



В. К. ОКУЛИЧ, А. А. КАБАНОВА, С. А. СЕНЬКОВИЧ,
Ф. В. ПЛОТНИКОВ

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ГОСПИТАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА, ОБРАЗУЮЩИХ БИОПЛЕНКУ

Витебский государственный
медицинский университет

Цель исследования. Определить резистентность к антибиотикам (АБ) изолятов *S. aureus*, способных формировать биопленку (БП).

Материал и методы. В ходе проведенного исследования изучали свойства *S. aureus* ATCC 6538, а также 57 клинических изолятов. Определяли минимальную подавляющую концентрацию АБ (помефлоксацин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин, цефалексин, цефотаксим, амикацин, ванкомицин, тигециклин) для планктонных форм бактерий и бактерий в составе БП.

Результаты. Выявлено, что представители *S. aureus* формировали биопленку в 65% случаев (37 изолятов).

При изучении чувствительности бактерий в составе БП выявлено, что МПК₉₀ изученных АБ увеличилась в 2,5—300 раз по сравнению с планктонными формами *S. aureus*. Изоляты *S. aureus* в составе биопленки оказались наиболее чувствительны к тигециклину — 100% чувствительных изолятов. Менее чувствительны изоляты в составе БП к фторхинолонам: ципрофлоксацин — 86%, левофлоксацин — 64%, моксифлоксацин и помефлоксацин — по 43%. В значительной степени снизилась чувствительность микроорганизмов в составе БП по сравнению с планктонными формами к амикацину (со 100% до 36% чувствительных изолятов) и ванкомицину (со 100% до 0% чувствительных изолятов). Такая же тенденция наблюдалась у цефалексина и цефотаксима — соответственно с 79% до 14% и с 72% до 28% чувствительных изолятов.

Заключение. Определение чувствительности бактерий в составе БП к антибактериальным препаратам необходимо для назначения рациональной антибактериальной терапии пациентам с хирургической инфекцией, а также с целью разработки протоколов эмпирической антибактериальной терапии. Изоляты *S. aureus* в составе БП наиболее чувствительны к тигециклину (100%) и представителю фторхинолонов — ципрофлоксацину (86%).

Ключевые слова: резистентность, микробная биопленка, антибиотики.

ВОЗ признает борьбу с устойчивостью к противомикробным препаратам одной из приоритет-

ных проблем современного здравоохранения [1]. Формирование и распространение в стационарах устойчивых к антимикробным препаратам (в том числе к дезинфицирующим средствам) вариантов бактерий являются основными причинами вспышек нозокомиальных инфекций [2, 3]. Осуществление мониторинга резистентности к антибактериальным средствам клинически значимых микроорганизмов — неотъемлемое звено системы инфекционного контроля во всех странах, где реализуется стратегия по сдерживанию распространения резистентности микробов к антибактериальным средствам [1, 4, 5].

По данным исследований последних лет, бактерии рода *Staphylococcus* являются одними из доминирующих патогенов в этиологической структуре внутрибольничных инфекций [2, 4, 6]. Широкое и часто бесконтрольное использование антимикробных препаратов в медицинской практике способствует возникновению генетически измененных устойчивых вариантов бактерий [3, 7, 8].

Недостаточная эффективность проводимого лечения хирургической инфекции в определенной мере объясняется наличием у микроорганизмов действенных механизмов защиты от внешних повреждающих факторов. Повсеместное применение в медицинской практике антибактериальных препаратов широкого спектра действия способствует селекции резистентной флоры. В последнее десятилетие изучению механизмов выживания бактерий придается особое значение.

В настоящее время многие микробиологи признали, что большинство микроорганизмов в естественных и искусственно созданных окружающих средах существуют в виде структурированных, прикрепленных к поверхности сообществ — биопленок (БП) [5]. Биопленка — микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфических генов [6].

БП является сложной трехмерной биологической структурой высшей организации жизнедеятельности микробов, в чем-то напоминающей многоклеточный организм, обладающий очень важной особенностью — успешное противостоя-

ние внешним факторам агрессии. С помощью конфокальной сканирующей лазерной микроскопии установлено, что структура БП не является гомогенным монослоем микробных клеток [7]. Ее матрикс состоит из смеси полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот и других веществ. Бактериальные экзополисахариды — главный компонент матрикса БП, который некоторые авторы называют также гликокаликсом или слизистым чехлом. Основным его компонентом является связанная вода. Все биопленки высоко гидратированы, некоторые до 73% состоят из внеклеточного материала, включая водные каналы и экзополисахариды. У большинства видов экзополисахаридный матрикс состоит из альгината и является преимущественно анионным. Матрикс является трехмерной структурой, которая окружает, закрепляет и защищает прикрепленные к различным поверхностям микроколонии бактерий [8].

Характерное свойство всех микроорганизмов в составе БП — их поразительная устойчивость к физическим и биохимическим воздействиям, в том числе антибиотикорезистентность (АБ-резистентность) [9]. Несмотря на то что этот феномен признан много лет, его биологическое обоснование до сих пор до конца не объяснено. В пределах БП могут происходить физиологические изменения, включающие реакцию общего стресса, закрытие ключевых метаболических процессов и индукцию защитных механизмов [10]. Популяция клеток в составе БП гетерогенна, содержит быстро- и медленно растущие бактерии. Ряд из них устойчивы к антибиотикам (АБ) за счет экспрессии инактивирующих ферментов, другие не экспрессируют подобные факторы. Общая резистентность зависит от взаимодействия между целой популяцией клеток и терапией, направленной против мультиклеточного сообщества.

Клетки бактерий в БП имеют сложную полиморфную организацию с определенной цитоархитектоникой, выявляются клетки с сильно измененной морфологией, мертвые клетки [11]. Многоуровневая топография влияет на метаболизм и физиологическую активность клеток. Периферические слои более аэрированы по сравнению с центральными, где образуются благоприятные условия для анаэробов [12]. Сниженный метаболизм микроорганизмов в БП ведет к развитию АБ-резистентности, так как антибактериальные препараты наиболее эффективны в отношении метаболически активных клеток [13].

Исследования показали, что β -лактамы антибиотиков деактивируются в поверхностных слоях БП значительно быстрее, чем проникают че-

рез матрикс БП, сформированных β -лактамазопозитивными *Klebsiella pneumoniae*. Положительно заряженные молекулы аминогликозидов притягиваются к негативно заряженным полимерам матрикса, снижая скорость их проникновения, что дает время бактериям выработать адаптивный стрессовый ответ. Исследования показали, что скорость проникновения аминогликозидов через матрикс БП значительно снижалась из-за связи с внеклеточным альгинатом, однако затем в значительной степени восстанавливалась при добавлении альгинатлиазы. Отмечено, что слизь, полученная из БП, значительно снижает активность гликопептидов, даже по отношению к планктонным формам [14].

Применявшийся для лечения инфекций, вызванных *S. aureus*, пенициллин стал также первым препаратом, к которому быстро развилась устойчивость. Модифицированным антибиотиком, призванным игнорировать появление у стафилококков пенициллиназ (1959), явился метициллин. Однако уже через 3 года появились устойчивые к метициллину штаммы (*methicillin-resistant S. aureus* — *MRSA*). Установлено, что *MRSA* вышли за пределы больниц, превратившись в патоген окружающей среды с повышенной вирулентностью и трансмиссивными характеристиками (*CA-MRSA*). На генетическом уровне резистентность стафилококка связана с наличием так называемого *mec*-комплекса в составе стафилококковой хромосомной кассеты *mec* (*staphylococcal cassette chromosome mec* — *SCCmec*). Основными компонентами *mec*-комплекса являются структурный ген *mecA*, кодирующий синтез дополнительного пенициллиназосвязывающего белка ПСБ2а, обладающего низкой афинностью к β -лактамам антибиотикам (пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы); *mec1* и *mecR1* — регуляторные элементы, контролирующие транскрипцию *mecA*, а также *mec*-ассоциированные ДНК. За развитие метициллинрезистентности непосредственно отвечает *mecA*. Ситуация с распространением *MRSA* при внебольничных инфекциях остается малоизученной. Однако очевидно, что *CA-MRSA* представляют серьезную проблему для клинической медицины. Существует также вероятность увеличения циркуляции полирезистентных штаммов *MRSA* в амбулаторных условиях как вследствие распространения нозокомиальных возбудителей за пределы лечебных учреждений, так и при приобретении внебольничными *MRSA* детерминант резистентности к антибактериальным препаратам других групп [15, 16].

Резистентные к метициллину стафилококки помимо устойчивости к β -лактамам антибиотикам за счет изменения клеточной стенки могут быть резистентны к фторхинолонам, аминогликозидам, макролидам, рифампицину. В стационарах, где MRSA приобрели мультирезистентность, эффективность антибактериальной терапии существенно снижена. В этих случаях гликопептидные антибиотики (ванкомицин, тейкопланин) являются препаратами выбора для лечения инфекций, вызванных резистентными стафилококками. Терапевтическая эффективность гликопептидов существенно снижается в тех случаях, когда требуется высокая пенетрационная способность антибиотика (инфекции ЦНС, остеомиелит, эндокардит). При эндокардите или других ангиогенных инфекциях область поражения миокарда либо инородное тело в кровотоке немедленно покрываются пленкой, состоящей из фибрина и фибринектина. В случае бактериемии БП быстро колонизируется стафилококками, при этом сами стафилококки принимают участие в ее росте, формируя очаг инфекции и условия для последующего гематогенного распространения.

Цель исследования — определить резистентность к антибиотикам изолятов *S. aureus*, способных формировать биопленки.

Материал и методы

В ходе проведенного исследования изучены свойства *S. aureus* ATCC 6538, а также 57 клинических изолятов, полученных в микробиологической лаборатории РНПЦ «Инфекция в хирургии» (РНПЦИХ). Забор микробиологического материала проводили в ожоговом, реанимационном и в отделении гнойной хирургии Витебской областной клинической больницы в 2011—2014 гг.

Для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) для планктонных форм бактерий использовали метод серийных разведений в жидкой питательной среде. С целью определения МПК для бактерий в составе БП последнюю формировали в полистироловом планшете. Эмпирически выявлено, что при использовании разработанного метода [17] в лунке формируется БП с концентрацией $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Затем готовили раствор антибиотика в бульоне Мюллера—Хинтона в 11 последовательных разведениях. В 11 лунок планшета с БП вносили по 200 мкл раствора АБ в последовательных разведениях. Отрицательным контролем служила 12-я лунка планшета с БП. Планшет с БП и АБ инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 ч. В лунках планше-

та визуально определяли наличие роста. Минимальное разведение АБ, при котором не наблюдается рост бактерий, является МПК данного антибиотика для бактерий в составе БП.

Для определения толщины БП с помощью световой микроскопии готовили ее препарат. Для этого делали взвесь микроорганизмов в бульоне Мюллера—Хинтона с плотностью 0,5 ед. опт. плот., определенной с помощью денситометра, что соответствует концентрации микроорганизма $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. В чашку Петри с покровным стеклом вносили 1 мл микробной взвеси и 10 мл бульона Мюллера—Хинтона и инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 ч. Затем стекло осторожно извлекали из чашки Петри, высушивали при комнатной температуре. В результате формировалась БП микроорганизмов на покровном стекле. Затем его фиксировали к предметному стеклу бесцветным лаком. Препарат обрабатывали аэрозольным фиксатором и высушивали 20—30 мин. БП окрашивали в течение 15 мин смесью насыщенного водного раствора Конго красного и 10% Твин 80, промывали проточной водой и высушивали. В течение 6 мин окрашивали 10% карболовым фуксином, повторно промывали проточной водой и высушивали. Далее готовили микроскоп к определению толщины БП. Под объектив 100 без иммерсии светового микроскопа «Leica DFC 295» при увеличении $\times 1000$ устанавливали камеру Горяева, заполненную красителем Конго красным. Определяли точки фокусировки сверху и снизу, отмечая при этом показатели на микровинте микроскопа. Вычисляли разность между высшей и низшей точками фокусировки. При использовании иммерсионного объектива необходимо учитывать индекс рефракции, равный 1,33. Вычисляли цену деления микровинта по высоте камеры Горяева, равной 0,1 мм. Под объектив помещали приготовленный препарат окрашенной БП. Определяли точки фокусировки сверху и снизу, отмечая при этом показатели на микровинте микроскопа, вычисляли разность. Умножали цену деления на разность точек фокусировки препарата и определяли толщину БП.

Для изучения эффективности применения антибактериальных препаратов сравнивали МПК антибиотиков для планктонных форм бактерий и микроорганизмов в составе БП. Определяли МПК_{90} — минимальную подавляющую концентрацию антибиотика для 90% исследованных штаммов и МПК_{50} — минимальную подавляющую концентрацию антибиотика для 50% исследованных штаммов. В качестве критериев чувствительности изолята к АБ использовали рекомендации

Европейского комитета по тестированию анти-микробной резистентности (EUCAST).

Полученные данные подвергали статистической обработке с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 Advanced и Microsoft Excel. Перед использованием методов описательной статистики определяли тип распределения количественных признаков с использованием критерия Шапиро—Уилка. При распределении признака, отличном от нормального, вычисляли медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й квартили (UQ). Корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического метода Спирмена. Значение коэффициента корреляции $r=0,7—0,99$ расценивали как сильную корреляцию, $0,3—0,69$ — корреляцию средней силы, $0—0,29$ — слабую. Различия признавались статистически значимыми при $P<0,05$.

Результаты и обсуждение

В 2014 г. в микробиологической лаборатории РНПЦИХ у пациентов отделения гнойной хирургии выделены 293 изолята *S. aureus*, из которых 31,7% составляли MRSA, у пациентов ожогового отделения — 196 изолятов, из которых 79,9% — MRSA. С помощью разработанных методов культивирования и исследования микробных БП изучены свойства 57 клинических изолятов (из них 40,35% MRSA), выделенных у пациентов РНПЦИХ, а также стандартного штамма *S. aureus* ATCC 6538.

При изучении частоты встречаемости способности формировать БП выявлено, что представители *S. aureus* образовывали ее в 65% случаев (37 изолятов).

При изучении результатов измерения толщины микробных БП обнаружено, что изоляты *S. aureus* формировали ее с толщиной матрикса $56,0 \pm 2,3$ мкм. Большое количество межклеточного матрикса и, соответственно, значительная толщина БП могут

существенно препятствовать проникновению анти-септиков и АБ к бактериям в составе БП, что приводит к снижению чувствительности микроорганизма к антибактериальным препаратам.

При использовании стандартных методов определения резистентности к АБ изоляты *S. aureus* оказались наиболее чувствительны к ванкомицину, тигециклину, амикацину (100% чувствительных изолятов), а также к фторхинолонам: моксифлоксацин, левофлоксацин — по 100% чувствительных изолятов, ципрофлоксацин — 93%, ломефлоксацин — 86%. Несколько большая резистентность обнаружена к антибактериальным препаратам цефалоспоринового ряда. Так, чувствительность к цефалексину составила 79%, к цефотаксиму — 72%. Результаты представлены в табл. 1.

Изоляты *S. aureus* в составе БП оказались наиболее чувствительными к тигециклину — 100% чувствительных изолятов, менее чувствительны изоляты в составе БП к фторхинолонам: ципрофлоксацин — 86%, левофлоксацин — 64%, моксифлоксацин и ломефлоксацин — по 43%. В значительной степени снизилась чувствительность микроорганизмов в составе БП по сравнению с планктонными формами к амикацину (со 100% до 36% чувствительных изолятов) и ванкомицину (со 100% до 0% чувствительных изолятов). Такая же тенденция наблюдалась для цефалексина и цефотаксима — чувствительность микроорганизмов в составе БП снизилась по сравнению с планктонными формами с 79% до 14% и с 72% до 28% чувствительных изолятов соответственно. Результаты представлены в табл. 2.

При изучении чувствительности бактерий в составе БП выявлено, что МПК₉₀ изученных АБ увеличилась в 2,5—300 раз по сравнению с планктонными формами *S. aureus*. Результаты представлены на рисунке.

Таблица 1

Чувствительность клинических изолятов планктонных форм *S. aureus*

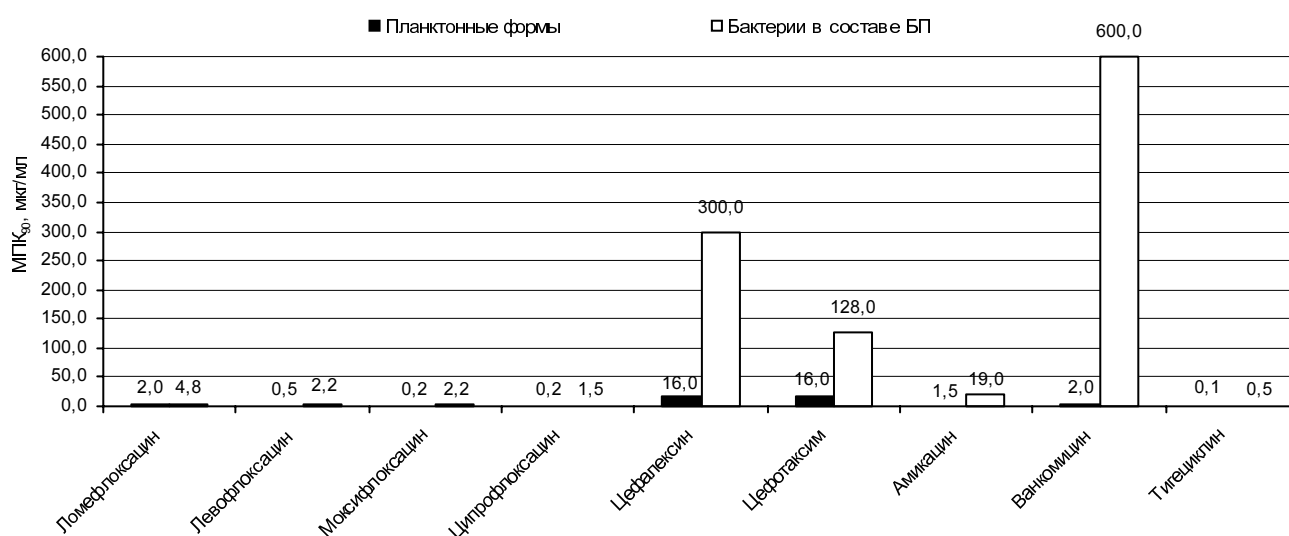
АБ	S, %	I, %	R, %	МПК ₅₀ , мкг/мл	МПК ₉₀ , мкг/мл	Среднегеометрическая МПК, мкг/мл	Min/max	Квартили
Ломефлоксацин	86	7	7	0,5	2,0	0,48	0,1/5,0	0,2; 1,0
Левофлоксацин	100	0	0	0,1	0,5	0,15	0,05/0,5	0,1; 0,5
Ципрофлоксацин	93	0	7	0,1	0,2	0,15	0,05/8,0	0,1; 0,2
Моксифлоксацин	100	0	0	0,1	0,2	0,134	0,1/0,2	0,1; 0,2
Цефалексин	79	0	21	0,5	16,0	1,05	0,25/16,0	0,25; 8,0
Цефотаксим	72	0	28	1,0	16,0	2,2	0,5/32,0	1; 16,0
Амикацин	100	0	0	1,0	1,5	1,06	0,4/8,0	0,8; 1,5
Ванкомицин	100	0	0	1,0	2,0	0,9	0,5/2,0	0,5; 2,0
Тигециклин	100	0	0	0,05	0,05	0,022	0,01/0,05	0,01; 0,05

Примечание. Здесь и в табл. 2: S — чувствительные микроорганизмы; I — микроорганизмы с промежуточной резистентностью; R — резистентные микроорганизмы.

Таблица 2

Чувствительность клинических изолятов *S. aureus* в составе БП

АБ	S, %	I, %	R, %	МПК ₅₀ , мкг/мл	МПК ₉₀ , мкг/мл	Среднегеометрическая МПК, мкг/мл	Min/max	Квартили
Ломефлоксацин	43	0	57	2,2	4,8	2,07	0,6/19,0	0,25; 1,5
Левифлоксацин	64	21	15	0,5	2,2	0,58	0,2/4,5	1,1; 4,5
Ципрофлоксацин	86	0	14	1,1	1,5	0,9	0,2/19,0	0,4; 1,1
Моксифлоксацин	43	21	36	0,8	2,2	0,58	0,025/3,1	0,5; 1,1
Цефалексин	14	0	86	112,5	300,0	45,8	2,4/600,0	4,8; 150,0
Цефотаксим	28	0	72	4,5	128,0	8,8	0,6/300,0	1,2; 64,0
Амикацин	36	28	36	9,0	19,0	8,4	0,5/38,0	4,8; 19,0
Ванкомицин	0	0	100	19,0	600,0	37,6	4,5/600,0	4,8; 300,0
Тигециклин	100	0	0	0,5	0,5	0,26	0,1/0,5	0,1; 0,5

МПК₉₀ антибиотиков для планктонных форм *S. aureus* и бактерий в составе БП

При анализе зависимости резистентности к АБ от толщины сформированной БП выявлена достоверная сильная положительная корреляция между ее толщиной и количеством антибактериальных препаратов, к которым микроорганизм резистентен ($r=0,72$, $P<0,05$). Также обнаружена достоверная положительная корреляция между толщиной БП и значениями МПК для амикацина ($r=0,61$, $P<0,05$), левифлоксацина ($r=0,77$, $P<0,05$), ципрофлоксацина ($r=0,69$, $P<0,05$) и моксифлоксацина ($r=0,72$, $P<0,05$).

В составе БП изоляты *S. aureus* показали 100% резистентность к ванкомицину, значение МПК колебалось от 4,5 до 600 мкг/мл, что согласуется с данными S. Chopra и соавт., D. Kotulova и соавт., которые установили отсутствие терапевтической эффективности ванкомицина в отношении микроорганизмов, образующих БП, а также рост МПК₉₀ более 1024 мкг/мл [18, 19]. МПК₉₀ ванкомицина оказалась в 300 раз больше минимальной концентрации для резистентных штаммов.

Несмотря на то что МПК отдельных фторхинолонов для *S. aureus* в составе БП увеличилась

в 10 раз, они показали промежуточную эффективность: 43—86% чувствительных изолятов. Данные литературы указывают на повышение МПК более 8 мкг/мл, что несколько выше полученных результатов [20, 21].

Также выявлено, что моксифлоксацин и левифлоксацин более эффективны в отношении планктонных форм бактерий, чем ципрофлоксацин, однако при определении чувствительности *S. aureus* в составе БП ципрофлоксацин был в 2 раза эффективнее.

МПК₉₀ левифлоксацина оказалась на 0,2 мкг/мл выше минимальной концентрации для резистентных штаммов, МПК₉₀ ципрофлоксацина — в 1,5 раза выше минимальной концентрации для резистентных штаммов. МПК₉₀ моксифлоксацина оказалась в 2,2 раза выше минимальной концентрации для резистентных штаммов. МПК₉₀ цефалексина и цефотаксима была соответственно в 75 и 32 раза выше минимальной концентрации, определенной для резистентных штаммов.

Снижение чувствительности к амикацину связано, вероятно, с положительным зарядом мо-

лекулы, что приводит к связыванию с отрицательно заряженным матриком. МПК₉₀ амикацина оказалась в 1,2 раза выше минимальной концентрации для резистентных штаммов.

Наибольшей эффективностью в отношении *S. aureus* в составе БП обладал тигециклин — 100% чувствительных изолятов, несмотря на 10-кратное увеличение МПК по сравнению с планктонными формами. МПК₉₀ тигециклина была в пределах чувствительности. Данные литературы также свидетельствуют об эффективности тигециклина в отношении биопленочных форм *S. aureus* [22].

Таким образом, определение чувствительности бактерий в составе БП к антибактериальным препаратам необходимо для назначения рациональной антибактериальной терапии пациентам с хирургической инфекцией, а также с целью разработки протоколов эмпирической антибактериальной терапии. Изоляты *S. aureus* в составе БП наиболее чувствительны к тигециклину (100% исследуемых изолятов), а также к представителям фторхинолонов (ципрофлоксацин — 86% исследуемых изолятов).

ЛИТЕРАТУРА

1. Европейский стратегический план действий по проблеме устойчивости к антибиотикам / ВОЗ, Европейский региональный комитет. 61-я сессия — Баку, Азербайджан, 2011 г. // Документация ВОЗ (Резолюция EUR/RC61/R6) [Электронный ресурс].— Режим доступа http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0015/150612/RC61_Res_r06.pdf.— Дата доступа: 10.09.2013.
2. Алексеева И. Г., Благодирова А. С., Ковалишена О. В. // Ремециум Приволжье.— 2010.— № 1.— С. 48—50.
3. Гудкова Е. И., Адарченко А. А., Чистенко Г. Н. и др. // Бел. мед. журн.— 2005.— № 2.— С. 4—7.
4. Гудкова Е. И., Адарченко А. А., Слабко И. Н. и др. // Мед. новости.— 2003.— №3.— С. 11—15.
5. Титов Л. П., Ермакова Т. С., Горбунов В. А. // Здравоохранение.— 2009.— № 10.— С. 63—66.
6. Hidron A. I., Edward J. R., Patel J., et al. // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*— 2008.— Vol. 29, № 11.— P. 996—1011.
7. Ильина Т. С., Романова Ю. М., Гинцбург А. Л. // *Генетика*.— 2004.— Т. 40, № 11.— С. 1445—1456.
8. Сидоренко С. В. // *Клинич. микробиология и антибактериальная химиотерапия*.— 2001.— Т. 3, № 4.— С. 301—315.
9. *Антибактериальная терапия: Практическое руководство* / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова.— М., 2000.
10. Титов Л. П. // *Профилактика и лечение госпитальных инфекций. Резистентность микроорганизмов к химиопрепаратам: Материалы Респ. науч.-практ. конф.*— Минск, 2006.— С. 7—17.
11. Moons P., Michiels C. W., Aersten A. // *Crit. Rev. Microbiol.*— 2009.— Vol. 35, № 3.— P. 157—168.
12. Hunter R. C., Hitchcock A. P., Dynes J. J., et al. // *Environ. Sci. Technol.*— 2008.— Vol. 42, № 23.— P. 8766—8772.
13. Hassett D. J., Sutton M. D., Schurr M. J. et al. // *Trends Microbiol.*— 2009.— Vol. 17, № 3.— P. 130—138.
14. Shanahan C. A., Strobel S. A. // *Org. Biomol. Chem.*— 2012.— Vol. 10, № 46.— P. 9113—9129.
15. Prevost G., Couppie P., Prevost P., et al. // *J. Med. Microbiol.*— 1995.— Vol. 42.— P. 237—245.
16. Страчунский Л. С., Белькова Ю. А., Дехнич А. В. // *Клинич. микробиология и антибактериальная химиотерапия*.— 2005.— Т. 7, № 1.— С. 32—46.
17. Плотников Ф. В., Окулич В. К., Кабанова А. А., Шилин В. Е. // *Имунопатология, аллергология, инфектология*.— 2014.— № 2.— С. 52—60.
18. Chopra S., Harjai K., Chhibber S. // *J. Antibiot. (Tokyo)*.— 2015.— Vol. 68, № 1.— P. 15—22.
19. Kotulova D., Slobodnikova L. // *Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.*— 2010.— Т. 59, № 2.— S. 80—87.
20. Giacometti A., Cirioni O., Ghiselli R., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.*— 2005.— Vol. 49, № 10.— P. 4042—4045.
21. Desrosiers M., Bendoyah Z., Barbeau J. // *Am. J. Rhinol.*— 2007.— Vol. 21, № 2.— P. 149—153.
22. Simonetti O., Cirioni O., Mocchegiani F., et al. // *Int. J. Mol. Sci.*— 2013.— Vol. 14, № 8.— P. 16321—16332.

Поступила 13.05.15.

ANTIBIOTICS RESISTANCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS HOSPITAL ISOLATES FORMING BIOFILM

V. K. Okulich, A. A. Kabanova, S. A. Senkovich, F. V. Plotnikov

Objective. The objective of the research consisted in determination of antibiotics resistance of *S. aureus* isolates capable to form biofilm.

Materials and methods. While studying the *S. aureus* ATCC 6538 isolate as well as 57 other clinic isolates characteristics were determined. The antibiotics (Lomefloxacin, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Moxifloxacin, Cephalexin, Cefotaxime, Amikacin, Vancomycin, Tigecycline) minimal inhibitory concentrations (MIC) for the plankton-like bacteria and bacteria the biofilm contained were determined.

Results. The *S. aureus* isolates were found to form a biofilm in 65% of cases (37 isolates). When the sensitivity of the bacteria contained in the biofilm was studied the MIC₉₀ for the antibiotics used was found to increase by 2.5 to 300 times as compared with that of the plankton-like *S. aureus*. The *S. aureus* isolates contained in the biofilm were most sensitive to Tigecycline — 100% of isolates were sensitive. The *S. aureus* isolates contained in the biofilm were somewhat less sensitive to fluoroquinolones: to Ciprofloxacin — 86%, to Levofloxacin — 64%, to Moxifloxacin and Lomefloxacin — 43%. Sensitivity of the microorganisms contained in the biofilm became evidently lower to Amikacin (instead of 100% of the sensitive isolates only 36% of the sensitive isolates were identified) and to Vancomycin (instead of 100% of the sensitive isolates 0% of the sensitive isolates were identified) as compared with the plankton-like forms. A similar trend was observed with Cephalexin and Cefotaxime — 14% vs. 79% and 28% vs. 72%, respectively.

Conclusion. For prescribing a rational antibacterial therapy to patients having surgical infections and for developing protocols of empiric antibacterial therapy it is necessary to determine the sensitivity of the bacteria contained in the biofilm to various antibacterial products. The *S. aureus* isolates contained in the biofilm are most sensitive to Tigecycline (100%) as well as to fluoroquinolones (Ciprofloxacin — 86%).

Key words: resistance, microbe biofilm, antibiotics.

Адрес для корреспонденции:

Окулич Виталий Константинович.
Витебский государственный медицинский университет.
210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27; сл. тел. (8-212) 60-13-95.



Н. Ф. СОРОКА, И. П. ГРИГОРЧУК

ИММУНОГЛОБУЛИН G4-СВЯЗАННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ

Белорусский государственный
медицинский университет

Представлен обзор литературы касательно иммуноглобулин G4-связанного заболевания (IgG4-связанное заболевание). Приведена основная концепция данной патологии, излагаются диагностические критерии, терминология заболевания. Рассматривается эпидемиология болезни. Подробно изложены клинические проявления IgG4-связанного заболевания, симптоматика при поражении поджелудочной железы, гепатобилиарного тракта, слюнных желез, глазницы, лимфатических узлов, клетчатки забрюшинного пространства, аорты, средостения, мягких тканей, кожи, центральной нервной системы, молочной железы, почек, предстательной железы, легких, верхних дыхательных путей, щитовидной железы. Приведены характерные изменения лабораторных тестов. Подчеркнуто, что для диагностики IgG4-связанного заболевания важнейшее значение имеет иммуногистохимический анализ с количественным определением IgG4+ плазматических клеток. Изложены современные подходы к лечению IgG4-связанного заболевания, показано, что основой лечения в настоящее время является применение глюкокортикоидов. Обсуждаются вопросы перспектив изучения IgG4-связанного заболевания.

Ключевые слова: IgG4-связанное заболевание, глюкокортикоидные гормоны.

Иммуноглобулин G4-связанное заболевание (IgG4-связанное заболевание) представляет собой новую нозологическую форму, предложенную сравнительно недавно, которая характеризуется поражением различных органов и систем с повышением у большинства пациентов содержания IgG4 в сыворотке крови [1].

Японская исследовательская группа по изучению этого заболевания достигла консенсуса в определении основной концепции патологии и сформулировала ее следующим образом:

1) IgG4-связанное заболевание характеризуется увеличением или развитием узловых/гиперпластических изменений в различных органах, возникающих одновременно или в разные промежутки времени, причиной возникновения которых является выраженная инфильтрация лимфоцитами и IgG4+ плазматическими

клетками с образованием фиброза неясной этиологии;

2) IgG4-связанное заболевание может поражать различные органы, включая поджелудочную железу, желчные протоки, слезные и слюнные железы, щитовидную железу, легкие, печень, почки;

3) изменения в органах могут развиваться синхронно или нет;

4) клинические симптомы варьируют в зависимости от пораженного органа или органов с развитием у некоторых пациентов серьезных осложнений в виде симптомов обструкции или компрессии вследствие органомегалии или гипертрофии, а также дисфункции органа, вызванной клеточной инфильтрацией или фиброзом;

5) IgG4-связанное заболевание возникает в основном у мужчин среднего и пожилого возраста;

6) у многих пациентов с IgG4-связанным заболеванием эффективна терапия глюкокортикоидами;

7) выраженность фиброза при этом заболевании зависит от поражения конкретного органа [2].

Терминология

Ранее для описания IgG4-связанного заболевания использовали различные термины, включая «IgG4-связанное склерозирующее заболевание», «IgG4-связанное аутоиммунное заболевание», «IgG4-связанное системное заболевание», «IgG4-ассоциированный мультифокальный системный фиброз», «системный IgG4-плазмоцитарный синдром (SIPS)», «IgG4-связанный мультиорганный лимфопрлиферативный синдром (IgG4-MOLPS)». Исследователи, изучавшие IgG4-связанное заболевание, после детального анализа терминологии и сущности заболеваний, обозначенных этими терминами, пришли к выводу, что речь идет об одной и той же патологии и предложили для ее обозначения термин «IgG4-связанное заболевание» [3]. Номенклатура клинических проявлений со стороны различных органов и систем организма при IgG4-связанном заболевании [3, 4] представлена в табл. 1.