



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2011152833/15, 23.12.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
23.12.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.12.2011

(43) Дата публикации заявки: 27.06.2013 Бюл. № 18

(45) Опубликовано: 10.10.2013 Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2132062 C1, 20.06.1999. RU 2320991 C2,  
27.03.2008. RU 2314123 C2, 10.01.2008.

**ВЛАДИМИРОВ Ю.А. и др. Свободные  
радикалы и клеточная хемилюминесценция //**  
**Успехи биологической химии. - 2009, т.49,**  
**стр.341-388. ПАНОВА Л.Д. Патология**  
**органов мочевой системы у новорожденных**  
**с инфекционными заболеваниями //**  
**Автореферат дис. на соиск. уч. степ. д.м.н. -**  
**(см. прод.)**

Адрес для переписки:

660022, г.Красноярск, ул. П. Железняк, 3Г,  
ФГБУ "НИИ медицинских проблем Севера "  
СО РАМН, патентоведу

(72) Автор(ы):

**Савченко Андрей Анатольевич (RU),**  
**Борисов Александр Геннадьевич (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Учреждение Российской академии**  
**медицинских наук Научно-**  
**исследовательский институт медицинских**  
**проблем Севера Сибирского отделения**  
**РАМН (RU),**  
**Общество с ограниченной**  
**ответственностью "МедБиоТех" (RU)**

**(54) СПОСОБ ВЫБОРА АНТИБИОТИКА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к лабораторной диагностике, и может быть использовано для выбора антибиотика при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний. Для этого проводят измерение спонтанной и модифицированной антибиотиками люцигенин-зависимой хемилюминесценции цельной крови пациента. Затем рассчитывают коэффициент антибиотической модификации (КАМ), представляющий собой отношение разности площадей под кривой хемилюминесценции с антибиотиком ( $S_{АНТ}$ ) и под кривой спонтанной хемилюминесценции ( $S_{СП}$ ) к

площади под кривой спонтанной хемилюминесценции ( $S_{СП}$ ), выраженный в процентах. Для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний отбирают антибиотики, у которых положительные или отрицательные значения КАМ по модулю не превышают 10%. При этом оптимальным антибиотиком считают тот, у которого значение КАМ по модулю наиболее близко или равно «0». В случае совпадения положительных и отрицательных значений КАМ антибиотиков по модулю предпочтение отдается антибиотику с положительным значением. Использование данного способа позволяет осуществлять оптимальный подбор

антибиотиков при лечении инфекционно-индивидуальных иммунологических  
воспалительных заболеваний с учетом особенностей пациентов. 2 пр.

(56) (продолжение):

Уфа: 2010, [онлайн], [найдено 04.04.2013], Найдено из интернета: <URL: <http://oldvak.ed.gov.ru/common/img/uploaded/files/vak/2010/announcements/medicin/12-04/PanovaLD.pdf>. NIU L et al. A study of the chemiluminescence behavior of cephalosporins with luminol and its analytical application // Drug Metab Lett. 2009 Aug; 3(3), abstract.

R U 2 4 9 5 4 2 2 C 2

R U 2 4 9 5 4 2 2 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2011152833/15, 23.12.2011**(24) Effective date for property rights:  
**23.12.2011**

Priority:

(22) Date of filing: **23.12.2011**(43) Application published: **27.06.2013 Bull. 18**(45) Date of publication: **10.10.2013 Bull. 28**

Mail address:

**660022, g.Krasnojarsk, ul. P. Zheleznjaka, 3G,  
FGBU "NII meditsinskikh problem Severa " SO  
RAMN, patentovedu**

(72) Inventor(s):

**Savchenko Andrej Anatol'evich (RU),  
Borisov Aleksandr Gennad'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Uchrezhdenie Rossijskoj akademii meditsinskikh  
nauk Nauchno-issledovatel'skij institut  
meditsinskikh problem Severa Sibirskogo  
otdelenija RAMN (RU),  
Obschestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju  
"MedBioTekh" (RU)**

(54) **METHOD FOR CHOOSING ANTIBIOTIC IN TREATING INFECTIOUS-INFLAMMATORY DISEASES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: spontaneous and antibiotic-modified lucigenin-dependent chemoluminescence of the patient's whole blood is measured. That is followed by calculating an antibiotic modification coefficient (AMC) representing the relation of an area difference under the antibiotic chemiluminescence curve (Bant.) and under the spontaneous chemiluminescence curve (Ssp.) to the area under the spontaneous chemiluminescence curve (Ssp.) expressed as a percentage. Treating the

infectious-inflammatory diseases is ensured by choosing the antibiotics that have positive or negative AMC less than 10% in modulus. The optimal antibiotic is that having the AMC closest or equal to 0 in modulus. If the positive and negative AMCs of the antibiotics in modulus concur, the antibiotic with the positive value is preferential.

EFFECT: using this method allows the optimal choice of the antibiotics in treating the infectious-inflammatory diseases based on the individual patients' immunological characteristics.

2 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической фармакологии, и может быть использовано при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний.

Рациональная антибиотикотерапия остается одной из наиболее актуальных задач современной медицины. В настоящее время подбор антибиотиков осуществляется по чувствительности микроорганизмов к тому или иному препарату [5]. Дозы и схемы введения антибактериальных средств определяются по медицинским стандартам без учета индивидуальных особенностей пациента. При этом известно, что антибиотики помимо антибактериальной активности могут проявлять как токсическое действие на организм пациента [4], так и вызывать аллергические реакции, т.е. угнетать или стимулировать иммунную систему. Это обуславливает необходимость оценки воздействия антибиотиков на организм человека.

Известен способ определения гиперчувствительности организма к пенициллину [3]. Гиперчувствительность к пенициллину диагностируют по увеличению количества эритроцитов с электрофоретической подвижностью  $1,0 \text{ мкм} \cdot \text{С}^{-1} \cdot \text{В}^{-1} \cdot \text{см}$  и более в присутствии антибиотика на 10% и более по сравнению с контролем. Известный способ является мало информативным при выборе оптимального антибиотика для лечения больного, так как предназначен для определения гиперчувствительности организма только к одному антибиотику - пенициллину. Кроме того, способ не учитывает воздействие антибиотика на нейтрофилы и макрофаги - клетки, непосредственно участвующие в воспалительных процессах.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому изобретению является способ подбора антибактериальных препаратов для лечения гнойно-воспалительных процессов [7]. Способ осуществляют путем смешивания периферической крови больного с антибактериальными препаратами, отобранными по результатам антибиотикограммы, и нитросиним тетразолием. Подсчитывают в смеси количество нейтрофильных гранулоцитов с сине-фиолетовыми гранулами формазана. Для лечения выбирают препарат с их максимальным количеством. К недостаткам известного способа относится определение результатов микроскопическим методом и их выражение в условных единицах, что повышает субъективность оценки результатов и ошибку метода.

Задачей изобретения является создание объективного способа персонализированной оценки действия антибиотиков на организм человека.

Сущность изобретения состоит в том, что выбор антибиотика при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний осуществляют путем исследования хемилюминесцентным методом цельной крови. Проводят измерение спонтанной и модифицированной антибиотиками люцигенин-зависимой хемилюминесценции в крови, после чего рассчитывают коэффициент антибиотической модификации (КАМ) по формуле:

$$\text{КАМ} = \frac{S_{\text{ант.}} - S_{\text{сп.}}}{S_{\text{сп.}}} \times 100\%$$

где  $S_{\text{ант}}$  - площадь под кривой хемилюминесценции крови с антибиотиком (усл.ед.);  
 $S_{\text{сп}}$  - площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции крови (усл.ед.).

Для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний отбирают антибиотики, у которых положительные или отрицательные значения КАМ по модулю не превышают 10%, при этом оптимальным антибиотиком считают тот, у которого значение КАМ по модулю наиболее близко или равно «0». В случае совпадения положительных и отрицательных значений КАМ антибиотиков по модулю, предпочтение отдается антибиотику с положительным значением КАМ.

Нейтрофильные гранулоциты крови обладают высокой реактивностью, способны быстро функционально перестраиваться в ответ на воздействие агентов различной природы. Кроме того, после активации нейтрофильные гранулоциты сами становятся мощными эффекторами каскадных реакций, определяя развитие воспаления и проявление цитотоксической активности данной клеточной популяции [2]. От их функциональной активности во многом зависит исход иммунного ответа. Угнетение их функциональной активности может привести к иммунодефицитам, стимуляция - к нежелательным токсическим и аллергическим реакциям. Нейтрофильные гранулоциты, как и многие типы клеток макроорганизма, чувствительны к действию антибиотиков, что дает возможность оценивать их влияние на клетки в экспериментах *in vitro*. Известно, что нейтрофильные гранулоциты в процессе реализации своей функции продуцируют активные формы кислорода и азота [6]. Одной из ведущих систем нейтрофилов, осуществляющих синтез высокореактивных молекул кислорода, является НАДФН-оксидазная система. Люцигенин является хемилюминесцентным индикатором, который вступает в реакцию только с супероксиданионом, продукция которого осуществляется НАДФН-оксидазной системой [1]. Высокий квантовый выход данной реакции позволяет использовать ее для определения хемилюминесцентной активности клеток в малом объеме крови.

Способ осуществляется следующим образом.

По 25 мкл цельной крови пациента, стабилизированной гепарином, добавляют в контрольную и опытные пробирки. Число опытных пробирок соответствует числу тестируемых антибиотиков. В контрольную пробирку добавляют 425 мкл раствора Хенкса. В опытные пробирки добавляют 375 мкл раствора Хенкса и по 50 мкл антибиотиков в концентрации, соответствующей содержанию антибиотиков в крови при парентеральном введении. Запуск хемилюминесцентной реакции осуществляют 50 мкл люцигенина в концентрации 50 мкг/мл. Хемилюминесцентный анализ выполняют с помощью хемилюминесцентного анализатора, например «БЛМ-3607» в течение 90 мин. Регистрацию результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществляют через компьютер. Получают кривые хемилюминесценции. Определяют площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции (Ссп.) в контрольной пробе и площадь под кривой хемилюминесценции в каждой пробе с тестируемыми антибиотиками (Сант.). Затем для каждого антибиотика рассчитывают коэффициент антибиотической модификации (КАМ), представляющий собой отношение разности площадей под кривой модифицированной хемилюминесценции и под кривой спонтанной хемилюминесценции к площади под кривой спонтанной хемилюминесценции, выраженный в процентах. Для лечения выбирают антибиотик с КАМ по модулю не выше 10%. Если несколько из тестируемых антибиотиков имеют КАМ в пределах от -10% до +10%, для лечения выбирают антибиотик, у которого значение КАМ наиболее близко к «0». В случае совпадения значений КАМ по модулю, но с разными знаками, выбирают антибиотик с положительным значением КАМ. В случае совпадения значений КАМ и по модулю, и по знаку, окончательный выбор антибиотика осуществляет врач по результатам антибиотикограммы пациента. При КАМ более +10% прогнозируют гиперчувствительность пациента к данному препарату.

Предложенный способ апробирован на 138 пациентах с инфекционно-воспалительными заболеваниями (рецидивирующий фурункулез, хронический гайморит, вялотекущий рецидивирующий аднексит и пр.), находившихся на лечении в клиническом отделении лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (г.Красноярск). До назначения антибиотиков были получены антибиотикограммы микрофлоры всех пациентов. Осуществлялся подбор следующих антибиотиков: клафоран, цефтриаксон, цефазолин, гентамицин, сумамед, элф-локс, метронидазол. Все обследуемые были разделены на 2 группы: 1-я группа - пациенты, получавшие антибиотик, отобранный по предлагаемому способу (65 больных); 2-я группа (73 больных) - пациенты, которым назначался антибиотик по результатам антибиотикограммы. Состояние всех пациентов в процессе лечения контролировалось. Эффективность проводимого лечения оценивалась клинически. В первой группе эффективность лечения составила 100%, у всех пациентов была достигнута стойкая ремиссия в течение 6 месяцев (срок наблюдения за пациентами). Во второй группе в 24,1% случаев (14 пациентов) отмечено обострение заболеваний.

Пример 1. Больной Ш., 46 лет (амбулаторная карта №86). Клинический диагноз: хронический двухсторонний гнойный гайморит. Жалобы на головные боли, усиливающиеся при наклоне вперед, заложенность носа, гнойные выделения из носа, снижение обоняния, субфебрилитет. Страдает хроническим гайморитом более 5 лет. На протяжении этого времени периодически проводились курсы консервативного лечения (антибиотики, симптоматическая терапия). Последнее обострение началось за 7 дней до поступления в отделение. Проведена пункция с исследованием флоры на чувствительность. При бактериологическом исследовании из смывов гайморовых пазух выделен гемолитический стрептококк в количестве  $10^7$  КОЕ/мл, чувствительный к группе цефалоспоринов, макролидов, хинолонов, аминогликозидов и нитроимидазолов.

До начала лечения проведен подбор антибиотика *in vitro* (клафоран, цефтриаксон, цефазолин, гентамицин, сумамед, элфлоркс, метронидазол), согласно заявленному способу.

Показатели КАМ для исследуемых антибиотиков составили:

Антибиотик	КАМ, %
Клафоран	+2,7
Цефтриаксон	-4,5
Цефазолин	-3,2
Гентамицин	-12,1
Сумамед	-2,8
Элфлоркс	-3,5
Метронидазол	+7,8

Оптимальная величина КАМ выявлена при тестировании клафорана: +2,7% (значение КАМ по модулю наиболее близко к «0»).

Проведено лечение клафораном в общетерапевтических дозах. После проведенного лечения состояние больного в течение 5 дней улучшилось: прошли головные боли, уменьшилось чувство тяжести в области лица, нормализовалась температура тела. Гнойных выделений нет. При дальнейшем наблюдении в динамике в течение 6 месяцев рецидивы не отмечались.

Пример 2. Больной Т., 36 лет (амбулаторная карта №74). Клинический диагноз: абсцесс стопы справа. После травмы правой стопы (наступил на гвоздь) в течение 3 дней появился отек, покраснение, боли в стопе. Проведено хирургическое лечение. При бактериологическом исследовании: гнойный стафилококк, чувствительный к группе пенициллинов, цефалоспоринов, макролидов, хинолонов и аминогликозидов.

До начала лечения проведен подбор антибиотика (клафоран, цефтриаксон,

цефазолин, гентамицин, сумамед, элэфлокс, метронидазол), согласно заявленному способу.

Показатели КАМ в присутствии антибиотиков составили:

5	Антибиотик	КАМ, %
	Клафоран	-1,4
	Цефтриаксон	+1,3
	Цефазолин	-4,5
	Гентамицин	-10,8
10	Сумамед	-1,8
	Элэфлокс	-2,1
	Метронидазол	-4,0

Оптимальная величина КАМ выявлена при тестировании цефтриаксона: +1,3% (значение КАМ по модулю наиболее близко к «0»).

15 Проведено лечение цефтриаксоном в общетерапевтических дозах. После проведенного лечения состояния больного в течение 3 дней улучшилось. Гнойных выделений нет. Рана зажила вторичным натяжением.

Технический результат от реализации заявленного способа:

- 20 - повышение точности и объективности результата за счет полностью автоматизированного определения исследуемых параметров;
- малый объем отбираемой крови для реализации способа, что позволяет осуществлять забор крови из пальца пациента;
- 25 - возможность индивидуального подбора антибиотиков при лечении широкого спектра инфекционно-воспалительных заболеваний;
- возможность безопасного тестирования и выявления антибиотиков, прием которых может вызвать у пациента развитие неблагоприятных реакций;
- 30 - при реализации способа учитываются индивидуальные иммунологические особенности больного;
- расширение арсенала средств при выборе антибиотиков для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний.

35 Таким образом, способ позволяет осуществлять оптимальный подбор антибиотиков при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний с учетом индивидуальных иммунологических особенностей пациентов.

Источники информации

1. Владимирова Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. - 2009. - Т. 49. - С.341-388.
- 40 2. Дамбаева С.В., Мазуров Д.В., Голубева Н.М., Пинегин Б.В. Влияние некоторых иммуномодуляторов на функциональную активность фагоцитарных клеток периферической крови доноров // Иммунология. - 2000. - №6. - С.15-20.
3. Патент №2023268 RU. Оpubл. 15.11.1994. Способ определения гипечувствительности организма к пенициллину // Минеев В.Н., Жихарев С.С.
- 45 4. Постников С.С. Токсические эффекты антибиотиков // Педиатрия. - 2008. - Т.87, №2. - С.111-116.
5. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. - М.: Боргес, 2002. - 432 с.
- 50 6. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. - СПб.: Наука. - 2000. - 231 с.
7. Патент №2132062 RU. Оpubл. 20.06.1999. Способ подбора антибактериальных препаратов для лечения гнойно-воспалительных процессов // Черкасов В.А.,

Буренкова Л.К., Палатова Л.Ф. и др.

#### Формула изобретения

5 Способ выбора антибиотика при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний, включающий исследование крови и анализ данных, отличающийся тем, что используют цельную кровь, проводят измерение в крови спонтанной и модифицированной антибиотиками люцигенинзависимой хемилюминесценции, после чего рассчитывают коэффициент антибиотической модификации (КАМ) по формуле

$$10 \text{ КАМ} = \frac{S_{\text{АНТ.}} - S_{\text{СП.}}}{S_{\text{СП.}}} \times 100\%,$$

где  $S_{\text{АНТ.}}$  - площадь под кривой хемилюминесценции крови с антибиотиком (усл.ед.);

15  $S_{\text{СП.}}$  - площадь под кривой спонтанной хемилюминесценции крови (усл.ед.), и для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний отбирают антибиотики, у которых положительные или отрицательные значения КАМ по модулю не превышают 10%, при этом оптимальным антибиотиком считают тот, у которого значение КАМ по модулю наиболее близко или равно «0», в случае совпадения положительных и отрицательных значений КАМ антибиотиков по модулю предпочтение отдается  
20 антибиотику с положительным значением КАМ.

25

30

35

40

45

50