

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА»

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ КЫРГЫЗСТАНА

Межведомственный диссертационный совет Д.14.11.045

На правах рукописи
УДК

БЕРДАЛИЕВА ФАРИДА АБДУЛЛАЕВНА

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ
ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ
БРУЦЕЛЛЁЗА**

14.01.09 — инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Бишкек – 2012

Работа выполнена в Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии и Казахском научном центре карантинных и зоонозных инфекций имени Масгута Айкимбаева Министерства здравоохранения Республики Казахстан.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор,
академик НАК
Сыздыков Марат Сулейменович

Официальные оппоненты:

Ведущая организация:

Защита диссертации состоится «___» _____ 2012 г. в 13.00 часов на заседании межведомственного диссертационного совета Д.14.11.045 при Научно-производственном объединении «Профилактическая медицина» Министерства здравоохранения и Международном университете Кыргызстана Министерства образования и науки Кыргызской Республики по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. Байтик Баатыра, 34.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-производственного объединения «Профилактическая медицина» Министерства здравоохранения Кыргызской Республики по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. Байтик Баатыра, 34.

Автореферат разослан «___» _____ 2012 г.

**Учёный секретарь
диссертационного совета,
д.м.н., профессор**

Белов Г.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Бруцеллёз — это системная инфекция, обусловленная факультативными внутриклеточными бактериями рода *Brucella*, протекающая без адекватного лечения по типу затяжного сепсиса. Это заболевание характеризуется поражением различных органов и тканей с развитием серьёзных осложнений со стороны двигательной и нервной систем, а также длительным, склонным к рецидивированию и хронизации, течением [Parras G. et al., 2006]. Бруцеллы представляют собой внутриклеточные патогены, способные как пассивно, так и активно внедряться в макрофагальные клетки хозяина. Персистенция бруцелл в макроорганизме во многом обусловлена способностью этих бактерий к внутриклеточному существованию в клетках РЭС хозяев [Parras G. et al., 2006].

Как следствие, противобруцеллёзные агенты должны быть способны проникать внутрь клеток в дозах, достаточных для действия на бруцеллы [Parras G. et al., 2006]. Тем не менее, лишь ограниченное число препаратов обладает такими свойствами.

В 1986 году ВОЗ выпустила рекомендации по лечению бруцеллёза у людей с использованием доксициклина в комбинации либо с рифампицином, либо со стрептомицином. Хотя эти рекомендации всё ещё актуальны, и изоляты бруцелл в целом чувствительны к вышеупомянутым препаратам, имеются отдельные сообщения об антибиотикорезистентности бруцелл [Ваукам N. et al., 2004; Lopez-Merino A. et al., 2004]. До 2006 года не существовало стандартизованного метода оценки антибиотикочувствительности бруцелл; более того, проведение этого исследования не рекомендовалось в связи с высоким риском заражения лабораторных сотрудников. Тем не менее, как свидетельствуют данные литературы, чувствительность к антибактериальным препаратам бруцелл может варьировать в различные периоды времени и в различных регионах [De Rautlin de la Roy Y.M. et al., 1986; Kinsara A., 1999].

В настоящее время наиболее широко используемыми антибактериальными препаратами для этиотропного лечения бруцеллёза являются тетрациклины, триметоприм и сульфаметоксазол, аминогликозиды, рифампицин и фторхинолоны [Saltoglu N. et al., 2002; Geyik F.M. et al., 2002]. Эти препараты могут использоваться как сами по себе, так и в комбинациях друг с другом. Однако в связи с частыми рецидивами бруцеллёза, наблюдаемыми при монотерапии, ВОЗ рекомендует именно комбинированное лечение данной инфекции [Corbel M.J., 2006]. В настоящее время комбинациями препаратов, рекомендуемых ВОЗ, являются доксициклин плюс рифампицин и доксициклин плюс стрептомицин. Хотя с помощью этих режимов достигнуты хорошие результаты, частота рецидивов при лечении больных бруцеллёзом комбинациями указанных препаратов достигает 14,4% [Ariza J. et al., 1992]. Наиболее эффективная ком-

бинация препаратов для этиотропной терапии бруцеллёза с минимальной токсичностью всё ещё не определена.

Способность бруцелл выживать в кислой среде фагосом макрофагов и микрофагов мононуклеарной системы, обуславливает длительное волнообразное течение заболевания и склонность к рецидивам в связи с «прорывом» возбудителя в кровь из клеточного депо [Spink W.W., 1952, 1964; Akova M. et al., 1999]. Известно, что очень трудно достичь эрадикации бруцелл даже в случае применения антибактериальных препаратов, к которым у возбудителя имеется чувствительность *in vitro* [Magoffin R.L. et al., 1951; Shaffer J.M. et al., 1953; Spink W.W., Bradley G.M., 1960]. Все используемые для этиотропного лечения бруцеллёза антибактериальные препараты не предотвращают рецидивов заболевания; очевидно, что лишь синергидные комбинации препаратов с внутриклеточной активностью способны достичь хороших клинических результатов [Ariza J. et al., 1985; Bertrand A. et al., 1979; Buchanan T.M. et al., 1974].

Тем не менее, факторы, определяющие, почему в одних случаях возникают рецидивы, а в других нет, недостаточно определены. На сегодняшний день неясно, обусловлены ли клинические исходы развитием устойчивости бруцелл к антибактериальным препаратам во время лечения или же начальными различиями в восприимчивости к ним у возбудителя инфекции.

Высокая частота побочных эффектов от использования традиционных схем лечения бруцеллёза и значительная частота рецидивов после проведённой этиотропной терапии побуждают к поиску новых подходов к лечению данной инфекции. Фторхинолоны, как препараты, проникающие внутрь клеток, могут служить хорошей альтернативой традиционно применяющимся антибиотикам [Kilic S. et al., 2008; Garcia-Rodriguez J.A. et al., 1991]. В последнее время появляются публикации о возможности использования фторхинолонов, в частности цiproфлоксацина, для лечения бруцеллёза [Agalar C. et al., 1999]. По сравнению с традиционно применяющимися препаратами цiproфлоксацин привлекает внимание меньшей токсичностью.

Общеизвестно влияние лекарственной резистентности бактерий на клинические проявления вызываемых ими инфекций, однако до настоящего времени в отношении бруцеллёза систематических исследований по данному направлению не проводилось. Известно несоответствие эффективности антибактериальных препаратов в отношении бруцелл *in vitro* и *in vivo* (макролиды, фторированные хинолоны и пр.); эти данные нуждаются в дальнейшей оценке и обобщении.

Внутриклеточный паразитизм бруцелл обуславливает определённые требования к подбору этиотропных агентов для лечения вызываемой ими инфекции. Противобруцеллёзные препараты должны хорошо проникать в ткани, в том числе и воспалительно изменённые, а также в цитоплазму клеток. Эмпири-

чески используемые для лечения бруцеллёза комбинации доксицилина с рифампицином либо аминогликозидами или фторхинолонами обычно эффективны, однако требуют длительного курса применения (не менее 6 недель) и не предотвращают частых рецидивов, что свидетельствует о неполной эрадикации бруцелл [Lang R., Rubinstein E., 1992]. Последняя не достигается даже при назначении препаратов, хорошо проникающих внутрь клетки. Фторхинолоны и макролиды нового поколения, обладающие высокой внутриклеточной активностью, высоко эффективны по отношению к бруцеллам *in vitro*, но это не совпадает с их относительно низким клиническим эффектом, выражающимся в высоком числе рецидивов у пролеченных больных [Lang R., Rubinstein E., 1992; Akalin H. et al., 1990; Quadri S.M. et al., 1995]. Ранее высказывавшиеся надежды на возможность использования фторхинолонов в виде монотерапии коротким курсом для лечения больных бруцеллёзом в Казахстане [Курманова К.Б., 1998; Дуйсенова А.К. и соавт., 2002], к сожалению, не оправдались. Это обусловлено существованием бруцелл в фаголизосомах макрофагальных клеток, что делает микроорганизмы мало доступными для внешних биологических и химических воздействий [Kornfeld S. et al., 1989]. Кроме того, кислотность в фаголизосомах, составляющая 5,0 и ниже, нарушает противомикробную активность фторхинолонов и макролидов [Akova M. et al., 199].

В этой связи очевидна необходимость совершенствования патогенетически оправданной этотропной терапии бруцеллёза, учитывающей особенности персистирования возбудителя в макроорганизме, для эффективной борьбы с данной инфекцией. Учитывая, что данное направление в Казахстане разработано недостаточно, тема исследования представляется актуальной.

Связь темы диссертации с крупными научными программами (проектами) или основными научно-исследовательскими работами, проводимыми научными учреждениями. Диссертация была выполнена в рамках темы НИР Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций имени Масгута Айкимбаева «Снижение угрозы распространения карантинных и зоонозных инфекций», шифр О.0285 (номер госрегистрации 0103РК00423) в соответствии с Договором о научно-техническом сотрудничестве в области проведения совместных исследований по актуальным направлениям инфекционных болезней между РГП на ПХВ «Южно-Казахстанская государственная фармацевтическая академия» и РГКП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций имени Масгута Айкимбаева» от 01.04.2011 г.

Цель исследования. Оценка противобруцеллёзной активности ряда препаратов во вне- и внутриклеточной среде и при различных условиях рН для оптимизации этиотропного лечения больных бруцеллёзом.

Задачи исследования:

1. Описать структуру и клинико-лабораторные показатели бактериологически подтверждённых случаев бруцеллёза в Южно-Казахстанской области.
2. Определить чувствительность к антибактериальным препаратам типичных клинических изолятов бруцелл, циркулирующих в эндемичном по бруцеллёзу регионе Казахстана — Южно-Казахстанской области.
3. Оценить внутриклеточную активность в отношении бруцелл ряда антибактериальных препаратов, наиболее часто используемых в клинической практике для лечения бруцеллёза (рифампицин, цiproфлоксацин, тетрациклин, доксициклин, гентамицин и стрептомицин), на модели человеческих моноцитов Mono Mac 6.
4. Оценить эффективность основных противобруцеллёзных препаратов в отношении клинических штаммов *B. melitensis* в условиях нейтральной (7,0) и кислой (5,0) pH среды по результатам E-теста.
5. Провести сравнительную оценку эффективности и безопасности режимов антибактериальной терапии бруцеллёза «доксициклин плюс рифампицин» и «ципрофлоксацин плюс рифампицин».
6. Выявить возможную взаимосвязь между чувствительностью бруцелл к антибактериальным препаратам и клиническими исходами у пациентов с бруцеллёзом.

Научная новизна работы.

1. Впервые проведена оценка антибиотикочувствительности клинических изолятов бруцелл, циркулирующих на территории Южно-Казахстанской области. Наиболее эффективным *in vitro* в отношении бруцелл препаратом оказался доксициклин (0,07 мг/мл). Второе место по эффективности занял цiproфлоксацин (0,098 мг/мл). Отмечается тенденция к нарастанию резистентности по отношению к рифампицину у клинических изолятов бруцелл, выделенных в Южно-Казахстанской области.
2. Впервые доказано, что стрептомицин и гентамицин, входящие в рекомендуемые ВОЗ схемы этиотропного лечения бруцеллёза, не позволяют достичь эффективной эрадикации внутриклеточного возбудителя. Наибольшую эффективность в отношении внутриклеточных бруцелл показали тетрациклины и рифампицин.
3. Показано, что гентамицин и фторхинолоны снижают активность при pH 5,0, в то время как доксициклин и рифампицин её сохраняют.
4. Впервые доказано, что бруцеллы в период всего заболевания сохраняют сходную чувствительность по отношению к этиотропным агентам, которая не изменяется и в период рецидива. Это даёт основание полагать, что в основе несостоятельности лечения бруцеллёза лежат механизмы внутриклеточного выживания возбудителя.

5. Установлено, что, хотя комбинация «ципрофлоксацин плюс рифампицин» оказалась столь же эффективной, как и традиционно используемый режим «доксциклин плюс рифампицин», высокая частота рецидивов (13,6%) не позволяет рекомендовать схему с включением фторхинолона как терапию выбора при лечении бруцеллёза. Показано, что наибольшая частота рецидивов отмечена в группе больных, получавших комбинацию доксициклин плюс гентамицин, что находит объяснение в отсутствии внутриклеточной активности у гентамицина.
6. Впервые в Казахстане показана достаточная терапевтическая активность азитромицина при лечении больных бруцеллёзом.

Практическая значимость полученных результатов.

1. Материалы исследования являются теоретической основой для углублённого изучения патогенетических механизмов взаимодействия паразит — хозяин, а также разработки дифференцированного подхода к лечению больных бруцеллёзом.
2. Показана нецелесообразность сохранения официального стандарта этиотропного лечения больных бруцеллёзом в Казахстане в виде монотерапии фторхинолонами коротким курсом (3 недели).
3. Обоснована возможность включения в существующие схемы лечения бруцеллёза макролидного антибиотика с внутриклеточной активностью, азитромицина.
4. Результаты исследования внедрены в практику работы клиники инфекционных болезней Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций и кафедры инфекционных болезней и дерматовенерологии Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии, а также используются в лечебной практике инфекционных отделений областной и районных больниц ЮКО.

Материалы работы нашли отражение в методических рекомендациях для врачей «Современные подходы к проведению этиотропной терапии бруцеллёза», утверждённых Учёным Советом Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева (Протокол №8 от 28.08.2012).

Экономическая значимость полученных результатов. Предложенные схемы этиотропного лечения бруцеллёза позволяют сократить расходы на лечебно-диагностические процедуры, увеличивающиеся за счёт необходимости терапевтического ведения случаев рецидивов инфекции (возвратный бруцеллёз) и хронизации инфекции.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Эффективность противобруцеллёзной терапии зависит как от чувствительности возбудителя к применяемым этиотропным агентам, так и от

способности последних проникать внутрь клетки хозяина и их устойчивости в кислой среде.

2. Бруцеллы в период всего заболевания сохраняют сходную чувствительность по отношению к этиотропным агентам, которая не изменяется и в период рецидива.
3. Наибольшую эффективность в отношении бруцелл *in vitro* и *in vivo* показывает комбинация «доксциклин + рифампицин». Комбинация «ципрофлоксацин + рифампицин» не может быть рекомендована как схема выбора для лечения острого бруцеллёза в связи с высоким числом рецидивов у пролеченных больных.

Личный вклад соискателя. Личное участие автора осуществлялось на всех этапах работы и включало в себя планирование и определение объёма исследования по всем разделам диссертации, формулирование цели и задач, анализ компьютерной базы и карт пациентов, получение информированного согласия на участие в исследовании, разработку анкеты, сбор анамнеза, проведение врачебного осмотра, забор материала для исследований, статистическую обработку материала. Автором осуществлялся клинико-диагностический мониторинг больных бруцеллёзом, а также были проведены микробиологические исследования антибиотикочувствительности бруцелл. В подборе и научном обосновании методических приёмов и организации экспериментов по изучению активности противобруцеллёзных препаратов во внутриклеточной среде и при различных значениях рН принимал участие с.н.с. лаборатории бруцеллёза КНЦКЗИ, к.м.н. А.Н. Кузнецов, которому автор выражает искреннюю признательность и благодарность за методическую и организационную поддержку при выполнении данной работы.

Апробация результатов исследования. Основные положения работы доложены и обсуждены в виде научных докладов на:

1. Ежегодной междисциплинарной научно-практической конференции стран СНГ «Перспективы и пути развития неотложной педиатрии», СПб, 2006;
2. Международной научной конференции «Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных», Ульяновск, 2006;
3. III Конгрессе по инфекционным болезням, Москва, 2011;
4. Международной научно-практической конференции, посвящённой Двдцатилетию Независимости Республики Казахстан, г. Алматы, 2011;
5. Втором конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням, Астана, 2012;

6. Международной научно-практической конференции «Опыт и перспективы развития медицинского образования в странах Центральной Азии», Караганда, 2012;
7. EKMUD Congress (Infectious Diseases & Clinical Microbiology), Istanbul, 2012;
8. IV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням, Москва, 2012;
9. Научной конференции специалистов Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций имени Масгута Айкимбаева, Алматы, 2012.

Доклад «Evaluation of intracellular activity of a number of antibacterial preparations concerning *Brucella melitensis* 1251» получил **первое место за устное сообщение** (Oral Presentation 1st Award) на EKMUD Congress (Infectious Diseases & Clinical Microbiology), Стамбул, Турция.

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По материалам диссертации опубликовано ____ печатных работ, в том числе ____ – в печатных изданиях, рекомендованных ВАК КР.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на ____ страницах компьютерного набора, состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, выводов, списка использованных источников. Список литературы состоит из ____ наименований, включающих ____ источников на русском языке и ____ – на иностранных языках. Работа иллюстрирована ____ рисунками и ____ таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Современные вопросы клинических проявлений и подходов к лечению бруцеллёза (Обзор литературы). В литературном обзоре проведён анализ исторических аспектов и современных данных о микробиологии, эпидемиологии, клинических проявлениях и лечении бруцеллёза.

Глава 2. Материалы и методы. Работа проведена на базе Южно-Казахстанской государственной фармацевтической академии и Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций.

Настоящая работа представлена двумя разделами: экспериментальным и клинико-эпидемиологическим.

2.1 Изучение антибиотикочувствительности клинических изолятов бруцелл, выделенных на территории Южно-Казахстанской области

Бактериальные штаммы: 126 штаммов *Brucella melitensis*, выделенных от больных острым бруцеллёзом на территории Южно-Казахстанской области из различных клинических источников (кровь, ликвор, синовиальная жидкость) в период с 2004 по 2010 годы. В качестве контрольного для биотипирования и

оценки антибиотикочувствительности использовался референтный штамм *B. melitensis* 16М из коллекции Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций.

Идентификация выделенных культур осуществлялась общепринятыми методами (потребность в углекислом газе, способность к продукции сероводорода, редукция основных красителей и лизабельность фагом Тб). Все исследования проводились в шкафу биобезопасности II типа.

Изучение чувствительности к антибактериальным препаратам: определялась минимальная ингибирующая концентрация (МИК) доксициклина, рифампицина, гентамицина, ципрофлоксацина и комбинации триметоприм-сульфаметоксазол (ТМП/СМ) с помощью Е-теста (Biometrieux, Швеция) на бруцелл-агаре (Hi-media, Индия) с добавлением 5% овечьей сыворотки с оценкой результатов через 48 часов инкубации на воздухе (вне CO₂-инкубатора) при температуре 37°C.

Определение чувствительности микроорганизма с помощью **Е-теста** проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску Е-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной. В месте пересечения эллипсоидной зоны подавления роста с полоской Е-теста получают значение минимальной подавляющей концентрации (МПК).

МИК50 и МИК90 определялись как наименьшая концентрация изучаемого антибактериального препарата, при которой происходило подавление роста, соответственно, 50 и 90% изолята. Для оценки пороговых значений чувствительности к изучаемым антибактериальным препаратам использовались пороговые значения Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI - ранее NCCLS).

2.2 Изучение внутриклеточной активности ряда антибактериальных препаратов в отношении *Brucella melitensis* 1251 на модели инфицированных моноцитов человека Mono MAC 6

Человеческие моноциты были использованы как наиболее полно соответствующие по своим характеристикам макрофагам больного человека. В качестве модельной культуры был использован типовой штамм *Brucella melitensis* 1251, поскольку в Казахстане преобладает бруцеллёз козе-овечьего типа.

Культура *B. melitensis* 1251 выращивалась пересевом музейных штаммов на чашки с Бруцелла-агаром производства Hi-media (India) и инкубировалась в течение 48 часов при температуре 37°C. Эти первичные чашки использовались для моделирования внутриклеточной бруцеллёзной инфекции.

Клеточная линия фагоцитов сохранялась в среде RPMI 1640 (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA). До инокуляции бруцелл клеточная линия тестировалась на инфицированность микоплазмами.

Как предварительная часть исследования нами было выполнено определение минимальной ингибирующей концентрации в отношении бруцелл каждого из изучавшихся препаратов (рифампицин, цiproфлоксацин, тетрациклин, доксициклин, гентамицин и стрептомицин) методом серийных разведений в печёночном бульоне.

Инфицированная культура клеток была пролечена 8, 4, 1 и 0,25 × минимальными подавляющими концентрациями (МИК) каждого из препаратов.

В качестве контрольной группы служила неинфицированная линия клеток, пролеченная теми же препаратами в тех же дозах.

Инкубация осуществлялась в течение 2 часов, после чего клеточный пул собирался посредством центрифугирования при 200 × g в течение 6 минут. Среда, содержащая антибактериальный препарат, удалялась посредством отсасывания. Клетки дважды отмывались фосфатным буфером для удаления остатка антибактериального препарата. После этого к клеткам добавляли 0,1% Triton X-100 (Sigma-Aldrich) для провокации их лизиса и высвобождения внутриклеточного возбудителя. Об уровне эрадикации внутриклеточных бруцелл судили по числу КОЕ после посева клеточного лизата на твёрдую питательную среду.

2.3 Изучение чувствительности *in vitro* к антибактериальным препаратам *Brucella melitensis* при различных значениях pH

Бактериальные штаммы: 126 штаммов *Brucella melitensis*, использованные для изучения чувствительности к антибактериальным препаратам в E-тесте (см. раздел 2.1).

Оборудование

Измерение pH растворов и сред проводили с помощью pH метра pH-150M (РУП «Гомельский завод измерительных приборов», г. Гомель) в соответствии с инструкцией к прибору.

Изучение чувствительности к антибактериальным препаратам при различных значениях pH среды: Так же, как описано в разделе 2.1 определялась минимальная ингибирующая концентрация (МИК) доксициклина, рифампицина, гентамицина и цiproфлоксацина и офлоксацина с помощью E-теста (Biometrieux, Швеция) на бруцелл-агаре (Hi-media, Индия) с добавлением 5% овечьей сыворотки с оценкой результатов через 48 часов инкубации на воздухе (вне CO₂-инкубатора) при температуре 37°C. Исследование МИК в E-тесте проводилось в парах сред, кислотность которых доводилась до значений pH 5,0 и 7,0.

Для инокуляции использовалась взвесь бруцелл 10⁵-10⁶ КОЕ на чашку.

2.4 Клинические исследования

Отбор пациентов для проспективного наблюдения осуществлялся в медицинских учреждениях амбулаторного и стационарного типов Южно-Казахстанской области. После включения пациента в программу исследования

на последнего заводилась карта наблюдения и выполнялось полное медицинское обследование.

Дизайн исследования: открытое рандомизированное.

Всего под нашим наблюдением находились 169 больных острым и подострым бруцеллёзом, госпитализированных в 2006-2011 г.г. в лечебные учреждения области. В последующем данный контингент разбивался случайным образом на группы (с соблюдением принципов репрезентативности выборок) для изучения эрадикации внутриклеточных бруцелл у наблюдавшихся пациентов, а также оценки клинической эффективности в отношении бруцеллёза цiproфлоксацина и азитромицина (см. разделы 2.4.1, 2.4.2 и 2.4.3 настоящей работы).

После рандомизации существенных различий по возрасту, полу, частоте встречаемости сопутствующей патологии между наблюдавшимися группами не было.

Критериями включения больных в исследование являлись: верифицированный диагноз острого или подострого бруцеллёза, добровольное информированное согласие пациента на проведение исследований и лечение, возраст пациента от 18 до 60 лет, хорошая комплаентность (готовность следовать предписаниям врача).

Критерии исключения больных из исследования: другие формы бруцеллёза, невозможность или нежелание дать добровольное информированное согласие на участие в исследовании или на выполнение требований исследования, отказ пациентов от участия в исследовании, участие пациента в любом другом исследовании, индивидуальная непереносимость намеченных для терапии препаратов, беременность и грудное вскармливание, хронические заболевания внутренних органов в стадии обострения, диффузные заболевания соединительной ткани, ревматическая патология, онкологические заболевания любой локализации, хронический алкоголизм, острая коронарная недостаточность, острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда в анамнезе, психические расстройства в анамнезе, эпилепсия, эрозивно-язвенное поражение ЖКТ в стадии обострения, возраст старше 60 лет.

Критерии выхода из исследования: больной может быть выведен из исследования, если продолжение исследования наносит ему вред, появление побочных действий лекарственных средств, решение его прекратить свое участие в исследовании, несоблюдение им режима приёма лекарственных препаратов, появление в процессе исследования критериев исключения.

Диагноз бруцеллёза подтверждался совокупностью клинических (лихорадка, боли в суставах и спине, потливость, гепатоспленомегалия, артрит, спондилит, орхит и др.) и лабораторных находок.

Обследование всех больных включало сбор эпидемиологических данных и анамнестических сведений, динамическое наблюдение за клиническим тече-

нием болезни и изменениями основных лабораторных показателей в период разгара заболевания и ранней реконвалесценции, диспансерного наблюдения за больными.

Кроме тщательного анализа анамнестических данных, учёта эпидемиологических факторов, изучения клинической картины, все больные были обследованы комплексом общеклинических анализов в динамике наблюдения. Серологические исследования включали постановку реакции Хедельсона, реакции Райта и Роз-Бенгал пробы.

Общий анализ крови, анализы мочи и кала, рутинные биохимические тесты осуществлялись согласно общепринятой схеме наблюдения больного.

Из числа общепринятых в стационарах методов лабораторной диагностики использовали следующие: подсчёт форменных элементов клеток крови в камере Горяева, определение билирубина сыворотки крови методом Ендрасика-Клегорна-Грофа, активность АЛТ, проведение тимоловой пробы методом Маклагана, определение содержания общего белка сыворотки крови биуретовым методом, а также выделение фракций альбумина и глобулинов электрофоретическим методом.

Всем больным бруцеллёзом проведено комплексное рентгенографическое обследование (рентгенография легких, крупных и мелких суставов конечностей). Все больные обследованы невропатологом, по показаниям проводились консультации окулиста, дерматолога, гинеколога.

Верификационными диагностическими тестами были реакция агглютинации в пробирках Райта в титре 1 : 200 и выше и / или положительная гемокультура.

Для выделения гемокультуры бруцелл использовалась селективная транспортная среда производства Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций (забор крови осуществлялся у постели больного) с последующим пересевом в лабораторных условиях на бифазную среду по Кастанеде.

Данные анамнеза заболевания, клинико-лабораторного и инструментального обследований пациентов регистрировались в разработанной индивидуальной карте, а также фиксировались в электронной базе данных.

На основании рекомендаций В.И. Покровского с соавт. (1996), Н.Д. Ющука с соавт. (1999), Ю.В. Лобзина с соавт. (1999), Е.С. Белозерова с соавт. (2000) нами разработаны критерии оценки тяжести течения острого бруцеллёза.

2.4.1 Клиническая оценка эффективности эрадикации внутриклеточных бруцелл при различных схемах антибактериальной терапии

Под нашим проспективным наблюдением находилось 84 больных с острым бруцеллёзом с положительной гемокультурой (во всех случаях была выделена *B. melitensis*), получавшие лечение согласно схеме. В настоящее исследование

вание включены только случаи, когда больные принимали предписанные препараты корректно и полностью завершили курс лечения.

Из 84 наблюдавшихся 56 (66,7%) были мужчины, а 28 (33,3%) - женщины. Возраст пациентов варьировал от 15 до 62 лет ($36,4 \pm 5,26$).

У всех пациентов отмечались симптомы, характерные для острого бруцеллёза. У 12 больных были симптомы спондилита, у 1 — сакроилеита, у 8 — орхита.

У каждого больному выполнялись стандартные диагностические серологические исследования (Роз-Бенгал проба, реакции Райта и Хеддльсона), а также не менее 4 исследований на гемокультуру бруцелл. Идентификация бруцелл проводилась общепринятыми методами.

Определение минимальной ингибирующей концентрации в отношении бруцелл каждого из изучавшихся препаратов (рифампицин, ципрофлоксацин, тетрациклин, доксициклин, гентамицин и стрептомицин) методом серийных разведений в печёночном бульоне.

Наличие симптомов основного заболевания у больного после проведения курса этиотропного лечения расценивалось как несостоятельность терапии.

Пациенты были разбиты на три группы по 28 человек в каждой, получавшие различные режимы антибактериальной терапии: группа А получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс гентамицин 2 мг / кг в три приёма внутримышечно; группа Б получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс ципрофлоксацин по 1 г 4 раза в день; группа В получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс рифампицин по 150 мг 4 раза в день. Продолжительность лечения гентамицином составила 14 дней, пероральными антибактериальными препаратами — 45 дней.

После проведения лечения больные наблюдались в течение 3 месяцев с ежемесячной постановкой серологических реакций на бруцеллёз и посевом крови на гемокультуру бруцелл.

2.4.2 Оценка значимости ципрофлоксацина как компонента этиотропной терапии острого бруцеллёза

Объём выборки на данном этапе исследования определялся числом больных с подтверждённым серологически и / или бактериологически диагнозом «бруцеллёз», поступившими в лечебные учреждения Южно-Казахстанской области в период проведения исследования. Больные случайным образом были отнесены к одной из групп («доксициклин плюс рифампицин» или «ципрофлоксацин плюс рифампицин») в соотношении 1 : 1.

Из наблюдения исключались больные с приступами ишемической болезни сердца, беременностью, а также лица в возрасте младше 15 лет.

Всего под наблюдением находилось 49 больных (34 — мужчины и 15 — женщины). Все, кроме одного, наблюдавшиеся пациенты завершили исследо-

вание в период наблюдения. 2 пациентов были исключены из группы «ципрофлоксацин плюс рифампицин»: 1 больной в связи с убытием за пределы области, а 1 пациентка досрочно прекратила лечение в связи с хорошим самочувствием.

В момент начала лечения состояние больных оценивалось физикально и в лабораторных тестах; эта же оценка проводилась на 2-й, 4-й и 6-й неделе лечения. Кроме того, проводилось дополнительное обследование в случае, если отмечалась повторная клиническая манифестация заболевания.

В обеих группах больных длительность лечения составила 42 дня (согласно рекомендациям ВОЗ).

В течение 3 месяцев после окончания лечения осуществлялись исследование крови на бруцеллы, реакция Райта и общеклиническое обследование наблюдавшихся больных.

Оценка эффективности проводимого лечения осуществлялась, прежде всего, по наличию или отсутствию рецидивов заболевания. Рецидив был определён нами как повторное появление симптомов заболевания с нарастанием титров в реакции Райта, сопровождавшееся или нет выделением гемокультуры бруцелл в период 3-месячного наблюдения после окончания этиотропной терапии.

Вторым оценочным признаком явилась длительность лихорадки после начала этиотропной терапии. Температура у пациентов, взятых под наблюдение, измерялась в подмышечной впадине каждый час до тех пор, пока измеряемые значения не достигали 37°C. После этого температура измерялась дважды в день, утром и вечером.

2.4.3 Оценка значимости азитромицина как компонента этиотропной терапии острого бруцеллёза

Отбор пациентов и диагностические критерии при проведении данного фрагмента исследования соответствовали вышеописанным. Всего под наблюдением находилось 36 больных с острым бруцеллёзом, подтверждённым бактериологически или серологически. Больные случайным образом были отнесены к одной из групп («доксикалин плюс рифампицин» или «азитромицин плюс рифампицин») в соотношении 1 : 1.

Диагностические критерии включали наличие титра 1 : 200 и выше в реакции агглютинации Райта и / или выделение культур бруцелл из крови или иного биологического материала пациента.

Критерии исключения пациента из исследования соответствовали вышеописанным и включали в себя известную или выявленную гиперчувствительность больного к азитромицину либо противопоказания к его назначению, а также эффективную антибактериальную терапию в течение 7 дней до включения пациента в исследование. Кроме того, в исследование не должны были

включаться лица с вовлечением в патологический процесс ЦНС, спондилитом или эндокардитом.

Пациентам основной группы азитромицин назначался в комбинации с рифампицином. Группа сравнения получала комбинацию «доксциклин + рифампицин».

Азитромицин назначался в дозе 500 мг 1 раз в сутки перорально за 1 час до или спустя 2 часа после еды в течение 21 дня.

Рифампицин назначался по схеме, рекомендованной ВОЗ (900 мг в сутки в 3 приёма) в течение 42 дней.

Клинический мониторинг терапевтической эффективности препаратов и признаков токсического действия назначаемых комбинаций осуществлялся посредством анализа данных, полученных в результате физикального обследования пациентов; учитывалась динамика лейкоцитарной формулы с подсчётом тромбоцитов и оценкой СОЭ, уровень креатинина, АСТ и АЛТ, билирубин и фракции, электролиты, динамика титров в реакции Райта, а также повторное выделение гемокультуры и наличие рецидивов заболевания (см. раздел 2.4.2 настоящей работы).

Так же, как и в случае с изучением терапевтической ценности ципрофлоксацина физикальное и лабораторное обследование наблюдавшихся больных осуществлялось на 2-й, 4-й и 6-й неделе лечения. Пациенты опрашивались, не было ли пропусков в приёме препаратов.

Оценка эффективности проводимого лечения осуществлялась, прежде всего, по наличию или отсутствию рецидивов заболевания. В течение 3 месяцев после проведённого лечения осуществлялся опрос о повторном возникновении симптомов заболевания, а также проводилось бактериологическое и серологическое (реакция Райта макрометодом) обследование.

Была разработана **клиническая классификация реакции на лечение** комбинацией «азитромицин + рифампицин»:

▲ Отсутствие видимой положительной реакции на изучаемую комбинацию или ухудшение симптоматики в течение 7 дней от начала лечения расценивалось как **«неудача в лечении»**.

▲ Повторное появление симптомов заболевания с нарастанием титров в реакции Райта, сопровождавшееся или нет выделением гемокультуры бруцелл в период 3-месячного наблюдения после окончания этиотропной терапии расценивалось как **«рецидив»**.

▲ Полное исчезновение всех признаков инфекции и отсутствие рецидива в течение всего периода наблюдения расценивалось как **«выздоровление»**.

Безопасность исследования базировалась на учёте всех опубликованных в доступной литературе побочных реакциях на азитромицин и данных лабораторных тестов. Клинические проявления, расценивавшиеся как побочные эф-

фекты, фиксировались в карте больного и сопоставлялись с данными о динамике симптомов инфекции, тяжестью заболевания и результатами лабораторных исследований для принятия решения о замене препарата.

Глава 3. Клиническая характеристика бруцеллёза у обследованных больных. Под нашим наблюдением находилось 169 больных с острой и подострой формами бруцеллёза. При постановке диагноза пользовались классификацией, предложенной Г.П. Рудневым (1955) в модификации Беклемишева (1956).

У наблюдавшихся больных чаще регистрировался острый бруцеллёз (138 случаев, 81,66%), затем подострый (31 случай, 18,34%).

Среди обследованных больных бруцеллёзом лёгкое течение заболевания имели 61 больной (36,09%), среднетяжёлое – 73 (43,20%), и тяжёлое – 35 (20,71%).

Сравнительный анализ возрастных групп выявил преобладание больных в трудоспособном возрасте от 31 до 40 лет (27,22%), что связано с более частым контактом со скотом, положительно реагирующим на бруцеллёз в индивидуальных хозяйствах.

Почти все больные (165 случаев, 97,63%), заболевшие бруцеллёзом, были из сельских местностей, неблагополучных по бруцеллёзу сельскохозяйственных животных.

Среди общего числа больных бруцеллёзом преобладали пациенты казахской национальности (142 случая, 84,02%), что объясняется традиционной занятостью в животноводстве преимущественно коренного населения Республики Казахстан.

У всех больных с острым и подострым бруцеллёзом реакции Райта и Хеддльсона были положительными. Титры реакции Райта колебались от 1:100 до 1:1600.

Острое начало болезни регистрировалось у 98 (57,99%) больных, при этом заболевание началось с подъёма температуры тела до высоких цифр (39-40°C) с ознобами и потливостью.

У 42,01% больных заболевание начиналось постепенно, с субфебрилитета в течение недели с дальнейшим подъёмом температуры до 39°C и выше.

Из симптомов интоксикации были головная боль, лихорадка, беспокойство, нарушение сна и аппетита, а также боли в суставах.

Одним из частых симптомов бруцеллёзной инфекции было повышение температуры тела (148, 87,57%). Температурная кривая имела неправильный характер.

Субфебрильная температура на всём протяжении болезни наблюдалась в 14,2% случаев.

Продолжительность лихорадки составила от 12 до 21 дня. Лихорадка обычно сочеталась с ознобом и потливостью (141 случай, 83,43%).

У всех пациентов отмечалось увеличение периферических лимфатических узлов – подчелюстных, шейных, подмышечных, паховых. При пальпации последние были подвижны, безболезненны, кожа над ними не изменена. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечались: тахикардия, приглушенность сердечных тонов, в 12 случаях (7,1%) - систолический шум. У всех больных была выявлена гепато- и / или спленомегалия. Печень выступала из-под края рёберной дуги на 3-5 см, селезёнка – на 1-3 см. Печень была плотно-эластической консистенции, слегка чувствительной при пальпации.

Ведущим при острой форме бруцеллёза явился болевой синдром со стороны опорно-двигательного аппарата. Боли в суставах носили летучий характер и имели различную продолжительность и интенсивность, чаще сопровождались припухлостью коленных, голеностопных, лучезапястных и мелких суставов кистей. Длительность артралгии варьировала от 1 до 3 недель.

Глава 4. Чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов бруцелл, выделенных из различных клинических источников в Южно-Казахстанской области. В настоящем исследовании мы провели изучение активности *in vitro* в отношении клинических изолятов бруцелл традиционно применяемых для лечения бруцеллёза в Казахстане антибиотиков (доксциклин, рифампицин, гентамицин) и сульфаниламидов (ТМП/СМ), а также фторхинолона, введённого в схему этиотропной терапии данной инфекции в последнее время — ципрофлоксацина.

Для оценки чувствительности нами был выбран Е-тест как технически более простой метод, нежели метод разведения в бульоне, но одновременно с этим более безопасный для лабораторных работников и более стандартизованный по сравнению с методами разведения в бульоне и простым методом диффузии в агар.

В целом все изучавшиеся штаммы бруцелл оказались чувствительными к исследуемому антибактериальным препаратам.

В соответствии с МИК₉₀ наиболее эффективным *in vitro* в отношении бруцелл препаратом оказался доксициклин (0,07 мг/мл). Второе место по эффективности занял ципрофлоксацин (0,098 мг/мл). Несмотря на то, что рифампицин *in vitro* оказался эффективен в отношении клинических изолятов бруцелл, настоятельно его относительно высокие МИК, необходимые для подавления бактериального роста. Это можно связать с тем, что на территории Южно-Казахстанской области помимо бруцеллёза также широко распространён и туберкулёз, для лечения которого широко применяется данный препарат. Это может приводить к селекции устойчивых штаммов бруцелл, например, при микст-инфекции.

Несмотря на появление новых противобруцеллёзных препаратов, производные тетрациклина всё ещё остаются наиболее часто назначаемыми антибиотиками для лечения бруцеллёза в Казахстане в связи с их отличными фармакокинетическими характеристиками. Оправданность такого подхода подтверждают и наши исследования. Доксициклин как по МИК₅₀, так и МИК₉₀ оказался наиболее эффективен в отношении клинических изолятов бруцелл *in vitro*.

Другим препаратом выбора для лечения бруцеллёза, согласно схеме ВОЗ 1986 года, является рифампицин. В нашем исследовании этот антибиотик, хотя и оказался эффективен в отношении клинических изолятов бруцелл, потребовал относительно более высоких концентраций по сравнению с другими препаратами. Это может свидетельствовать о нарастании антибиотикорезистентности по отношению к рифампицину в регионе южного Казахстана. Тем не менее, необходимо учитывать возрастание активности антибиотика в кислой среде (например, в фаголизосомах), поэтому рифампицин остаётся препаратом выбора для лечения тяжёлых форм бруцеллёза.

Гентамицин показал относительно низкую эффективность в отношении бруцелл. В этой связи и в связи с его известной ототоксичностью следует пересмотреть практику частого включения данного антибиотика в схему лечения бруцеллёза у детей.

ТМП/СМ показал достаточно высокую эффективность в отношении бруцелл. Его низкая стоимость и простота применения (перорально) делает его перспективным для лечения неосложнённых форм бруцеллёза.

Наше исследование, проведённое в отношении цiproфлоксацина, показало, что этот фторхинолон более эффективен в отношении бруцелл, нежели другие препараты, хотя и уступает доксициклину. В этой связи случаи клинической неэффективности цiproфлоксацина (*in vitro*) нуждаются в дополнительном изучении.

Глава 5. Внутриклеточная активность ряда антибактериальных препаратов в отношении *Brucella melitensis* 1251 на модели инфицированных моноцитов человека Mono MAC 6. На протяжении всего периода наблюдения не было выявлено каких-либо токсических эффектов от применённых антибактериальных препаратов в отношении не инфицированной клеточной линии.

Внутриклеточной эрадикации бруцелл удалось достичь лишь при использовании 8 МИК гентамицина и стрептомицина, поскольку эти антибиотики практически не проникали внутрь клеток.

Рифампицин и тетрациклины успешно снижали число внутриклеточных бактерий уже при 0,25 МИК, а цiproфлоксацин – при 1 МИК.

Таким образом, стрептомицин и гентамицин, входящие в рекомендуемые ВОЗ схемы этиотропного лечения бруцеллёза, не позволяют достичь эффективной эрадикации внутриклеточного возбудителя.

Наибольшую эффективность в отношении внутритрикеточных бруцелл показали тетрациклины и рифампицин.

Глава 6. Чувствительность *in vitro* к антибактериальным препаратам *Brucella melitensis* при различных значениях pH. Все взятые в работу антибактериальные препараты показали достаточную эффективность в отношении большинства клинических изолятов бруцелл при pH 7,0 с МИК, при которой 90% штаммов подавлялись (МИК₉₀) согласно пороговым значениям Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) США.

Полученные значения МИК для индивидуальных противобруцеллёзных препаратов приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Активность *in vitro* антибактериальных препаратов в отношении изолятов *B. melitensis* (n = 126), связанная с различной кислотностью среды (мкг /мл)

Препарат	Ранги		МИК ₅₀		МИК ₉₀		Пороговые значения чувствительности согласно CLSI
	pH 7	pH 5	pH 7	pH 5	pH 7	pH 5	
Доксициклин	0,032 – 0,5	0,032 – 0,5	0,038	0,025	0,064	0,064	≤ 2,0
Рифампицин	0,38 – 1,0	0,31 – 1,0	0,5	0,25	0,75	0,72	≤ 1,0
Гентамицин	0,064 – 0,25	0,125 – 0,5	0,125	0,25	0,25	0,52	Не определено
Ципрофлоксацин	0,094 – 0,5	0,38 – 1,0	0,125	0,5	0,25	1,2	≤ 1,0
Офлоксацин	0,064 – 0,25	0,256 – 1,0	0,125	0,5	0,21	1,0	≤ 1,0

Как видно из таблицы, только доксициклин и рифампицин сохраняли активность в отношении бруцелл в кислой среде. Фторхинолоны (ципрофлоксацин и офлоксацин) были достаточно эффективны при pH 7,0, но в условиях кислой среды снижали активность в 4 раза. Гентамицин также терял активность в отношении бруцелл при pH 5,0.

Таким образом, полученные результаты не позволяют отказаться от традиционно используемой комбинации доксициклин плюс рифампицин в лечении бруцеллёза.

Глава 7. Клиническая оценка эффективности схем «доксициклин плюс рифампицин» против «ципрофлоксацин плюс рифампицин» при лечении бруцеллёза. За пациентами обеих групп осуществлялось медицинское наблюдение в течение 3 месяцев после окончания этиотропного лечения даже в случае полной клинико-лабораторной ремиссии.

У 3 (12,0%) пациентов из группы «доксициклин плюс рифампицин» и у 3 (13,6%) пациентов из группы «ципрофлоксацин плюс рифампицин» наблюдался рецидив заболевания в течение периода наблюдения. При посеве крови на селективную транспортную среду с последующим пересевом на бифазную среду по Кастанеде роста культуры бруцелл выявлено не было. Нами не выявлено статистически значимых различий в частоте рецидивов среди пациентов двух групп.

После начала лечения лихорадка купировалась в среднем через 104 ± 24 часов в группе больных, получавших доксициклин в сочетании с рифампицином и через 86 ± 21 часов в группе больных, получавших комбинацию цiproфлоксацин плюс рифампицин ($p > 0,05$; различие статистически незначимо).

Побочные эффекты были ожидаемо ниже в группе «ципрофлоксацин плюс рифампицин», поскольку неблагоприятное влияние доксициклина на желудочно-кишечный тракт хорошо известно, хотя число наблюдений недостаточно для проверки статистической значимости различий.

Все больные, у которых наблюдался рецидив, получили дополнительно комплексное лечение комбинацией доксициклина per os (6 недель) и гентамицина внутримышечно (3 недели) с хорошим клиническим эффектом. Повторные рецидивы нами не наблюдались.

Глава 8. Оценка эффективности комбинации «азитромицин плюс рифампицин» для лечения бруцеллёза. Из 18 пациентов с острым бруцеллёзом, которые получали схему лечения «азитромицин + рифампицин», все завершили 21-дневный курс лечения данным препаратом. Ни у одного пациента мы не наблюдали возможных побочных эффектов от приёма препарата.

Несмотря на проводимое лечение, у 2 пациентов сохранялись признаки патологического процесса: в 1 случае — боль в спине, а в 1 — развились признаки правостороннего гонита. У этого же больного на фоне лечения сохранялась субфебрильное повышение температуры тела, в результате чего он был исключён из исследования. Назначение комбинации доксициклина перорально в сочетании с гентамицином внутримышечно в обычных дозировках привело к купированию патологической симптоматики у этого больного.

По окончании терапии на 2 неделе от момента лечения у 2 больных отмечался рецидив инфекции. У 1 пациента наблюдался субфебрилитет, а также нарастание титра противобруцеллёзных антител в парных сыворотках, у 2-го - отмечались явления артрита левого локтевого сустава, а также выделение *Brucella melitensis* из крови.

У остальных наблюдавшихся больных лечение комбинацией «азитромицин + рифампицин» расценено как успешное.

Глава 9. Связь между чувствительностью к антибактериальным препаратам бруцелл *in vitro* и частотой рецидивов у больных бруцеллёзом. Под нашим проспективным наблюдением находилось 84 больных с острым бруцеллёзом с положительной гемокультурой (во всех случаях была выделена *B. melitensis*), получавшие лечение согласно схеме. В настоящее исследование включены только случаи, когда больные принимали предписанные препараты корректно и полностью завершили курс лечения.

Из 84 наблюдавшихся 56 (66,7%) были мужчины, а 28 (33,3%) - женщины. Возраст пациентов варьировал от 14 до 62 лет ($36,4 \pm 5,26$).

У всех пациентов отмечались симптомы, характерные для острого бруцеллёза. У 12 больных были симптомы спондилита, у 1 — сакроилеита, у 8 — орхита.

У каждого больному выполнялись стандартные диагностические серологические исследования (Роз-Бенгал проба, реакции Райта и Хеддльсона), а также не менее 4 исследований на гемокультуру бруцелл. Идентификация бруцелл проводилась общепринятыми методами.

Определение минимальной ингибирующей концентрации в отношении бруцелл каждого из изучавшихся препаратов (рифампицин, цiproфлоксацин, тетрациклин, доксициклин, гентамицин и стрептомицин) методом серийных разведений в печёночном бульоне.

Наличие симптомов основного заболевания у больного после проведения курса этиотропного лечения расценивалось как несостоятельность терапии.

Пациенты были разбиты на три группы по 28 человек в каждой, получавшие различные режимы антибактериальной терапии: группа А получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс гентамицин 2 мг / кг в три приёма внутримышечно; группа Б получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс цiproфлоксацин по 1 г 4 раза в день; группа В получала доксициклин по 100 мг 2 раза в день плюс рифампицин по 150 мг 4 раза в день. Продолжительность лечения гентамицином составила 14 дней, пероральными антибактериальными препаратами — 45 дней.

После проведения лечения больные наблюдались в течение 3 месяцев с ежемесячной постановкой серологических реакций на бруцеллёз и посевом крови на гемокультуру бруцелл.

Начальный период этиотропного лечения у всех наблюдавшихся больных протекал благоприятно и сопровождался угасанием симптомов общей интоксикации: аксиллярная температура снижалась до нормальных цифр на 1-3 сутки от начала заболевания, снижалась или исчезала слабость, головная боль, общее недомогание.

Рецидив бруцеллёза отмечался у 6 (21,4%) больных из группы А, у 3 (10,7%) - из группы Б и у 2 (7,1%) - из группы В. В 1 случае рецидив наступил в первый месяц после окончания этиотропного лечения, в 9 — на второй и в 2 — на третий. В 18 случаях после окончания этиотропного лечения наблюдалось повторное выделение культуры *B. melitensis*.

Среди больных с рецидивами бруцеллёза не было выявлено статистически значимых различий в поле, возрасте и длительности заболевания до начала этиотропного лечения. Наибольшую частоту рецидивов дал режим А, что находит объяснение в отсутствии внутриклеточной активности у гентамицина.

Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) исследуемых препаратов в отношении клинических изолятов бруцелл у больных с и без рецидивов были схожими (таблица 2).

Таблица 2 — МИК (мг/мл) противобруцеллёзных препаратов, использованных при различных режимах терапии у больных с и без рецидива бруцеллёза

<i>Терапевтическая группа</i>	<i>Доксициклин</i>	<i>Гентамицин</i>	<i>Ципрофлоксацин</i>	<i>Рифампицин</i>
Рецидив (6) Эрадикация бруцелл (22)	0,09±0,03 0,06±0,03	0,34±0,1 0,16±0,1		
Рецидив (3) Эрадикация бруцелл (25)	0,11±0,01 0,06±0,03		0,32±0,1 0,21±0,3	
Рецидив (2) Эрадикация бруцелл (26)	0,10±0,03 0,09±0,03			1,4±0,7 0,53±0,3

МИК для бруцелл, выделенных в начале заболевания, и для микроорганизмов, выделенных в период рецидива не дали статистических различий для всех изучаемых препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее эффективными противобруцеллёзными препаратами *in vitro* по данным Е-теста являются доксициклин и ципрофлоксацин, которые также проявили высокую внутриклеточную активность. Отмечается тенденция к нарастанию резистентности по отношению к рифампицину у клинических изолятов бруцелл, выделенных в Южно-Казахстанской области.
2. Стрептомицин и гентамицин, входящие в рекомендуемые ВОЗ схемы этиотропного лечения бруцеллёза, не позволяют достичь эффективной эрадикации внутриклеточного возбудителя.
3. Наибольшую эффективность в отношении внутриклеточных бруцелл показали тетрациклины и рифампицин.
4. Только доксициклин и рифампицин сохраняют активность в отношении бруцелл в кислой среде. Фторхинолоны (ципрофлоксацин и офлоксацин) были достаточно эффективны при рН 7,0, но в условиях кислой среды снижали активность в 4 раза. Гентамицин также терял активность в отношении бруцелл при рН 5,0.
5. Комбинация «ципрофлоксацин плюс рифампицин» по результатам наших наблюдений оказалась столь же эффективной, как и традиционно используемый режим «доксициклин плюс рифампицин». Хотя первая схема лечения и вызывает в среднем более быстрое купирование лихорадки, нежели при использовании второго режима лечения, высокая частота рецидивов (13,6%) не позволяет рекомендовать эту схему при лечении бруцеллёза как терапию выбора.
6. Бруцеллы в течение обусловленной ими инфекции сохраняют сходную чувствительность по отношению к этиотропным агентам, которая не изменяется и в период рецидива.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В комплексе с традиционной этиотропной терапией больных бруцеллёзом могут быть рекомендованы антибактериальные препараты ципрофлоксацин и азитромицин. Рекомендуется удлинить курс лечения данными препаратами до 42 дней во избежание рецидивов.
2. Недопустимо применение фторхинолонов для лечения бруцеллёза в виде монотерапии коротким курсом (3 недели) в связи с высокой частотой несостоятельности лечения.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бердалиева Ф.А., Сыздыков М.С., Мырзабекова Г.Ж., Бегалиев С.Б., Джубанишбаева Т.Ж. Подходы к эффективности этиотропной терапии бруцеллёза в Казахстане // Материалы IV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 26-28 марта 2012 г.). – М., 2012. – С. 53-54
2. Бердалиева Ф.А. Обоснование подходов к этиотропному лечению бруцеллёза // Наука и новые технологии. – 2010. - №9. – С. 24-27
3. Бердалиева Ф.А. Связь между чувствительностью к антибактериальным препаратам бруцелл *in vitro* и частотой рецидивов у больных бруцеллёзом // Наука и новые технологии. – 2010. - №9. – С. 20-21
4. Бердалиева Ф.А., Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Абуова Г.Н. Клиническая оценка эффективности схем «доксциклин плюс рифампицин» против «ципрофлоксацин плюс рифампицин» при лечении бруцеллёза // Медицина Кыргызстана. – 2012
5. Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Бердалиева Ф.А., Грушина Т.А., Даулбаева С.Ф., Тянь А.Д. Бруцеллёз в неблагополучных сельских регионах Казахстана // Гигиена, эпидемиология и иммунобиология. - 2005. - №3. - С. 62-65
6. Совершенствование диагностики бруцеллёза / М.С. Сыздыков, Кузнецов А.Н., Бердалиева Ф.А., Денисов Г.И. // Перспективы и пути развития неотложной педиатрии: Материалы Ежегодной междисциплинарной научно-практической конференции стран СНГ, 3-4 февраля 2006 г. - СПб, 2006. - С. 187-189
7. Кузнецов А.Н., Сыздыков М.С., Аубакиров С.А., Цирельсон Л.Е., Бердалиева Ф.А., Березовский Д.В., Атшабар Б.Б. Факторы, определившие динамику эпизоотической ситуации по бруцеллёзу в Республике Казахстан // Эрдэм шинжилгээний бүтээл. - 2008. - №16. - С. 180-187

8. Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Абуова Г.М., Бердалиева Ф.А., Садыкова С.С. Оценка эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллёзу в республике Казахстан с использованием географических информационных технологий // Гигиена, эпидемиология и иммунобиология. - 2011. - №4. - С. 69-75
9. Сыздыков М.С., Атшабар Б.Б., Бердалиева Ф.А., Кузнецов А.Н., Дуйсенова А.К., Абуова Г.Н., Умарова С.К. Обоснование подходов к этиотропной терапии бруцеллёза с использованием модели человеческих моноцитов Mono Mac 6 // Журнал инфектологии (Приложение: Материалы Второго конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням, Астана, 12-14 сентября 2012 г.). – 2012. – Т. 4. - №3. – С. 96
10. Абуова Г.Н., Бердалиева Ф.А., Кузнецов А.Н., Сыздыков М.С., Дуйсенова А.К., Березовский Д.В., Садыкова С.С. Чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов бруцелл, выделенных из различных клинических источников в Южно-Казахстанской области // Центрально-Азиатский научно-практический журнал по общественному здравоохранению. – 2012. – Т.10, №4. – С. 23-26
11. Duisenova A., Syzdykov M., Kuznetsov A., Abuova G., Berdaliieva F. Evaluation of intracellular activity of a number of antibacterial preparations concerning *Brucella melitensis* 1251 // EKMUD Congress (Infectious Diseases & Clinical Microbiology), 9-12 May 2012. – Istanbul, 2012. – P. 148
12. Бердалиева Ф.А., Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Абуова Г.Н., Дуйсенова А.К. Внутриклеточная активность ряда антибактериальных препаратов в отношении бруцелл // Материалы IV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 26-28 марта 2012 г.). – М., 2012. – С. 53-54
13. Абуова Г.Н., Бердалиева Ф.А., Кузнецов А.Н., Сыздыков М.С., Дуйсенова А.К., Садыкова С.С., Березовский Д.В. Внутриклеточная активность ряда антибактериальных препаратов в отношении *Brucella melitensis* 1251 на модели инфицированных моноцитов человека Mono MAC 6 // Зоонозные инфекции: вчера, сегодня, завтра. Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённой Двадцатилетию Независимости Республики Казахстан, г. Алматы, 24-25 декабря 2011 г. - Алматы: КазНМУ, 2011. - С. 53-54
14. Бердалиева Ф.А. Патологическое обоснование этиотропной терапии бруцеллёза // Гигиена, эпидемиология, иммунобиология. - 2012. - №2(52). - С. 100-102
15. Бердалиева Ф.А. Оценка значимости ципрофлоксацина как компонента этиотропной терапии острого бруцеллёза // Карантинные и зоонозные

- инфекции в Казахстане. - 2012. - №2(26). - С. 51-55
16. Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Бердалиева Ф.А., Казаков С.В., Дуйсенова А.К., Абуова Г.Н. Чувствительность *in vitro* к антибактериальным препаратам *Brucella melitensis* при различных значениях pH // Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане. - 2012. - №2(26). - С. 132-142
17. Бердалиева Ф.А., Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Абуова Г.Н., Дуйсенова А.К. Современные подходы к проведению этиотропной терапии бруцеллза: Методические рекомендации / МЗ РК; РЦ Инновационных технологий медицинского образования и науки; КНЦКЗИ; КазНМУ. – Алматы, 2012. – 14 с.

РЕЗЮМЕ

диссертации Бердалиевой Фариды Абдуллаевны на тему: «Клинико-экспериментальное обоснование подходов повышения эффективности этиотропной терапии бруцеллёза», на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 инфекционные болезни

Ключевые слова: бруцеллёз, лечение, внутриклеточный паразитизм, рН, антибиотики, сульфаниламиды, фторхинолоны.

Цель исследования: Оценка противобруцелллезной активности ряда препаратов во вне- и внутриклеточной среде и при различных условиях рН для оптимизации этиотропного лечения больных бруцеллёзом.

Методы исследования: метод культуры клеток, Е-тест, клиническое обследование, общеклинические лабораторные исследования, серологические и бактериологические методы диагностики, методы статистической обработки.

Научная новизна работы. Впервые проведена оценка антибиотикочувствительности клинических изолятов бруцелл, циркулирующих на территории Южно-Казахстанской области. Впервые доказано, что стрептомицин и гентамицин, входящие в рекомендуемые ВОЗ схемы этиотропного лечения бруцеллёза, не позволяют достичь эффективной эрадикации внутриклеточного возбудителя. Наибольшую эффективность в отношении внутриклеточных бруцелл показали тетрациклины и рифампицин.

Показано, что гентамицин и фторхинолоны снижают активность при рН 5,0, в то время как доксициклин и рифампицин её сохраняют.

Впервые доказано, что бруцеллы в период всего заболевания сохраняют сходную чувствительность по отношению к этиотропным агентам, которая не изменяется и в период рецидива. Это даёт основание полагать, что в основе несостоятельности лечения бруцеллёза лежат механизмы внутриклеточного выживания возбудителя.

Показано, что наибольшая частота рецидивов отмечена в группе больных, получавших комбинацию доксициклин плюс гентамицин, что находит объяснение в отсутствии внутриклеточной активности у гентамицина.

Впервые в Казахстане показана высокая терапевтическая активность азитромицина при лечении больных бруцеллёзом.

Область применения. Лечение больных бруцеллёзом. Учебный процесс подготовки студентов медицинских ВУЗов и постдипломной подготовки врачей на кафедре инфекционных болезней.