

# ФЕНОМЕН БИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

А.С. Занько<sup>1</sup>, Д.М. Семенов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УЗ «Витебский городской родильный дом № 2», Беларусь

<sup>2</sup>УО «Витебский государственный медицинский университет», Беларусь

## Резюме

В статье приведен анализ исследования уровня собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови в группе исследуемых женщин. Женщины были разделены по признакам в зависимости от наличия беременности, срока гестации, наличия воспалительного процесса. Бета-лактамазную активность в сыворотке крови исследуемых пациентов определяли с использованием Тест-системы Биолактам. У всех пациенток был выявлен тот или иной ненулевой уровень собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови. Высокий уровень бета-лактамазной активности крови у таких пациенток будет препятствовать успешному лечению, снижая эффективность назначенных им антибактериальных препаратов из группы бета-лактамов. В свою очередь определение биологической резистентности к бета-лактамам антибиотикам позволяет сократить необоснованное их применение и повысить эффективность лечения.

## Ключевые слова

Бета-лактамазная активность сыворотки крови, Тест-система Биолактам.

Беременность и лактация — периоды, отмечающиеся в жизни практически каждой женщины. Вполне естественно, что возникающие в эти периоды различные заболевания, как специфически характерные, так и экстрагенитальные, требуют медикаментозного лечения. В немалом числе случаев показана антибактериальная терапия. Антибактериальные лекарственные средства — самая трудная для применения группа лекарств, так как она требует учета не только механизма действия препарата, но и основ клинической микробиологии. При выборе и назначении антибактериального лекарственного средства

при беременности необходимо учитывать его возможность оказывать неблагоприятное воздействие на развивающийся плод и новорожденного, что в определенной мере ограничивает перечень антибактериальных лекарственных средств, используемых при беременности и лактации [1].

Бета-лактамы являются лидерами среди антибактериальных препаратов, которые назначаются врачом при беременности. Это связано с их относительной безопасностью, хорошей переносимостью и широким спектром действия. Поэтому очень важно, чтобы они при этом оказывали максимальный эффект. Достижение необходимого результата (уничтожение



бактериального агента) возможно при соблюдении нескольких условий. Во-первых, правильно подобранный препарат в необходимой дозировке. Антибиотик подбирается в соответствии с нозологией заболевания, чувствительностью бактериального агента к данному препарату. Во-вторых, соблюдение пациентом режима приема антибиотика. И, в-третьих, необходимо учитывать бета-лактамазную резистентность как у макро-, так и у микроорганизма. На наличие этого условия нельзя повлиять, однако возможно своевременно диагностировать и изменить выбор препарата.

Способность к продукции различных типов бета-лактамаз в различных концентрациях была выявлена у множества бактерий, как грам (+), так и в особенности грам (-). Вплоть до настоящего времени антибиотикоустойчивость болезнетворных бактерий рассматривалась лишь как приспособительная реакция микроорганизмов. При этом исследователи и клиницисты традиционно не принимают во внимание, что организм человека, со своей стороны, также небезразличен к введению антибиотиков. Антибиотики являются для макроорганизма чужеродными веществами, от которых он стремится освободиться, используя для этого разнообразные механизмы [2]. Так, общеизвестна система окислительной деградации чужеродных соединений, включая бета-лактамы антибиотиков, под воздействием системы цитохромов P450 преимущественно в печени; тем не менее для бета-лактамов данный путь разрушения не является основным. Существуют и другие пути распада антибиотиков в организме [5].

Феномен собственной бета-лактамазной активности человеческой крови известен достаточно давно. Однако его клиническое значение не исследовалось, и в результате это явление осталось незамеченным научным сообществом [3]. К основным факторам собственной бета-лактамазной активности человеческой крови можно отнести воздействие на молекулы антибактериального препарата человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Помимо ЧСА, большинство белковых фракций крови обладает бета-лактамазной активностью, составляющей приблизительно 9,6% от общей сывороточной. Собственной бета-лактамазной активностью обладают также и поликлональные IgG [3, 4].

С учетом вышеперечисленного, появляются новые подходы к объяснению некоторых наблюдаемых в клинике феноменов. Так, при ряде инфекционных заболеваний описана клиническая (т.е. *in vivo*) неэффективность различных бета-лактаменных антибиотиков, которые *in vitro* эффективно подавляли жизнедеятельность возбудителей соответствующих заболеваний. Данное явление может объясняться как особенностями локализации возбудителей в организме челове-

ка и фармакокинетикой конкретных антибактериальных препаратов, так и наличием в крови пациентки значительного титра каталитических антител, способных эффективно гидролизовать соответствующие антибиотики [2, 5, 6].

Проблема биологической  $\beta$ -лактамазной активности (сыворотка крови и другие биологические жидкости обладают собственной  $\beta$ -лактамазной активностью), при которой происходит разрушение  $\beta$ -лактаменных антибиотиков в различных биологических жидкостях макроорганизма и тем самым снижается клиническая эффективность  $\beta$ -лактаменных антибактериальных лекарственных средств, определяет необходимость изменения тактики подбора антибактериальной терапии.

Исследование уровня бета-лактамазной активности биологических субстратов (сыворотки крови и околоплодных вод) в акушерстве и гинекологии является перспективным методом, позволяющим осуществить рациональный подбор антибактериальной терапии и избежать неэффективного применения бета-лактаменных антибиотиков.

**Цель исследования** — изучить уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин в сравнении с небеременными и оценить клиническое значение биологической резистентности к бета-лактаменным антибиотикам у данной группы пациенток.

## Материалы и методы

Проведено исследование образцов крови беременных женщин ( $n=423$ ), гинекологических пациенток ( $n=46$ ), образцов околоплодных вод 40 женщин ( $n=40$ ) в сроке беременности 36-42 нед., находившихся на стационарном лечении в Витебском городском клиническом роддоме № 2 с определением собственной (т.н. «биологической») бета-лактамазной активности сыворотки крови и околоплодных вод. Общее количество учтенных случаев составило 469. Забор проб околоплодных вод осуществлялся при проведении операций кесарева сечения. Собранные пробы хранились при  $-20^{\circ}\text{C}$  при условии однократного размораживания непосредственно перед исследованием. При заборе околоплодных вод проводился посев всех полученных образцов на бактериальную флору.

Бета-лактамазную активность в сыворотке крови исследуемых пациенток, полученной путем центрифугирования цельной свежеполученной крови, выдержанной в холодильной камере при  $+4^{\circ}\text{C}$  в течение 4-6 часов для образования фибринового сгустка, при 3000 об./мин в течение 15 минут и в околоплодных водах, определяли с использованием Тест-системы Биолактам (ТУ ВУ391353648.001-2011). Учет результатов проводился с помощью программного обеспече-

ния, адаптированного к ИФА-анализатору производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь (фотометр универсальный Ф300 ТП).

Возраст исследуемых женщин составил от 12 до 59 лет. Средний возраст составлял 28,4 года. Беременные женщины были разделены на 3 группы в зависимости от срока гестации. I триместр — до 12 недель беременности (n=54), II триместр — 13-27 недель беременности (n=64), III триместр — с 28 недель до родов (n=305). Среди всех исследованных женщин у 79 были выявлены инфекционные заболевания бактериальной этиологии, требующие назначения антибактериальной терапии (73 случая бактериальной инфекции половых путей (цервицит, кольпит), 6 случаев пиелонефрита). 390 женщин были здоровы.

Диагностика заболеваний у пациентов, вошедших в исследование, осуществлялась в соответствии с общими принципами и правилами клинической и лабораторной диагностики, изложенными в клинических протоколах наблюдения беременных, рожениц, родильниц, диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии, утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь (09.10.2012 г. № 1182).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0, Microsoft Excel 2007. Для обработки статистических данных использовались методы непараметрической статистики. Количественные данные представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25%; 75%). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости  $p$  принимали равным 0,05. Достоверность выявляемых различий средних значений сравниваемого признака в двух независимых выборках оценивали по  $U$ -критерию значимости Манна-Уитни. Анализ корреляционных зависимостей проведен с использованием метода Спирмена.

Исследование имело «срезовой» (cross-sectional) дизайн, основывалось на пассивном наблюдении за динамикой течения беременности (observational design), являлось проспективным. В дизайне исследования предусмотрено наличие контрольной группы. Статистический анализ результатов исследования производился с использованием аналитических пакетов Statistica 8.0.

## Результаты и их обсуждение

Собственная бета-лактамазная активность сыворотки крови исследовалась у беременных женщин в разные триместры беременности

**Таблица 1**

Средний уровень и разброс значений собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови среди обследованных

Группа	n	M	95% ДИ	min	max	Me	Lower Quartile	Upper Quartile
I триместр беременности	54	54,69	52,68...56,7	35,4	66,8	55,1	51,0	60,6
II триместр беременности	64	54,03	52,11...55,94	30,8	72,1	55,05	50,7	59,5
III триместр беременности	305	53,98	53,18...54,78	22,9	74,6	54,6	49,9	58,6
Все беременные	423	54,12	53,45...54,7	22,9	74,6	54,7	50,0	59,1
Небеременные	45	55,19	52,31...58,08	28,4	70,1	57,3	50,1	61,7

и у небеременных женщин. У всех пациенток был выявлен тот или иной ненулевой уровень собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови. Средний уровень указанной активности вместе с показателями разброса значений (дисперсии) данного признака для каждой из групп пациенток, включенных в настоящее исследование, приведен в табл. 1.

Согласно полученным данным, средний уровень бета-лактамазной активности в рассматриваемых группах достаточно близок, но разброс отдельных значений при этом весьма велик; при этом наиболее типичные значения активности лежат в интервале 55-65% распада внесенного в пробу нитроцефина. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у небеременных пациенток ( $p>0,05$ ).

У 40 женщин из исследуемой группы, которые родоразрешались путем операции кесарева сечения, помимо сыворотки крови, исследовались околоплодные воды (табл. 2). В околоплодных водах установлен более низкий по сравнению с сывороткой крови средний уровень бета-лактамазной активности 33,58 (95% ДИ 23,37...43,79).

В большинстве проб околоплодных вод средний уровень бета-лактамазной активности был ниже клинически значимого, однако у 8 (20%) пациенток значения активности находились в интервале 25-45% и были выше клинически значимого.

Значительно более низкий уровень бета-лактамазной активности околоплодных вод по сравнению с сывороткой крови, очевидно, связан с достаточно низким по сравнению с сывороткой содержанием альбумина в околоплодных

**Таблица 2**

Средний уровень и разброс значений собственной бета-лактамазной активности в околоплодных водах

n	M	95% ДИ	min	max	Me	Lower Quartile	Upper Quartile
40	33,58	23,37...43,79	11,88	51,0	22,05	19,21	37,98

водах  $2,0 \pm 0,87$  г/л, который, как было продемонстрировано в ряде исследований [Жильцов и др., 2010], вносит основной вклад и определяет базовый уровень собственной бета-лактамазной активности.

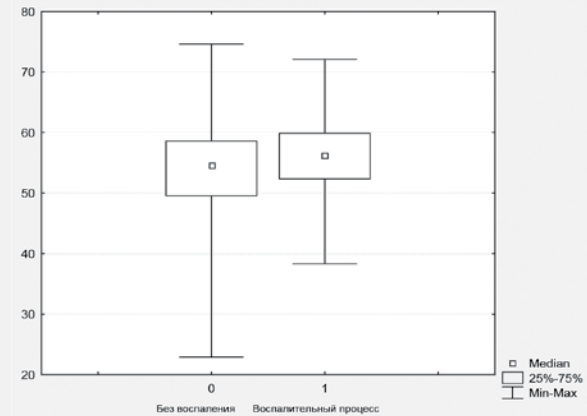
Необходимо отметить, что все женщины с высоким уровнем бета-лактамазной активности в околоплодных водах имели соотносимо высокий, клинически значимый уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови.

Среди пациенток, включенных в исследование, у 99 женщин имелся острый воспалительный процесс различной локализации. 370 женщин были здоровы. При анализе бета-лактамазной активности сыворотки крови у здоровых женщин и пациенток с острым воспалительным процессом различной локализации были получены следующие результаты (табл. 3).

Необходимо отметить более высокие средние показатели уровня бета-лактамазной активности среди пациенток с бактериальными инфекциями по сравнению с женщинами без признаков воспалительных процессов на момент обследования. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин с бактериальными инфекциями составляли 56,06% (95% ДИ 54,53...57,58), у беременных женщин без воспалительных процессов — 53,69% (95% ДИ 52,93...54,44) (рис. 1). Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у небеременных женщин с воспалительными процессами составляли 58,97% (95% ДИ 54,87...63,07), у пациенток гинекологического отделения без воспалительных процессов на момент обследования — 53,81% (95% ДИ 50,32...57,3) При проведении попарного сравнения медиан уровней бета-лактамазной активности в исследуемых группах (тест Манна-Уитни) установлена статистически значимая более высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови ( $p < 0,001$ ) в группе небеременных пациенток с воспалительным процессом по сравнению с пациентками гинекологического отделения без воспалительных процессов (рис. 2).

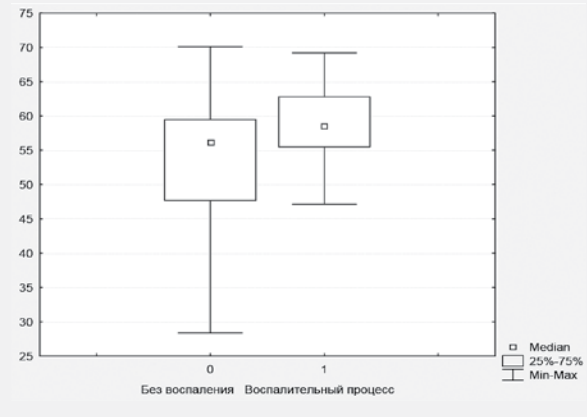
**Рисунок 1**

Уровни бета-лактамазной активности у беременных женщин



**Рисунок 2**

Уровни бета-лактамазной активности у небеременных женщин



В исследовании установлена группа пациенток с высокой (более 68,2%) бета-лактамазной активностью сыворотки крови. Среди обследованных женщин ( $n=469$ ) клинически значимую бета-лактамазную активность имели 93 (19,8%). Высокий уровень бета-лактамазной активности крови у данных пациенток будет

**Таблица 3**

Средний уровень и разброс значений собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови в различных группах пациенток

Группа	N	M	95% ДИ	min	max	Me	Lower Quartile	Upper Quartile
Здоровые беременные	340	53,69	52,93...54,44	22,9	74,6	54,5	49,5	58,6
Беременные с воспалительным процессом	83	56,06	54,53...57,58	38,3	72,1	56,1	52,3	59,9
Здоровые небеременные	30	53,81	50,32...57,30	28,4	70,1	55,8	47,7	59,5
Небеременные с воспалительным процессом	16	58,97	54,87...63,07	47,1	69,2	58,5	55,5	62,8
Всего	469	54,16	53,49...54,83	22,9	74,6	54,8	50,0	59,2

препятствовать успешному лечению, снижая эффективность назначенных им антибиотиков бета-лактаминового ряда.

## Выводы

1. Сыворотка крови характеризуется наличием определенного уровня бета-лактаминазной активности; средний уровень указанной активности составляет 61,2% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (95% ДИ: 60,3...62,1). Средние показатели бета-лактаминазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у небеременных пациенток ( $p > 0,05$ ) и существенно не меняются со сроком беременности ( $p > 0,05$ ).
2. Околоплодные воды характеризуются наличием определенного уровня бета-лактаминазной

активности; средний уровень указанной активности составляет 33,5% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (95% ДИ: 23,37...43,79), причем значения данного признака изменяются в диапазоне от 11,9 до 66,9%.

3. При беременности клинически значимая бета-лактаминазная активность сыворотки крови диагностируется у 19,8% женщин. Высокий уровень бета-лактаминазной активности крови у таких пациенток будет препятствовать успешному лечению, снижая эффективность назначенных им антибактериальных препаратов из группы бета-лактаминов. В свою очередь определение биологической резистентности к бета-лактаминам антибиотикам позволяет сократить необоснованное их применение и повысить эффективность лечения.

*Надійшла до редакції 23.03.2016 р.*

## Список использованной литературы

1. Стриженко Е.А., Гудков И.В., Страчунский Л.С. Применение лекарственных средств при беременности: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования // КМАХ. — 2007. — № 9 (2). — С. 162-75.
2. Семенов В.М. Микробиологические и биологические аспекты резистентности к антимикробным препаратам / В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко, И.В. Жильцов // Медицинские новости. — 2004. — № 2. — С. 7-12.
3. A secondary drug resistance mutation of TEM-1 beta-lactamase that suppresses misfolding and aggregation / V. Sideraki [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — Vol. 98, № 1. — P. 283-288.
4. ДНК-гидролизующие IgG антитела из крови больных некоторыми инфекционными заболеваниями / Е.С. Одинцова [и др.] // Иммунопатол., аллергол., инфектол. — 2006. — № 2. — С. 49-55.
5. Assays for beta-lactamase activity and inhibition / T. Viswanatha [et al.] // Methods Mol. Med. — 2008. — Vol. 142. — P. 239-260.
6. A suicide-substrate mechanism for hydrolysis of beta-lactams by an anti-idiotypic catalytic antibody / S. Lefevre [et al.] // FEBS Lett. — 2001. — Vol. 489, № 1. — P. 25-28.

## Phenomenon of the biological resistance to beta-lactam antibiotics in pregnancy

A.S. Zanko, D.M. Semenov

### Summary

The article analyzes the research of the level of own beta-lactamase activity in the serum in the group of women. The women were divided depending on the availability of pregnancy, gestational term, and presence of an inflammatory process. Beta-lactamase activity in the serum of studied patients was determined using Biolactam test system. All patients were diagnosed to have a non-zero level of own beta-lactamase activity in the serum. High levels of the blood beta-lactamase activity in such patients prevent the successful treatment reducing the effectiveness of antibacterial beta-lactam agents. In turn, the determination of the biological resistance to beta-lactam antibiotics can reduce the unwarranted use of drugs and improve the effectiveness of treatment.

**Keywords:** Beta-lactamase activity in the serum, Biolactam test system