

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

БЕТА-ЛАКТАМАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАК ФАКТОР БИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Д. М. Семенов

УО «Витебский Государственный ордена Дружбы Народов Медицинский Университет»

Реферат

Цель исследования: изучить бета-лактамазную активность сыворотки крови у беременных женщин и оценить клиническое значение данной активности сыворотки крови как фактора, определяющего биологическую резистентность к бета-лактамным антибиотикам.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов крови беременных женщин (n=423), гинекологических пациенток (n=46).

Основные результаты: У всех пациентов была выявлена бета-лактамазная активность сыворотки крови. У 19,8% выявлен высокий уровень бета-лактамазной активности крови.

Выводы: Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови значительно влияет на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактамных лекарственных средств.

Ключевые слова: бета-лактамазная активность сыворотки крови.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема применения антибактериальных лекарственных средств в акушерско-гинекологической практике с целью профилактики и лечения материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, обусловленной инфекционными осложнениями у беременных, продолжает оставаться наиболее актуальной. Во всем мире отмечается увеличение частоты этих осложнений в общей популяции беременных, а в структуре материнской смертности они занимают одно из первых мест [1].

Широкий спектр показаний для проведения антибактериальной терапии как во время, так и после беременности: инфекции у женщины (инфекции дыхательной, мочевыделительной систем, ИППП), инфекции, характерные исключительно для периода беременности (хориоамнионит), родов и послеродового периода (эндометрит), лечение инфекции у беременной для предотвращения инфицирования плода (сифилис, токсоплазмоз, листериоз, стрептококки гр. В), профилактика осложнений со стороны матери и новорожденных при преждевременном разрыве плодных оболочек, при недоношенной беременности, многоводии, мало-водии, оперативном родоразрешении, в совокупности с высокой частотой инфекционных осложнений обуславливает широкое применение антибактериальных лекарственных средств в акушерской практике. Так, на протяжении беременности, 20,8-28,7% женщин получают, по крайней мере, один антибиотик [2].

Проблема рациональной антибиотикотерапии беременных представляется достаточно трудной. Это обусловлено многогранным, зачастую неблагоприятным воздействием антибактериальных лекарственных

средств на внутриутробный плод и его развитие, что не позволяет применять на практике целый ряд антибиотиков. На сегодняшний день бета-лактамные антибиотики являются лекарственными средствами выбора при беременности. Это связано с их относительной безопасностью, хорошей переносимостью и широким спектром действия [2, 3, 4].

Эффективность антимикробной терапии во многом зависит от наличия или отсутствия резистентности как микро- так и макроорганизма. Способность к продукции различных типов бета-лактамаз в различных концентрациях была выявлена у множества бактерий, как грам (+), так и, в особенности, грам (-). До настоящего времени антибиотикоустойчивость болезнетворных бактерий рассматривалась лишь как приспособительная реакция микроорганизмов. При этом исследователи и клиницисты традиционно не принимали во внимание, что организм человека, со своей стороны, также небезразличен к введению антибиотиков. Вместе с тем, феномен собственной бета-лактамазной активности человеческой крови известен достаточно давно, однако его клиническое значение не исследовалось [5, 6, 7]. 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 [8, 9].

В настоящее время установлено, что высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови может

значимо влиять на эффективность антибактериальной терапии бета-лактамами лекарственными средствами [10]. В свою очередь, обследование пациентов на наличие биологической резистентности к бета-лактамам антибиотикам позволяет своевременно провести адекватную антибактериальную терапию, снизить вероятность развития осложнений, сократить длительность лечения, снизить частоту необоснованной смены антибиотиков, снизить стоимость терапии, уменьшить риск реализации инфекции с развитием внутриутробного инфицирования плода и получить снижение роста резистентности бактерий к антибиотикам.

Цель исследования: изучить бета-лактамазную активность сыворотки крови у беременных женщин и оценить клиническое значение данной активности сыворотки крови как фактора, определяющего биологическую резистентность к бета-лактамам антибиотикам.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов крови беременных женщин (n=423), в сроке беременности 6-42 нед., гинекологических пациентов (n=46), находившихся на стационарном лечении в Витебском городском клиническом роддоме №2 с определением собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови. Общее количество учтенных случаев составило 469.

Бета-лактамазную активность сыворотки крови (полученной путем центрифугирования цельной свежеполученной крови, выдержанной в холодильной камере при +4°C в течение 4-6 часов для образования фибринового сгустка, при 3000 об/мин в течение 15 минут) определяли с использованием тест-системы БИОЛАКТАМ (ТУ ВУ 391353648.001-2011). Учет результатов проводился с помощью программного обеспечения, адаптированного к ИФА-анализатору производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь (фотометр универсальный Ф300 ТП).

Возраст исследуемых женщин составил от 18 до 39 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 беременных женщин и у 16 небеременных женщин были выявлены инфекционные заболевания бактериальной этиологии, требующие назначения антибактериальной терапии (89 случаев бактериальной инфекции половых путей, 6 случаев пиелонефрита).

Диагностика заболеваний у пациентов, вошедших в исследование, осуществлялась в соответствии с об-

щими 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).

Статистический анализ результатов исследования производился с использованием аналитических пакетов пакета прикладных программ «Statistica» (Version 10.0 StatSoft Inc., США), AtteStat и «Excel 2010», (лицензия УО «ВГМУ»). Полученные результаты проверялись на нормальность распределения с помощью критериев Колмогорова-Смирнова. Для обработки статистических данных использовались методы непараметрической статистики. Для выявления корреляционных взаимосвязей – метод ранговых корреляций Спирмена (Spearman), для проверки достоверности различий изучаемых признаков в независимых выборках – U-тест Манна-Уитни (Mann-Whitney). Тест Манна-Уитни использовался при попарном сравнении независимых выборок. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – ошибка среднего, для представления долей использовался 95% доверительный интервал (ДИ), а также $\% \pm m$, где % - значение доли в процентах, m – стандартная ошибка доли. Для признаков, не подчиняющихся нормальному распределению данные представлены в виде медианы Me (LQ; UQ) с интерквартильным размахом (RQ) (25%-75%) Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимали равным 0,05. Для сравнения качественных данных использовали непараметрический критерий χ^2 [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Бета-лактамазная активность сыворотки крови исследовалась у беременных женщин в разные триместры беременности 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 **таблице 1**.

Согласно полученным данным, средний уровень бета-лактамазной активности в рассматриваемых группах достаточно близок, но разброс отдельных значений при этом весьма велик; наиболее типичные значения активности лежат в интервале 55-65% распада, внесенного в пробу нитроцефина. Средние

Таблица 1. Средний уровень и разброс значений 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	46	55,19	52,31...58,08	28,4	70,1	57,3	50,1	61,7

показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у не беременных пациенток ($p > 0,05$).

Среди пациенток, включенных в исследование, у 95 женщин имелся воспалительный процесс бактериальной этиологии. 374 женщины были здоровы. При анализе бета-лактамазной активности сыворотки крови у здоровых женщин и пациенток с воспалительным процессом различной локализации были получены следующие результаты (Таблица 2).

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 составлял 56,06 % (95 % ДИ 54,53...57,58), у беременных женщин без воспалительных процессов составлял 53,69 (95 % ДИ 52,93... 54,44). Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у небеременных женщин с воспалительными процессами составлял 58,97 % (95 % ДИ 54,87... 63,07), у гинекологических пациенток без воспалительных процессов на момент обследования составлял 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 гинекологическими пациентками без воспалительных процессов.

В исследовании установлена группа пациенток с высокой (более 68,2 %) бета-лактамазной активностью сыворотки крови. Среди обследованных женщин ($n=469$), клинически значимую (более 68 % распада, внесенного в пробу цефалоспоринового антибиотика нитроцефина) бета-лактамазную активность имели 93 (19,8 %) пациентки.

Для анализа влияния бета-лактамазной активности сыворотки крови на эффективность антибактериальной терапии бета-лактамами антибиотиками, пациентки с бактериальными инфекциями были разделены на две группы: 1-ая группа - пациентки, которым замена первоначально назначенной антибактериальной терапии не производилась ($n=73$), и 2-ая группа - пациентки, которым в процессе лечения замена схемы антибакте-

риальной терапии производилась ($n=26$). В обеих группах пациенток (со сменой терапии и без) были, в свою очередь, выделены подгруппы с высокой (распад более 59,8% исходно внесенного в пробу количества нитроцефина) и с низкой (соответственно, распад менее 59,8% от исходного количества нитроцефина) сывороточной бета-лактамазной активностью.

В группе пациенток с заменой антибактериальной терапии насчитывалось 8 пациенток с высокой бета-лактамазной активностью сыворотки крови (29,62%, QR 25,2...32,4), и 18 – с низкой (70,38%, QR 64,1...77,4). Соответственно, в группе пациенток, которым замена антибиотиков не производилась ($n=73$), выявлено 19 человек с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью (26,38%, QR 23,1...29,3), и 54 – с низкой (73,62%, QR 70,5...78,3). Анализ достоверности различий частот и отношений по критерию Chi-square (χ^2) показывает отсутствие значимых различий между группами пациенток с заменой антибактериальной терапии и без нее по количеству лиц с высокой и низкой бета-лактамазной активностью сыворотки крови ($p=0,11$). Все пациентки, включенные в данную выборку, получали антибактериальную терапию. Стартовая схема в большинстве случаев включала 1 антибиотик бета-лактамазного ряда, как правило – цефотаксим ($n=80$) 80,8%, (QR 72,9 – 88,7), реже цефтриаксон ($n=19$) 19,2%, (QR 72,9 – 88,7). Если в дальнейшем производилась смена схемы антибактериальной терапии, указанные антибиотики обычно заменялись на азитромицин ($n=7$) 25,9%, (QR 8,2 – 43,5) или эритромицин ($n=19$) 74,1%, (QR 62,2 – 84,5). Все замены производились при отсутствии эффекта от проводимой терапии и/или ухудшении состояния пациентки на фоне проводимой терапии.

Среди пациенток, которым производилась замена антибактериальной терапии, средняя продолжительность госпитализации составила 11,33 (10,0; 12,0) суток в подгруппе с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью против 13 (11,0; 15,0) суток в подгруппе с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью, т.е. имеет место разница в 1,67 дня, и эта разница является статистически значимой (U-тест Манна-Уитни, $p=0,01$). В подгруппе пациенток, которым замена антибактериальной терапии не производилась, средний срок госпитализации женщин с высокой сывороточной бета-лактамазной активностью составил 7,5 (7,0; 8,0) суток, а с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью – 7,31 (7,1; 8,4) суток, причем указанные

Таблица 2. Средний уровень и разброс значений бета-лактамазной активности сыворотки крови в различных группах пациенток

Группа	N	M	95 % ДИ	min	max	Me	Lower Quartile	Upper Quartile
Здоровые беременные	344	53,69	52,93...54,44	22,9	74,6	54,5	49,5	58,6
Беременные с воспалительным процессом	79	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

характеристики различаются недостоверно ($p=0,44$, U-тест Манна-Уитни).

Таким образом, в подгруппе пациенток, которым производилось изменение схемы антибактериальной терапии, высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови статистически значимо ассоциируется с высокой эффективностью замены бета-лактамов антибиотиков на антибактериальные лекарственные средства, принадлежащие к другим фармакологическим классам ($p<0,05$) (средняя продолжительность госпитализации у таких пациенток оказалась на 1,67 суток короче, чем у женщин с низкой сывороточной бета-лактамазной активностью); при этом в подгруппе пациенток, которым замена антибактериальной терапии не производилась, уровень сывороточной бета-лактамазной активности не оказывает значимого влияния на срок госпитализации.

ВЫВОДЫ

1. Сыворотка крови характеризуется наличием определенного уровня бета-лактамазной активности, средний уровень которой составляет 61,2% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (95% ДИ: 60,3...62,1). Средние показатели бета-лактамазной 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. При беременности клинически значимая бета-лактамазная активность сыворотки крови диагностируется у 19,8% женщин. Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови значимо влияет на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактамов лекарственных средств. В свою очередь, исследование уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови, определяющей биологическую резистентность к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам, позволяет своевременно провести адекватную антибактериальную терапию, снизить вероятность развития осложнений, сократить длительность лечения, снизить частоту необоснованной смены антибиотиков, снизить стоимость терапии, уменьшить риск

реализации инфекции с развитием внутриутробного инфицирования плода и получить снижение роста резистентности бактерий к антибиотикам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int>. – Дата доступа: 20.02.2015.
2. Стриженов Е.А., Гудков И.В., Страчунский Л.С. Применение лекарственных средств при беременности: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования. КМАХ. 2007; 9 (2): 162–75.
3. Руководство по инфекционным болезням / Под общей редакцией В. М. Семенова // М.: ООО «МИА». – 2009. – 752 с.
4. Руководство по инфекционным болезням / Под общей редакцией Ю. В. Лобзина // СПб: «Феникс». – 2001. – 932 с.
5. Novel method for detection of b-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate / H.C. Callaghan [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1972. – Vol. 1, №4. – P. 283-288.
6. Nerli, B. An unknown hydrolase activity of human serum albumin: beta-lactamase activity / B. Nerli, F.García, G. Picó // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1995. – Vol. 37, №5. – P. 909-915.
7. Nerli, B. Evidence of human serum albumin beta-lactamase activity / Nerli B., Picó G. // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1994. – Vol. 32, №4. – P. 789-795.
8. Courad, P.O. Cyclical antiidiotypic response to anti-hormone anti-bodies due to neutralization by autologous anti-antiidiotype antibodies that bind hormone / P.O. Courad, B.Z. Lu, A.D. Strosberg // J. Exp. Med. – 1983. – Vol. 157, №5. – P. 1369–1378.
9. Fraser, C.M. Autoantibodies to beta-adrenergic receptors and asthma / C.M. Fraser, J.C. Venter // J. Allergy and Clin. Immunol. – 1984. – Vol. 74, №3. – P. 227-229.
10. Бета-лактамазная активность сыворотки крови человека: клинические аспекты / И.В. Жильцов [и др.] // Материалы Первого конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням. Журнал инфектологии. – 2010. – Том 2, №4. – с. 66.
11. Жильцов, И. В. Дизайн биомедицинских исследований / И. В. Жильцов, В. М. Семенов // Витебск, издательский отдел УО ВГМУ. – 2010. – 93 с.

BETA-LACTAMASE ACTIVITY OF BLOOD SERUM AS A FACTOR OF BIOLOGICAL RESISTANCE TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS IN PREGNANCY

D. M. Semenov

Educational institution "Vitebsk State Order of People's Friendship Medical University

Abstract

Objective: to study the beta-lactamase activity in the blood serum of pregnant women and to evaluate the clinical significance of the activity of blood serum as a factor in determining biological resistance to beta-lactam antibiotics.

Materials and methods. The study of blood samples of pregnant women ($n = 423$), gynecological patients ($n = 46$). Main results: In all patients, beta-lactamase activity of blood serum was detected. At 19,8% weve revealed high levels of beta-lactamase activity of the blood.

Conclusion: High beta-lactamase serum activity significantly influences the effectiveness of antibiotic therapy of beta-lactam group drugs.

Key words: beta-lactamase activity of blood serum.