

5. Савичева А.М. Урогенитальный хламидиоз и репродуктивное здоровье женщин.// Тез. докл. VII Рес. Съезда дерматологов-венерологов. Казань.- 1996.-ч.3.-с.121.
6. Савичева А.М. Хламидиоз-болезнь молодых. // Материнство.-1996.-№2.-с.14-16.
7. Савичева А.М., Башмакова М.А. Урогенитальный хламидиоз у женщин и его последствия. Под ред. Айламазяна Э.К. – Н.Новгород: Издательство НГМА.- 1998.- 182 с.: ил.
8. Серов В.Н., Краснопольский В.И., Делекторский В.В. и др. Хламидиоз. Клиника, диагностика, лечение. Методические рекомендации.- М.- 1997 г.-23 с.
9. Alaniz Sanchez A. Chl. trachomatis and displasia cervical.// Ginecol. Obsterrics.-1995.-Sep.-vol.63.-p.377-381.
10. Dwyer R.St.C. Chlamydial infection. Results of micro-immunofluorescence tests for the detection of type-specific antibody in certain chlamydial infections // Brit. J. Vener. Dis. - 1972. - Vol. 48. - P. 452-459.
11. Everett K.D.E. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one mono-typic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms // Inter. J. Syst. Bacterial.-1999. - Vol. 49. - P. 415-440.
12. Ridgway G.L. // FEMS workshop human chlamydial infections.-Program de Bildiri ozelteri.-Izmir.-1997.-p.38-44.
13. Stephens R.S. Chlamydia. Intracellular Biology, Pathogenesis, and Immunity. -// Washington: ASM Press, 1999. - P. 143-146.

О.В.КАЛЮЖИН, Е.Л.МУЛИК,
В.В.СЕРГЕЕВ, Н.Г.КАЛИНА,
С.И.ЕЛКИНА,
М.И.КАЛЮЖИНА,
Ф.Н.КУЗОВЛЕВ,
А.В.КАРАУЛОВ
НИИ Вакцин и сывороток
им. И.М.Мечникова РАМН,
Москва, Россия;
Московская медицинская
академия им. И.М.Сеченова,
Москва, Россия;
Международный Фонд
"Поколение".

УДК 579:616.9:615.03

ПРИМЕНЕНИЕ β -ГЕПТИЛГЛИКОЗИД- МУРАМИЛДИПЕПТИДА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Продемонстрирована высокая эффективность β -гептилгликозид-МДП как средства моно- и комбинированной иммунотерапии генерализованных инфекционных заболеваний, вызванных внутрибрюшинным введением культур *K. pneumoniae* и *S. aureus*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: β -гептилгликозид-мурамилдипептид, антибиотики, генерализованная инфекция.

Имунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 73 стр.

USING OF β -HEPTYL-GLUCOSIDE-MURAMYL DIPEPTIDE IN EXPERIMENTAL THERAPY OF GENERALIZED BACTERIAL INFECTIONS

O.V.KALUZHIN, E.L.MULIK, V.V.SERGEYEV, N.G.KALINA, S.I.ELKINA,
M.I.KALUZHINA, F.N.KUZOVLEV, A.V.KARAULOV
Mechnikov's Institute of Vaccines and Sera RAMS, Moscow, Russia;
Sechenov's Medical Academy, Moscow, Russia;
International Fund "Generation".

The strong efficiency of β -heptyl-glucoside-muramyl dipeptide in experimental mono- and combined immunotherapy of generalized infectious processes caused by intraperitoneal injections of *K.pneumonia* and *S.aureus* was demonstrated.

KEY WORDS: *β -heptyl-glucoside-muramyl dipeptide, antibiotics, generalized infection Immunopathol., allergol., infectol. 2000, 4: 73 p.*

В эксперименте и клинике убедительно доказана целесообразность включения методов специфической и неспецифической иммунотерапии в комплексное лечение многих инфекционных заболеваний [4]. Особое значение регуляция иммунных реакций имеет при токсико-септических состояниях [8]. Необходимость иммунотерапии при генерализованной инфекции определяется тем, что, с одной стороны, провоспалительные продукты иммунокомпетентных клеток (интерлекин-1 /ИЛ-1/, ИЛ-6, фактор некроза опухоли /ФНО/ и др.) отвечают за мультиорганные поражения в гиперовоспалительную фазу заболевания, а с другой – недостаточность иммунных реакций является ключевой причиной прогрессирующего развития болезни и гибели пациентов в фазу иммунопаралича. Известно, что мурамилпептиды - дерибаты пептидогликана клеточных стенок бактерий - обладают выраженной иммуностропной активностью, в том числе, они существенно стимулируют звенья специфического иммунитета и неспецифической резистентности, регулируют продукцию про- и противовоспалительных веществ [3].

Целью работы было изучить терапевтическую активность синтетического производного мурамилдипептида (МДП) - β -гептилглюкозид-мурамилдипептида (глимурида) – при экспериментальных генерализованных инфекциях, вызванных летальными дозами различных микроорганизмов.

Материалы и методы. В опытах использовали мышей *F₁* (СВАхС57В1/6) массой 14–16 г (Центральный питомник экспериментальных животных, отделение “Крюково”) возрастом 3-5 недель. Генерализованные инфекции моделировали путем внутрибрюшинного введения культур *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* и *Staphylococcus aureus*. Лиофильно высушенные культуры *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* и *S. aureus* высевали на мясо-пептонный бульон и инкубировали при 37° С в течение 4 часов. Затем производили посев на чашки Петри с мясо-пептонным агаром. 18-часовую культуру использовали для заражения. Культуры возбудителей вводили внутрибрюшинно в физиологичес-

ком растворе (*P. aeruginosa*) или в 0,4% голодном агаре (*K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *S. aureus*). Для приготовления голодного агара 400 мг очищенного агара Difco суспендировали в 100 мл дистиллированной воды и нагревали на водяной бане до полного растворения агара. После охлаждения до 37-39°С в агар добавляли соответствующую культуру микроорганизма.

β -гептилглюкозид-мурамилдипептид синтезировали по известному методу [1]. В работе применяли антибиотики: гентамицина сульфат (“Мосхимфармпрепараты”, Россия), доксициклина гидрохлорид (“Мосхимфармпрепараты”, Россия), эритромицин (“Sanavita”, Германия), офлоксацин (Unique Pharmaceutical Laboratories, Индия) и цефотаксим (“LEK2”, Словения). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли методом дисков, как описано ранее [5]. При зоне задержки роста микроорганизмов вокруг диска с антибиотиком до 10 мм штамм считали устойчивым, 11-15 мм – малочувствительным, более 15 мм – чувствительным. β -гептилглюкозид-МДП и антибиотики разводили в 0,9%-растворе хлорида натрия так, чтобы разовая доза каждого препарата содержалась в 100 мкл раствора. β -гептилглюкозид-МДП вводили *per os* ежедневно в дозе 20 мкг. Антибиотики назначали внутримышечно (в/м) ежедневно в суточных дозах 100 мг (цефотаксим) и 1 мг (гентамицин). Все препараты применяли в течение 5 дней или до гибели животного, начиная со дня заражения. Первая группа экспериментальных животных получала β -гептилглюкозид-МДП и 100 мкл 0,9%-раствора хлорида натрия *per os*, вторая – антибиотик и 100 мкл 0,9%-раствора хлорида натрия *per os*, третья – комбинацию иммуномодулятора и антибиотика. Мыши контрольной группы получали ежедневно по 100 мкл 0,9%-раствора хлорида натрия *per os* и в/м.

Результаты и обсуждение.

В предварительных опытах определяли необходимое для заражения количество микробных тел, составляющее минимальную дозу, вызывающую при внутрибрюшинном введении 100% гибель жи-

вотных в течение первых 3 дней. По результатам этой серии экспериментов были выбраны следующие дозы: 10^7 микробных тел для *K. pneumoniae* и 10^8 для *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* и *S. aureus*.

Выбор антибиотика основывался на результатах определения чувствительности используемых в работе микроорганизмов к антибактериальным средствам (табл. 1) и литературных данных [6].

Таблица 1

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Культура	Гентамицин	Доксициклин	Эритромицин	Офлоксацин	Цефотаксим
<i>P. aeruginosae</i>	Не опр.	Не опр.	Не опр.	Уст.	Не опр.
<i>K. pneumoniae</i>	Не опр.	Не опр.	Не опр.	Чувст.	Не опр.
<i>P. vulgaris</i>	Чувст.	Уст.	Чувст.	Чувст.	Уст.
<i>S. aureus</i>	Чувст.	Чувст.	Чувст.	Чувст.	Чувст.

Цефотаксим использовали в модельных системах с использованием *P. aeruginosae* и *K. pneumoniae*, гентамицин - в моделях с *P. vulgaris* и *S. aureus*.

Таблица 2

Влияние β -гептилгликозид-МДП на выживаемость мышей при внутрибрюшинном заражении патогенными микроорганизмами*.

Группы животных**	Число мышей	Микроорганизм	Гибель животных, % (дни)					Выживаемость (%)
			1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	
контроль	5	<i>P. aeruginosa</i>	5					0
I	5		4	1				0
II	5		5					0
III	5		5					0
контроль	5	<i>K. pneumoniae</i>	1	3	1	-		0
I	5		-	1	1			60
II	5		-	-	-	-		100
III	5		-	2	-	-		60
контроль	5	<i>P. vulgaris</i>	5					0
I	5		5					0
II	5		2	-	1	-		40
III	5		-	2	-	-		60
контроль	5	<i>S. aureus</i>	2	3				0
I	5		-	3	-	-		40
II	5		-	2	-	-		60
III	5		-	3	-	-		40

* – В таблице представлены типичные данные одного из трех независимых экспериментов.

** – Лечение в группах животных: I – β -гептилгликозид-МДП, II – антибиотик, III – β -гептилгликозид-МДП и антибиотик.

Результаты исследований показали, что испытуемый иммуномодулятор по-разному влиял на выживаемость экспериментальных животных в зависимости от вида возбудителя (табл. 2).

β -гептилгликозид-МДП существенно снижал летальность мышей с инфекциями, вызванными стафилококками и клебсиеллами. Примечательно, что эффект монотерапии дериватом мурамилдипептида в модельных системах с использованием указанных возбудителей был сопоставим с действием монотерапии антибиотиками. Максимальный терапевтический эффект достигался комбинированным применением

β -гептилгликозид-мурамилдипептида и антибактериальных препаратов.

Ранее продемонстрировано, что однократное профилактическое применение данного мурамилпептида предотвращает гибель мышей, зараженных внутрибрюшинно культурой *Salmonella typhi* в дозе, вызывающей в контроле 100% гибель животных [2]. При этом профилактический эффект препарата, обусловленный в значительной степени стимулирующей звеньев неспецифической резистентности макроорганизма, наблюдался в широком диапазоне доз как при внутривенном, так и при пероральном

введении. Результаты настоящего исследования говорят об эффективности β -гептилгликозид-МДП не только в профилактике, но и в лечении генерализованных бактериальных инфекционных заболеваний. По-видимому, в этом случае терапевтическое действие обусловлено не только стимуляцией неспецифической резистентности, но и регуляцией продукции про- и противовоспалительных биологических веществ. Известно, что в модельных системах, воспроизводящих токсико-септические состояния, гибель животных в значительной степени определяется избыточным выбросом провоспалительных факторов клетками моноцитарно-макрофагального ряда [7]. Это обусловлено реакцией организма на бактериальные клетки, а также на продукты их жизнедеятельности и распада, которые в случае генерализованной инфекции в большом количестве попадают в системную циркуляцию. Так как мурамилпептиды и, в частности β -гептилгликозид-МДП, способны регулировать продукцию ключевых про- и противовоспалительных биологических веществ моноцитами/макрофагами и некоторыми другими клетками, можно предположить, что терапевтический эффект препарата в использованных нами модельных системах связан со снижением продукции и патофизиологического действия таких веществ, как ФНО-альфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и др.

Что касается экспериментальных моделей с использованием синегнойной палочки и протей, то β -гептилгликозид-МДП как в виде монотерапии, так и как дополнение к этиотропному лечению не оказывал значимого эффекта на выживаемость мышей. Следует отметить наблюдавшуюся в большинстве экспериментов тенденцию к увеличению продолжительности жизни животных, зараженных *P.*

aeruginosa, получавших монотерапию иммуномодулятором. Ни этиотропная антибактериальная терапия, ни ее сочетание с применением β -гептилгликозид-МДП не проявляли подобной тенденции.

Вероятно, отличия в терапевтической эффективности препарата в модельных системах с разными патогенными микробами обусловлены степенью их вирулентности и особенностями реакций макроорганизма на внедрение того или иного возбудителя, а также на циркулирующие в организме продукты жизнедеятельности и распада бактериальных клеток.

Заключение

Таким образом, продемонстрирована высокая эффективность β -гептилгликозид-МДП как средства моно- и комбинированной иммунотерапии генерализованных инфекционных заболеваний, вызванных внутрибрюшинным введением культур *K. pneumoniae* и *S. aureus*. Также обнаружена тенденция к увеличению препаратом продолжительности жизни животных, зараженных летальной дозой *P. aeruginosa*. Не выявлено терапевтического эффекта β -гептилгликозид-МДП и антибиотиков на модели инфекции, вызванной *P. vulgaris*. Результаты исследования говорят о перспективности включения данного деривата мурамилдипептида (глимурида) в комплексную терапию ряда бактериальных инфекционных заболеваний, в том числе токсико-септических состояний.

Благодарность

Авторы выражают глубокую признательность Президенту Международного Фонда "Поколение" г-ну А.В.Скотчу за поддержку и всестороннюю помощь в проведении настоящей работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Земляков А.Е., Чирва В.Я. Синтез гликозидных аналогов N-ацетил-мурамоил-L-аланил-D-изоглутамина. // Химия природных соединений. – 1987. - № 5. – С. 714-718.
2. Калюжин О.В., Калюжин В.В., Земляков А.Е., Елкина С.И., Шкалев М.В., Сергеев В.В. Стимуляция неспецифической резистентности мышей β -гептилгликозид-мурамилдипептидом. // Бюл. экпер. биол. – 1999. – Т. 127. - № 5. – 543-545.
3. Калюжин О.В. Производные мурамилдипептида в эксперименте и клинике. // Журн. микробиол. - 1998. - № 1. – С. 104-108.
4. Караулов А.В., Сокуренок С.И., Калюжин О.В., Евсегнеева И.В. Направленная регуляция иммунных реакций в лечении заболеваний человека. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2000. - № 1. – С. 7-13.
5. Кривошеин Ю.С., Пяткин К.Д., Ачкасов Ю.Н. и др. /Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. Под ред. Ю.С.Кривошеина. – Киев. – 1986.
6. Яковлев С.П., Яковлев В.П. Современная антибактериальная терапия в таблицах. // Consilium medicum. – 1999. – Т.1. - № 1. – С. 18-36

7. Glauser M.P., Zanetti G., Baumgartner J.D., Cohen J. Septic shock: pathogenesis. // *Lanset*. – 1992. – Vol. 338. – P. 732-736.
8. Volk H.-D., Reinke P., Krausch D., Zuckermann H., Asadullah K., Muller J.M., Docke W.-D., Kox W.J. Monocyte deactivation – rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. // *Intensive Care Med*. – 1996. – Vol. 22. – P. S474-S481.

Е.Г. БОЧКАРЕВ,
Ю.В. СЕРГЕЕВ,
В.М. КОПЫЛОВ, Д.В. РЮМИН
Институт аллергологии
и клинической иммунологии,
НИИ физико-химической
медицины МЗ РФ,
Москва

УДК 616.91.6-07:618.1

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРИХОМОНИАЗА

Обобщенные данные по микроскопии, иммунофлуоресценции, иммуноферментному методу, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и культуральному методу, применяющимся в диагностике инфицирования *Trichomonas vaginalis*. Методы генодиагностики (ПЦР) являются более эффективными по сравнению с традиционными (изоляция в культуре, иммунофлуоресценция, микроскопия, иммуноферментные методы).

Недостатком ПЦР могут являться ложноположительные результаты вследствие контаминации ДНК. К ложноотрицательным результатам могут приводить наличие ингибиторов ПЦР в клинических образцах.

Для достоверной диагностики трихомониаза необходим комплекс лабораторных методов, позволяющих выявить возбудителя.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: уrogenитальный трихомониаз, диагностика.

Иммунопатология, аллергол., инфектол. 2000, 4: 77 стр.

PRESSING QUESTIONS OF UROGENITAL TRICHOMONIASIS DIAGNOSTICS

E.G. BOCHKARYEV, YU.V. SERGEYEV, V.M. KOPYLOV, D.V. RYUMIN

Allergology and clinical immunology institute, Moscow, Russia.

Modern data on microscopy, enzyme immunoassay, polymerase chain reaction (PCR) and culture for the diagnostics of *Trichomonas vaginalis* infections are presented here. Genodiagnosics tests (PCR) more effective than traditional tests (T. vaginalis isolating in culture, microscopy, enzyme immunoassay).

The drawback of PCR are which may lead to false positive results is the possibility of DNA contamination. The false negative results also possible because of presence PCR inhibitors in samples.

The reliable diagnostics of trichomoniasis is needed for the whole set of laboratory tests, allowing to determine the ethitropic agent and the stage of diseases.

KEY WORDS: genodiagnosics tests (PCR), *T. vaginalis*, isolating in culture.

Immunopathol., allergol., infectol. 2000, 4: 77 p.