.* — 1998. — Vol. 26. — P. 811-838.
15. *Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy and prevention* // *American Journal Respir. Crit. Care Med.* — 2001. — Vol. 163. — P. 1730-1754.

Поступила в редакцию 15.12.05.

## THE ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PNEUMOCOCCI STAINS FROM THE PATIENTS WITH HOME PNEUMONIA

V.B. Turkutyukov, V.A. Nevzorova, I.M. Martynenko, A. V. Martynova

Vladivostok State Medical University

**Summary** — The method of serial cultivations is used to investigate the resistency to antibacterial agents of 21 pneumococci stains cultivated of induced spit of pneumonia patients. Streptococcus pneumoniae had high sensitivity to amoxicilline/clavulanate, ceftriaxone, linezolid, rifampycin, and vancomycin. Macrolides had low antipneumococcal activity. 28.6% of the pneumococci stains were resistant to trovafloxacin. The method of polymerase chain reaction in 71.6% of cases could determine the genes of resistency mefE, mefA, ermB and ermA to macrolides and in 61.9 % of cases — genes gyrA, gyrB, parC and pare to ftorchinolones.