

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 618:616-06]:615.281.9

ЗАНЬКО
Андрей Сергеевич

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ В АКУШЕРСТВЕ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Минск 2016

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: **Семенов Дмитрий Михайлович**, доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Официальные оппоненты: **Доронина Ольга Константиновна**, доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», профессор кафедры акушерства и гинекологии;

Пересада Ольга Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Оппонирующая организация: учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Защита состоится 22 июня 2016 года в 14⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.01 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. 272 55 98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « » мая 2016 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук

О.Н. Волкова

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 высокая частота этих осложнений в общей популяции беременных, а в структуре материнской смертности они занимают одно из первых мест [О.В. Макаров, 2007]. Широкий спектр показаний для проведения антибактериальной терапии как во время, так и после беременности обуславливает широкое применение антибактериальных лекарственных средств в акушерской практике. Так, на протяжении беременности 20,8 - 28,7% женщин получает по крайней мере один антибиотик [Э.К. Айламазян, В.И. Кулаков, В.Е. Радзинский, Г.М. Савельева, 2014]. 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-лактамы являются лекарственными средствами выбора при беременности. Это связано с их относительной безопасностью, хорошей переносимостью и широким спектром действия [В.Н. Серов, Г.Т. Сухих, 2014]. Эффективность антимикробной терапии во многом зависит от наличия или отсутствия резистентности как микро- так и макроорганизма. 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 не безразличен к введению антибиотиков. В настоящее время установлено, что высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови может значимо влиять на эффективность антибактериальной терапии бета-лактамами лекарственными средствами. Следовательно, обследование пациентов на наличие биологической резистентности к бета-лактамам антибиотикам позволяет значительно повысить эффективность проводимой антибактериальной терапии.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках НИР Витебского государственного медицинского университета по теме: «Разработать эффективные методы диагностики, лечения и профилактики наиболее социально значимых инфекционных заболеваний». Сроки выполнения: 2013-2017 гг., номер гос. регистрации 20130899 от 11.06.13.

Диссертация является частью плана НИР Витебского государственного медицинского университета по теме: «Диагностика и лечение патологии матки, постменопаузальных расстройств и нарушений гемодинамики при беременности (осложненной фетоплацентарной недостаточностью, артериальной гипертензией, соматоформной дисфункцией вегетативной нервной системы)». Сроки выполнения: 2013-2017 гг., номер гос. регистрации 20130059 от 1.02.2013.

Цель исследования: оценить клиническое значение бета-лактамазной активности сыворотки крови, определяющей биологическую резистентность к бета-лактамам антибиотикам у беременных женщин и разработать принципы применения антибактериальных лекарственных средств при развитии бактериальных осложнений.

Для решения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Изучить значения бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин в различные сроки беременности и у гинекологических пациенток.

2. Исследовать наличие бета-лактамазной активности околоплодных вод.

3. Определить составляющие бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин, формирующих биологическую резистентность к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам.

4. Изучить влияние уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови пациенток с бактериальными инфекциями на эффективность антибактериальных лекарственных средств бета-лактаминового ряда и разработать принципы применения бета-лактаминных антибиотиков в акушерско-гинекологической практике.

Объектами исследования явились:

1. Образцы сыворотки крови беременных женщин (n=423), и не беременных пациенток (n=46). Общее количество учтенных случаев составило 469;

2. Образцы околоплодных вод (n=40), собранные при проведении амниотомии и при операции кесарево сечение.

Предметом исследования являлась собственная бета-лактамазная активность нативной сыворотки человеческой крови (т.н. «биологическая»), ее распространенность и пределы колебаний уровня, природа, механизм, влияние на эффективность проводимой пациенткам антибактериальной терапии с использованием антибиотиков бета-лактамного ряда, а также перспективы клинического применения данного феномена. Кроме того, исследовалась бета-лактамазная активность других биологических жидкостей (околоплодных вод), ее природа, влияние на эффективность проводимой антибактериальной терапии, способы и пути преодоления биологической резистентности.

Проведенное клиническое исследование имеет «срезовой» (cross-sectional) дизайн, основывается на пассивном наблюдении за динамикой развития заболевания, эффективностью проводимой антибактериальной терапии (observational design), является проспективным. В дизайне исследования было предусмотрено разделение участников исследования на несколько групп.

Научная новизна

Впервые изучена собственная бета-лактамазная активность сыворотки крови у беременных женщин в различные сроки беременности и у гинекологических пациенток. Впервые исследовано наличие и клиническое значение бета-лактамазной активности околоплодных вод.

Определены составляющие биологической резистентности к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам у беременных женщин в различные сроки беременности и гинекологических пациенток.

Получены новые данные влияния уровня бета-лактамазной активности сыворотки крови пациенток с бактериальными инфекциями на эффективность антибактериальных лекарственных средств бета-лактамного ряда.

Проведена оценка клинического значения применения тест-системы «Биолактам» в акушерско-гинекологической практике.

Разработан алгоритм применения бета-лактамных антибиотиков в акушерско-гинекологической практике с учетом оценки биологической резистентности к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам.

Положения, выносимые на защиту

1. Сыворотка крови всех обследованных беременных женщин и гинекологических пациенток обладает бета-лактамазной активностью; средний уровень составляет 61,2% распада внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (RQ: 55,3...65,1). Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у небеременных пациенток ($p>0,05$) и не меняется со сроком беременности ($p>0,05$). 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. При беременности, клинически значимая бета-лактамазная активность сыворотки крови диагностируется у 19,8% женщин.

2. Околоплодные воды всех обследованных беременных женщин обладают бета-лактамазной активностью; средний уровень составляет 33,58% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (RQ: 24,4...41,8). В большинстве проб околоплодных вод уровень бета-лактамазной активности ниже клинически значимого. В 20% (RQ: 18,4...22,8) проб околоплодных вод установлен высокий (более 40% распада внесенного в пробу нитроцефина) уровень бета-лактамазной активности. Средние показатели бета-лактамазной активности околоплодных вод у здоровых женщин сопоставимы с показателями у пациенток с воспалительным процессом ($p>0,05$).

3. Бета-лактамазная активность крови обусловлена как альбуминами (ЧСА), так и глобулинами. Основной вклад в общую бета-лактамазную активность сыворотки крови вносит альбуминовая фракция крови (91 - 93%). Поликлональные IgG субклассов 1, 2 и 4 обладают собственной бета-лактамазной активностью, их вклад в общую сывороточную активность у беременных женщин составляет 7,2 – 8,9%.

4. Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови значимо влияет на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактаманых лекарственных средств. Обследование пациенток на наличие бета-лактамазной активности сыворотки крови позволяет своевременно провести адекватную антибактериальную терапию, сократить длительность лечения (сокращение на 1,67 суток), снизить частоту необоснованной смены антибиотиков, снизить стоимость терапии (коэффициент экономической эффективности 2,51).

Личный вклад соискателя ученой степени

Клиническая и лабораторная часть работы выполнена в УЗ «Витебский городской роддом №2». Постановка проблемы, формулировка цели и задач исследования проведены совместно с научным руководителем. Автором лично выполнены: анализ научной литературы и обобщение полученных данных, сбор и анализ медицинской документации, отбор образцов исследуемого биологического материала, а также все лабораторные исследования.

Результаты исследования сыворотки крови представлены в статьях [1, 2, 4] и материалах конференций [6, 7] (вклад диссертанта 95%). Результаты исследования околоплодных вод представлены в статьях [2, 3] и материалах конференций [7, 8] (вклад диссертанта 92%). Результаты определения составляющих биологической резистентности к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам у беременных женщин в различные сроки беременности и гинекологических пациенток представлены в статье [4] (личный вклад диссертанта 100%). Оценка клинического значения применения тест-системы «Биолактам» в акушерско-гинекологической практике, а также его экономическая эффективность освещена в статье [5] (вклад диссертанта 93%). Все публикации написаны лично автором, среди соавторов – научный руководитель.

Автором самостоятельно сформирована электронная база данных обследованных пациенток, проведена статистическая обработка материала, анализ и теоретическое обобщение полученных результатов, подготовка иллюстраций, формулировка выводов, разработка практических рекомендаций.

Апробация результатов диссертации и информация об использовании результатов

Результаты исследования и основные положения диссертации доложены и обсуждены на 69, 70 научных сессиях сотрудников УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (Витебск, 2013-2016); XIII Международной научно-практической конференции «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2013); Республиканском семинаре «Школа главного акушера-гинеколога» (Новополоцк, 2014); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы акушерства и гинекологии» (Минск, 2014); областной научно-практической конференции «Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клиничко-лабораторная диагностика и терапия», посвященной созданию УЗ «Витебский областной клинический центр

дерматовенерологии и косметологии» (Городок, 2015); областной юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы перинатологии» посвященной 70-летию УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр» (Гродно, 2015); I Международном Минском медицинском форуме (Минск, 2015).

По результатам диссертационного исследования Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждена инструкция по применению «Метод выбора антибактериальных лекарственных средств при бактериальных инфекциях в акушерстве и гинекологии» (регистрационный № 001-0115 от 07.05.2015 [9],) которая внедрена в лечебно-диагностический процесс в УО «Гомельский государственный медицинский университет», УЗ «Могилевская центральная поликлиника», УЗ «Филиал №5 УЗ «МЦП №8», УЗ «Могилевская центральная поликлиника. Филиал поликлиника №12», Санкт-Петербургское ГБУЗ «Городская больница №38 им. Н.А. Семашко», УЗ «Гомельская городская клиническая больница №2», УЗ «Клиника ВГМУ», УЗ «Витебский городской роддом №2», УЗ «6-я городская клиническая больница» г. Минска, УЗ «3-я городская клиническая больница им. Е.В. Клумова», УЗ «1-я городская клиническая больница» г. Минска, что подтверждено 11 актами внедрения.

Опубликование результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ с общим объемом 2,9 авторских листа, в том числе 5 научных работ объемом 2,6 авторских листа, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 3 статьи объемом 0,3 авторских листа в сборниках научных трудов материалов конференций и съездов, 1 инструкция по применению объемом 0,2 авторских листа, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Разработанный метод выбора антибактериальных лекарственных средств при бактериальных инфекциях в акушерстве и гинекологии включен в новую редакцию клинических протоколов наблюдения беременных, рожениц, родильниц, диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из 5 глав (аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований), заключения, состоящего из выводов и рекомендаций по

практическому использованию результатов, а также библиографического списка (50 русскоязычных и 98 иностранных источников информации), 8 собственных публикаций автора. Диссертация изложена на русском языке, на 101 странице машинописного текста, иллюстрирована 12 рисунками и 12 таблицами. Основная часть работы занимает 73 страницы, рисунки – 8 страниц, таблицы – 8 страниц, библиографический список – 12 страниц, приложения – 17 страниц. Общий объем диссертации – 118 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Проанализированы данные обследования 469 беременных женщин в различные сроки гестации и у гинекологических пациентов на предмет наличия и клинического и значения собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови и околоплодных вод. Возраст исследуемых женщин составил от 17 до 59 лет. Средний возраст составлял $28,4 \pm 2,9$ 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).

Диагностика заболеваний у пациенток, 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 № 1182).

При клиническом обследовании пациенток нами проведен анализ социального, профессионального статуса, соматического и акушерско-гинекологического анамнеза, изучено состояние репродуктивной функции, течения и осложнений беременности, заболеваний предшествующих или возникших во время беременности осложняющих беременность роды или послеродовый период.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0», Microsoft Excel, AtteStat. 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 .

Согласно рекомендациям В.В. Власова (2001), основанным на доказательной медицине, анализ диагностической эффективности методов диагностики состоял из следующих статистических процедур: определение чувствительности (Se) и специфичности (Sp); построение характеристической кривой (ROC-кривая), отражающей взаимозависимость вероятностей ложноположительных и истинно положительных результатов; определение расположения ROC-кривой, а также площади под ней (SROC) как интегрального индекса эффективности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Собственная бета-лактамазная активность сыворотки крови и околоплодных вод

Согласно полученным данным, средний уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови у обследованных женщин 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 показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у небеременных пациенток ($p > 0,05$).

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% (RQ 52,3...59,9), у беременных женщин без воспалительных процессов - 53,69% (RQ 49,5...58,6). Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у небеременных женщин с воспалительными процессами составляли 58,97% (RQ 55,5...62,8), у

гинекологических пациенток без воспалительных процессов на момент обследования - 53,81% (RQ 47,7...59,5).

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.

Таблица 1 – Средний уровень и разброс значений собственной бета-лактамазной активности сыворотки крови среди обследованных

Группа	n	M	95% ДИ	min	max	Me	Lover 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	55,0 5	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

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.

При проведении исследования 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 препятствовать успешному лечению, снижая эффективность назначенных им антибиотиков бета-лактаманного ряда.

В околоплодных водах установлен более низкий по сравнению с сывороткой крови средний уровень бета лактамазной активности 33,58% (RQ 19,8...36,4). 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 водах, который составлял порядка $2,0 \pm 0,87$ г\л. Частотный анализ распределения уровней бета-лактамазной активности отдельных проб околоплодных вод показал, что большая часть проб

околоплодных вод не проявляет значимой бета-лактамазной активности (рисунок 1).

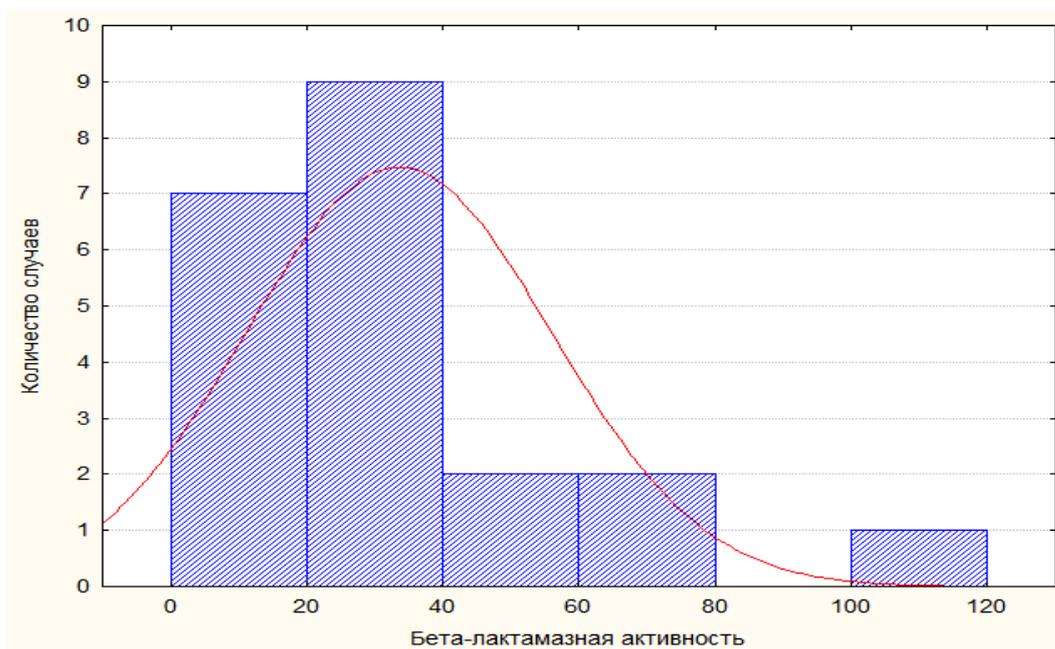


Рисунок 1 - Частотный анализ распределения уровней бета-лактамазной активности отдельных проб околоплодных вод

В то же время, четко выделяется относительно небольшая группа образцов околоплодных вод, обладающих высокой (более 40% распада, внесенного в пробу нитроцефина) бета-лактамазной активностью. Количество данных случаев составляет 8 (20% от всей выборки, RQ 17,2...23,5). Клинически значимый уровень бета-лактамазной активности околоплодных вод при необходимости проведения антибактериальной терапии по поводу внутриутробного инфицирования плода бета-лактамами антибактериальными лекарственными средствами может быть значимым фактором, определяющим отсутствие эффекта проводимой терапии.

Нами была установлена корреляционная зависимость между уровнем бета-лактамазной активности сыворотки крови и околоплодных вод (метод Спирмена $r=0,07$) у обследованных пациенток. Все женщины с высоким уровнем бета-лактамазной активности в околоплодных водах имели соотносимо высокий клинически значимый уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови. Всем пациенткам, вошедшим в данную группу, производился посев околоплодных вод на наличие бактериальной флоры. Среди обследованных, не было пациенток, у которых была выявлена контаминация околоплодных вод бактериальной флорой, соответственно, установленная нами бета-лактамазная активность околоплодных вод не связана с продукцией бета-лактамаз бактериальной клеткой. Таким образом,

можно утверждать, что бета-лактамазная активность проб околоплодных вод обусловлена в первую очередь примесями сывороточного альбумина. Возможно предположить, что некоторую долю в общую бета-лактамазную активность околоплодных вод могут вносить и материнские антитела, которые структурно соответствуют бактериальным бета-лактамазам, однако данное предположение нуждается в дальнейшем изучении.

Составляющие биологической резистентности к бета-лактамам антибактериальным лекарственным средствам у беременных женщин

В исследовании установлено, что гамма-глобулиновая фракция крови (в частности, поликлональные IgG) обладает собственной бета-лактамазной активностью. При оценке бета-лактамазной активности высокоочищенных препаратов поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 установлено, что не менее 29 проб из 40 исследованных (средняя концентрация белка в пробах 0,99 г/л). 72,5%, (QR 64,67... 78,41) обладали некоторой бета-лактамазной активностью, которая, тем не менее, становилась заметной не ранее чем через 20 часов с момента начала инкубации при 37°C. Уровень бета-лактамазной активности иммуноглобулинов линейно и статистически значимо повышался с ростом концентрации иммуноглобулинов в пробе (ρ Спирмена +0,431 при $p=0,001$).

Средний уровень бета-лактамазной активности высокоочищенных препаратов поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 составил 4,35% (QR 3,5...5,3) распада, внесенного в пробу субстрат-хромогена.

При непосредственном сравнении бета-лактамазной активности сыворотки крови с таковой у поликлональных IgG в одинаковых условиях инкубации (37°C, 30 минут) оказалось, что каталитическая активность иммуноглобулинов соотносится с общей сывороточной примерно как 1 : 9,3; при пересчете уровня активности на единицу концентрации белка в пробах сыворотки и IgG (т.е. при вычислении «удельной активности») оказалось, что препараты поликлональных иммуноглобулинов в концентрации 1 г/л обладают в 8 раз менее выраженной бета-лактамазной активностью, чем цельная сыворотка крови аналогичной концентрации (конкретные цифры меняются от образца к образцу). Соответственно, общая высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови определено обусловлена прежде всего альбуминовой фракцией. Необходимо также принять во внимание невысокую концентрацию IgG в плазме крови (в пределах 4-16 г/л) в сравнении с прочими белковыми фракциями (нормальный уровень общего белка в человеческой крови составляет 65-85 г/л).

С целью уточнения влияния бактериальной инфекции и приема антибактериальных бета-лактамазных лекарственных средств на составляющие бета-лактамазной активности сыворотки крови нами проведен анализ уровней бета-лактамазной активности сыворотки крови и поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 среди данной группы обследованных.

Среди пациенток с воспалительным процессом бактериальной этиологии 76% (11 женщин) получали антибактериальную терапию, а 24% (3 женщины) – не получали антибактериальные лекарственные средства в связи с отказом.

Среди получавших антибактериальную терапию 8 пациенток (73%) получали антибиотики, которые относились к классу бета-лактамов (амокксицилин). 3 пациентки (27%) получали макролиды (эритромицин).

При анализе полученных данных было обнаружено статистически значимое влияние ряда факторов на уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови и поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4. Статистически значимо более высокий уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови был выявлен в группе пациенток с бактериальными инфекциями по сравнению с беременными женщинами без признаков воспалительного процесса (U-тест Манна-Уитни, $p=0,01$) (рисунок 2).

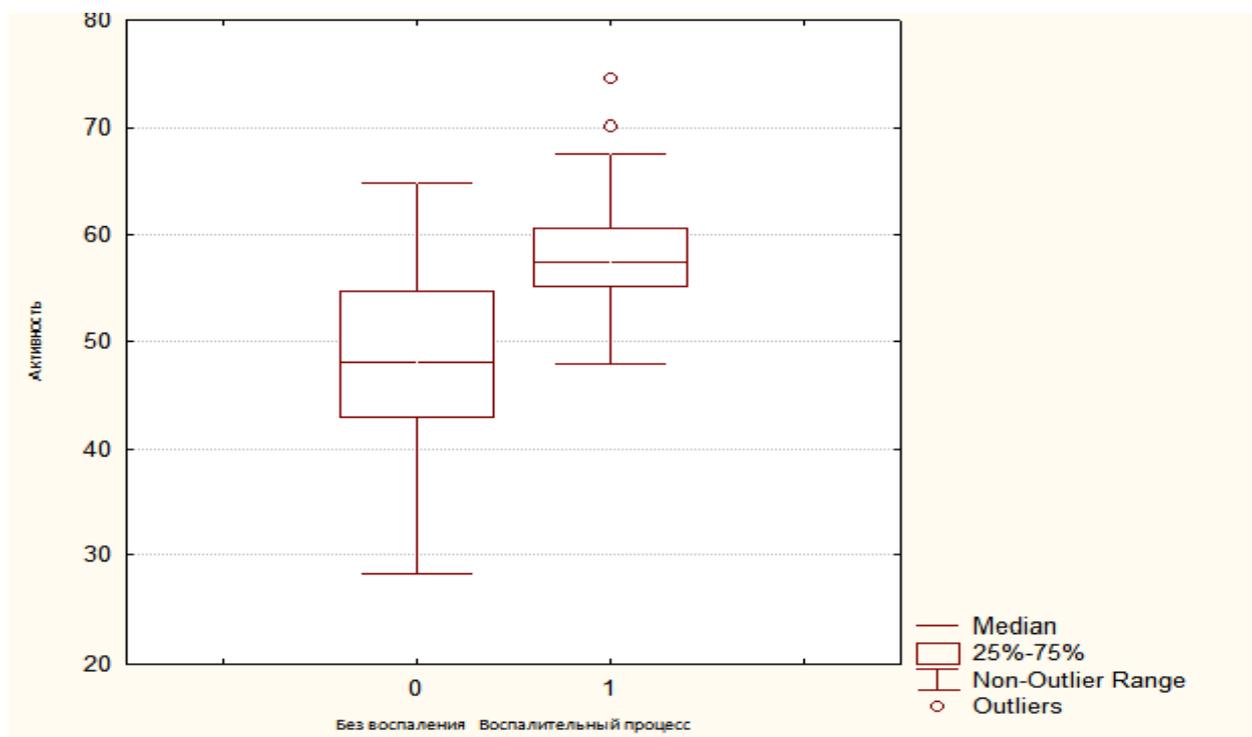


Рисунок 2 – Уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин с бактериальными инфекциями и беременных женщин без признаков воспалительного процесса

Подобная закономерность наблюдалась при сопоставлении уровней бета-лактамазной активности поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4. В группе пациенток с бактериальными инфекциями по сравнению с беременными женщинами без признаков воспалительного процесса средний уровень бета-лактамазной активности поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 был статистически значимо выше (U-тест Манна-Уитни, $p=0,01$) (рисунок 3).

Вместе с тем не установлено достоверных различий в уровнях бета-лактамазной активности сыворотки крови и поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 среди беременных женщин, получавших бета-лактамы антибактериальные лекарственные средства по поводу бактериальных инфекций и беременных, не принимавших антибиотики ($p>0,05$). Данный факт может свидетельствовать, о том, что бета-лактамазная активность сыворотки крови не является ответом организма на воздействие антибактериальной терапии. Соответственно, антибиотики бета-лактаминового ряда не являются непосредственными индукторами бета-лактамазной активности крови.

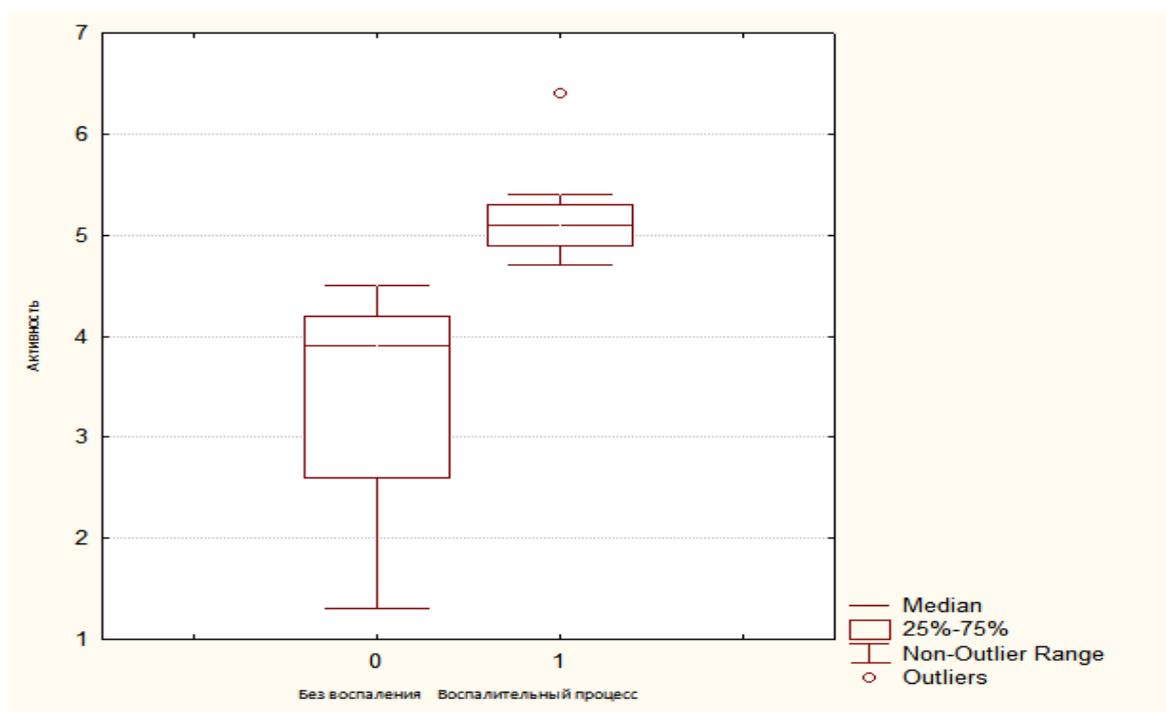


Рисунок 3 - Уровень бета-лактамазной активности поликлональных IgG субклассов 1, 2 и 4 у беременных женщин с бактериальными инфекциями и беременных женщин без признаков воспалительного процесса

Принципы и методы оптимизации применения бета-лактамных антибактериальных препаратов в акушерстве и гинекологии

На основании проведенных исследований, нами разработан и внедрен в практическое здравоохранения метод оптимизации выбора антибактериальных лекарственных средств в акушерстве и гинекологии. В решении вопроса о выборе антибактериального лекарственного средства при необходимости проведения антибактериальной терапии целесообразно использование следующего алгоритма.

Перед назначением антибактериальной терапии необходимо провести исследование бета-лактамазной активности. При установленной высокой бета-лактамазной активности сыворотки крови (более 68,2%), околоплодных вод (более 40,0%), в качестве препаратов выбора при назначении антибактериальной терапии использовать макролиды. При низкой бета-лактамазной активности - стартовую антибактериальную терапию целесообразно проводить бета-лактамами.

Обследование пациенток на наличие биологической резистентности к бета-лактамным антибактериальным лекарственным средствам позволяет своевременно провести адекватную антибактериальную терапию, снизить вероятность развития осложнений, сократить длительность лечения (сокращение на 1,67 суток), 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

В настоящей работе изучено явление собственной бета-лактамазной активности нативной сыворотки крови беременных женщин и гинекологических пациенток. Представлен механизм данного явления и его клиническое значение. Произведена качественная и количественная оценка собственной бета-лактамазной активности других биологических жидкостей (околоплодные воды). Сделаны выводы о способах и перспективах клинического применения результатов данного анализа. Разработан метод оптимизации применения антибактериальных лекарственных средств на основе исследования собственной бета-лактамазной активности сыворотки

крови. Полученные результаты исследования, в соответствии с поставленными задачами, позволяют сделать следующие общие выводы:

1. Резистентность к антибактериальной терапии бета-лактамами антибактериальными лекарственными средствами помимо опосредуемой бета-лактамазами, продуцируемыми микроорганизмами, может быть обусловлена способностью некоторых белков сыворотки человеческой крови разрушать бета-лактамную связь. Сыворотка крови всех обследованных беременных женщин и гинекологических пациенток обладает бета-лактамазной активностью; средний уровень составляет 61,2% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (RQ 57,3...65,1), значения бета-лактамазной активности изменяются в диапазоне от 0 до 99,2%. Средние показатели бета-лактамазной активности сыворотки крови у беременных женщин сопоставимы с показателями у небеременных пациенток ($p>0,05$) и не менялись со сроком беременности ($p>0,05$). Установлены статистически значимые более высокие средние уровни бета-лактамазной активности сыворотки крови ($p<0,001$) в группе небеременных пациенток с воспалительными процессами бактериальной этиологии по сравнению с женщинами без воспалительных процессов. При беременности, клинически значимая бета-лактамазная активность сыворотки крови диагностируется у 19,8% женщин. Высокий уровень бета-лактамазной активности крови будет препятствовать успешному проведению антибактериальной терапии, снижая эффективность назначенных антибактериальных лекарственных средств группы бета-лактамов. Исследование бета-лактамазной активности сыворотки крови, определяющей биологическую резистентность к бета-лактамам антибиотикам, позволяет оптимизировать применение антибактериальных лекарственных средств при беременности и повысить эффективность лечения бактериальных осложнений в акушерстве [1, 2, 6, 7].

2. Околоплодные воды всех обследованных беременных женщин обладают бета-лактамазной активностью; средний уровень бета-лактамазной активности составляет 33,58% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (RQ 19,85...36,43), значения данного признака изменяются в диапазоне от 11,9 до 66,9%. В большинстве проб околоплодных вод уровень бета-лактамазной активности ниже клинически значимого. В 20% (RQ 17,24...23,45) образцов околоплодных вод установлен высокий (более 40% распада, внесенного в пробу нитроцефина) уровень бета-лактамазной активности. Средние показатели бета-лактамазной активности околоплодных вод у здоровых женщин сопоставимы с показателями у пациенток с воспалительным процессом ($p>0,05$). Все

женщины с высоким уровнем бета-лактамазной активности в околоплодных водах имеют высокий клинически значимый уровень бета-лактамазной активности сыворотки крови [3].

3. Бета-лактамазная активность крови обусловлена как альбуминами (ЧСА), так и глобулинами. Основной вклад в суммарную бета-лактамажную активность сыворотки крови вносит альбуминовая фракция крови (91 - 93%). Поликлональные IgG субклассов 1, 2 и 4 обладают собственной бета-лактамажной активностью, их вклад в общую сывороточную активность у беременных женщин составляет 7,2 – 8,9%. Бета-лактамазная активность сыворотки крови не является ответом организма на воздействие антибактериальной терапии. Соответственно, антибиотики бета-лактаманного ряда не являются непосредственными индукторами бета-лактамажной активности крови. Бета-лактамазная активность человеческой крови может быть статистически значимо выше среди беременных женщин с бактериальными инфекциями по сравнению с беременными без признаков воспалительного процесса, что может приводить к снижению клинической эффективности антибиотиков бета-лактаманного ряда [4].

4. Высокая бета-лактамазная активность сыворотки крови значимо влияет на эффективность антибактериальной терапии группой бета-лактаманых лекарственных средств. Исследование бета-лактамажной активности сыворотки крови позволяет 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. Бета-лактамажная активность сыворотки крови – более 60% полного распада субстрата-хромогена свидетельствует о биологической резистентности к бета-лактаманым лекарственным средствам и требует замены бета-лактаманых антибиотиков на антибиотики других групп, в частности - макролиды. Использование тест-системы «БиоЛактам» в клинических условиях является экономически эффективным; общая удельная экономия в масштабах одного лечебного учреждения областного подчинения за год от внедрения исследования бета-лактамажной активности сыворотки крови составит 6120,2 усл. ед. (61,2 млн. бел. руб.). Коэффициент экономической эффективности при этом составляет 2,51 [5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

На основании результатов настоящего исследования, предложены следующие **практические рекомендации:**

1. При наличии показаний для проведения антибактериальной терапии с использованием бета-лактамазных антибактериальных лекарственных средств в комплекс диагностических мероприятий целесообразно включение исследования бета-лактамазной активности сыворотки крови [9].

При бета-лактамазной активности сыворотки крови более 68,2% полного распада субстрата-хромогена рекомендуется коррекция проводимой антибактериальной терапии (назначение ингибитор-защищенных бета-лактамов, либо антибиотиков из других фармакологических групп со сходным спектром активности).

2. В случае выявления высокой (более 20%) бета-лактамазной активности околоплодных вод, при проведении операции кесарева сечения необходимо учитывать возможную недостаточную эффективность бета-лактаманых лекарственных средств и, при необходимости использования антибиотиков, показано назначение либо антибиотиков, высокоустойчивых к бета-лактамазам бактерий (карбапенемы, монобактамы, цефалоспорины 4-го поколения), либо препаратов из других фармакологических групп. Ингибитор защищенные бета-лактамы также могут оказаться эффективными (В II);

3. Оценка бета-лактамазной активности околоплодных вод может быть использована как дополнительный критерий выбора лекарственного средства для проведения антибактериальной терапии новорожденным при внутриутробном инфицировании (В II).

Список публикаций соискателя научной степени

Статьи, опубликованные в изданиях, включенных в перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований

1. Занько А. С., Биологическая резистентность к бета-лактамам антибиотикам при беременности / Д. М. Семенов, А. С. Занько // Охрана материнства и детства. – 2013. – № 2(22). – С. 28-31.
2. Занько А. С., Оптимизация применения бета-лактамов антибиотиков в акушерстве и гинекологии / Занько А. С., Семенов Д. М. // Вестник ВГМУ том 13 №5 2014. – С. 68-73
3. Занько А. С., Особенности бета-лактамазной активности в околоплодных водах / Занько А. С., Семенов Д. М. // Архив акушерства и гинекологии. – 2015. – №1. С. 18-21.
4. Занько А. С., Составляющие биологической резистентности к бета-лактамам антибактериальным препаратам при беременности / Занько А. С. // Мать и дитя в Кузбассе. – 2015. - №4. – С. 35-40.
5. Занько А. С., Эффективность и рентабельность оптимизации выбора антибактериальных лекарственных средств при бактериальных инфекциях в акушерстве / Занько А. С., Семенов Д. М. // Лечебное дело. – 2015. - №6(46). – С. 49-55.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

6. Семенов, Д. М. Особенности бета-лактамазной активности сыворотки крови при беременности / Д. М. Семенов, Занько А. С. // Актуальные вопросы инфекционной патологии / под ред. Проф. В. М. Семенова. - Материалы 6-го Съезда инфекционистов Республики Беларусь (Витебск, 29-30 мая 2014г.). – Витебск, 2014. – С. 159 – 160.
7. Семенов, Д. М. Биологическая резистентность к бета-лактамам антибиотикам во время беременности / Д. М. Семенов, Занько А. С., Небедухина Р. В. // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации / под ред. Проф. В. П. Дейкало. - Материалы 69-й научной сессии университета (ВГМУ). - Витебск, 2014 – С. 54-55.
8. Занько, А. С. Особенности собственной бета-лактамазной активности в околоплодных водах / А. С. Занько, Д. М. Семенов // Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации: материалы 71-ой

научной сессии сотруд. ун-та, Витебск, 27-28 января 2016 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Т. Щастный [и др.]. - Витебск, 2016. - С. 182-183.

Инструкция по применению

9. Метод выбора антибактериальных лекарственных средств при бактериальных инфекциях в акушерстве и гинекологии. Регистрационный № 001-0115: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 07.05.2015 / Семенов Д. М., Семенов В. М., Занько А. С., Сушкова О. С.; разработчик Вит. гос. мед. ун-т – Витебск: ВГМУ, 2015. – 5 с.

РЭЗІЮМЭ

Занько Андрэй Сяргеевіч

Дыферэнцыяванае выкарыстанне антыбактэрыяльных лекавых сродкаў пры бактэрыяльных ускладненнях у акушэрстве

Ключавыя словы: бэта-лактамазная актыўнасць сывороткі крыві, тэст-сістэма БИОЛАКТАМ.

Мэта даследавання: ацаніць клінічнае значэнне бэта-лактамазнай актыўнасці сывороткі крыві, якая вызначае біялагічную рэзістэнтнасць да бэта-лактамным антыбіётыкаў у цяжарных жанчын і распрацаваць прынцыпы выкарыстання антыбактэрыяльных лекавых сродкаў пры развіцці бактэрыяльных ускладненняў.

Метады даследавання: клінічны, інструментальны, лабараторны, статыстычны.

Вынікі даследавання. Сыворотка крыві ўсіх абследаваных пацыентак характарызуецца наяўнасцю пэўнага ўзроўню бэта-лактамазнай актыўнасці; сярэдні ўзровень названай актыўнасці складае 61,2% распаду унесенага ў пробу стандартнага колькасці нитроцэфіна (RQ: 55,3 ... 65,1), прычым значэння дадзенай прыкметы змяняюцца ў дыяпазоне ад 0 да 99,2%. Высокі ўзровень бэта-лактамазнай актыўнасці крыві ў такіх пацыентак будзе перашкаджаць паспяховаму лячэнню, зніжаючы эфектыўнасць прызначаных ім антыбактэрыяльных сродкаў з групы бэта-лактамаў. У сваю чаргу вызначэнне біялагічнай рэзістэнтнасці да бэта-лактамным антыбіётыкаў дазваляе скараціць неабгрунтаванае іх ужыванне і павысіць эфектыўнасць лячэння. Выкарыстанне тэст-сістэмы «БиоЛактам» у клінічных умовах з'яўляецца эканамічна эфектыўным.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: распрацавана і ўкаранёна інструкцыя па ўжыванні «Метад выбару антыбактэрыяльных лекавых сродкаў пры бактэрыяльных інфекцыях у акушэрстве і гінекалогіі». Вынікі ўкаранёны ў УАЗ «Віцебскі гарадскі клінічны радзільны дом №2», УАЗ «Наваполацкая цэнтральная гарадская бальніца», «Клініка Віцебскага дзяржаўнага медыцынскага ўніверсітэта», СПБ ГБУЗ «Гарадская бальніца №38 ім. Н.А. Сямашка », у навучальны працэс кафедры акушэрства і гінекалогіі, акушэрства і гінекалогіі ФПК і ПК УА« Віцебскі дзяржаўны ордэна Дружбы народаў медыцынскі ўніверсітэт ».

Вобласць ужывання: акушэрства і гінекалогія.

РЕЗЮМЕ

Занько Андрей Сергеевич

Дифференцированное применение антибактериальных лекарственных средств при бактериальных осложнениях в акушерстве

Ключевые слова: бета-лактамазная активность сыворотки крови, тест-система БИОЛАКТАМ.

Цель исследования: оценить клиническое значение бета-лактамазной активности сыворотки крови, определяющей биологическую резистентность к бета-лактамам антибиотикам у беременных женщин и разработать принципы применения антибактериальных лекарственных средств при развитии бактериальных осложнений.

Методы исследования: клинический, инструментальный, лабораторный, статистический.

Результаты исследования. Сыворотка крови всех обследованных пациенток характеризуется наличием определенного уровня бета-лактамазной активности; средний уровень указанной активности составляет 61,2% распада, внесенного в пробу стандартного количества нитроцефина (RQ: 55,3...65,1), причем значения данного признака изменяются в диапазоне от 0 до 99,2%. Высокий уровень бета-лактамазной активности крови у таких пациенток будет препятствовать успешному лечению, снижая эффективность назначенных им антибактериальных лекарственных средств из группы бета-лактамов. В свою очередь, определение биологической резистентности к бета-лактамам антибиотикам позволяет сократить необоснованное их применение и повысить эффективность лечения. Использование тест-системы «БиоЛактам» в клинических условиях является экономически эффективным.

Рекомендации по использованию: разработана и внедрена инструкция по применению «Метод выбора антибактериальных лекарственных средств при бактериальных инфекциях в акушерстве и гинекологии». Результаты внедрены в УЗ «Витебский городской клинический родильный дом №2», УЗ «Новополоцкая центральная городская больница», «Клиника Витебского государственного медицинского университета», СПБ ГБУЗ «Городская больница №38 им. Н.А. Семашко», в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии, акушерства и гинекологии ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Область применения: акушерство и гинекология.

SUMMARY

Andrey Zanko

Differentiated use of antibacterial drugs with bacterial complications in obstetrics

Keywords: beta-lactamase activities of serum of blood, test system the BIOLACTAM.

Objective: to evaluate the clinical significance of beta-lactamase activity of blood serum, which determines the biological resistance to beta-lactam antibiotics in pregnant women and to develop the use of the principles antibacterial drugs in the development of bacterial complications.

Methods: Clinical, instrumental, laboratory and statistical.

Results of the study. The serum of all examinees is characterized by a certain level of beta-lactamase activity; the average level of said activity is 61.2% collapse of the sample introduced into the standard amount nitrocefin (RQ: 55,3...65,1), the value of this feature varies in the range from 0 to 99.2%. High levels of beta-lactamase activity of the blood of these patients will prevent successful treatment, reducing the effectiveness of antibacterial agents assigned to them from the group of beta-lactams. In turn, the biological definition of resistance to beta-lactam antibiotics can reduce unwarranted use of them and increase the effectiveness of treatment. Using test systems "BioLaktam" clinically is cost effective.

Recommended use: developed and implemented the instructions for use "method of selection of antimicrobial drugs for bacterial infections in obstetrics and gynecology." The results are incorporated into KM "Vitebsk city clinical maternity hospital №2», "Novopolotsk Central City Hospital", "Vitebsk State Medical University Clinic" St. Petersburg GBUZ "City Hospital №38 them. ON. Semashko, "in the educational process of the Department of Obstetrics and Gynecology, Obstetrics and Gynecology, FPC and PC EE" Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University. "

Application: Obstetrics and Gynecology.

ЗАНЬКО
Андрей Сергеевич

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ В АКУШЕРСТВЕ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Подписано в печать “ ____ ” _____ 2016г. Формат бумаги 60x84/16.
Бумага типографская №2. Гарнитура «Times New Roman»
Усл. печ. л 1,51 Тираж 60 экз. Заказ №
Издатель УО «Витебский государственный медицинский университет»
Лицензия ЛП № 02330/453 от 30.12.2013.
Отпечатано на ризографе УО «Витебский государственный медицинский
университет»
210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27