

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 68



1–2'2023

Научно-практический журнал

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —
ежемесячный научно-практический
журнал
Основан в 1956 году

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. 3а, Москва, 117105.
Тел.: 89254723038
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией к. б. н. Л. Б. Смирнова
Корректор: Е. А. Крыкова
Перевод: О. С. Смирнова
Сайт: www.antibiotics-chemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Издательство
ОКИ

Подписка через объединённый
каталог «Пресса России»
или через «Агентство «КнигаСервис»:
подписной индекс — Е71404

Журнал зарегистрирован
в Комитете РФ по печати
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: февраль 2023

Свободная цена

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 68

1–2'2023

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор

Чл. корр. РАН, профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора

профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. А.
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.
Профессор, д. м. н. Климко Н. Н.
Профессор, д. м. н. Колбин А. С.
Профессор, д. м. н. Кочеровец В. И.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Лобзин Ю. В.
Профессор, д. х. н. Олсуфьева Е. Н.
Д. б. н. Переверзева Э. Р.
Д. м. н. Припутневич Т. В.
Профессор, д. м. н. Руднов В. А.
Д. б. н. Садыкова В. С.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Сычев Д. А.
Д. х. н. Тевяшова А. Н.
Профессор, д. х. н. Тишков В. Н.
Чл. корр. РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.
Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.
Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.

Научные редакторы

К. м. н. Кузнецова С. М.
К. б. н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Зуева Л. П.
Богуш Т. А.	Клясова Г. А.
Васильев А. Н.	Ленёва И. А.
Волжанин В. М.	Митрохин С. Д.
Дмитриева Н. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Ших Е. В.

Founders:

Ministry of Health
of the Russian Federation

State Scientific Center for Antibiotics

«Antibiotiki i Khimioterapiya»
(«Antibiotics and Chemotherapy»)
Monthly Scientific
and Practical Journal

Founded in 1956

Editorial office address:

3a Nagatinskaya st., Moscow, 117105
Russia
Tel.: +7-925-472-30-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Head of the Editorial Office:
Ph. D. in Biology L. B. Smirnova
Proofreader: E. A. Krykova
Translator: Olga S. Smirnova
Website:
www.antibiotics-chemotherapy.ru

Advertising Department:

Tel.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
L. I. Gusak

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



*Subscription through the united
catalogue «Pressa Rossii»
(«Russian Press») or through
«Agentstvo Kniga-Servis»
(«Book Service Agency»):
subscription index — E71404*

The journal is registered
with the Press Committee
of the Russian Federation
Registration certificate No. 0110694
dated May 25, 1993

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: february 2023
Free price

ISSN 0235-2990

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 68

1–2'2023

MONTHLY JOURNAL

Editor-in-Chief

Corresponding member of the RAS,
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Sidorenko
Deputy Editor-in-chief

Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Yakovlev

RESPONSIBLE FOR THE ISSUE

Dmitry Yu. Belousov

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Beloborodov
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Biology Vadim M. Govorun
Professor, D. Sc. in Biology Elena N. Ilyina
Professor, D. Sc. in Medicine Nikolay N. Klimko
Professor, D. Sc. in Medicine Alexey S. Kolbin
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir I. Kocherovets
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Yuriy Yu. Lobzin
Professor, D. Sc. in Chemistry Evgenia N. Olsufieva
D. Sc. in Biology Eleonora R. Pereverzeva
D. Sc. in Medicine Tatyana V. Pripitnevich
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Rudnov
D. Sc. in Biology Vera S. Sadykova
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Dmitry A. Sychev
D. Sc. in Chemistry Anna N. Tevyasheva
Professor, D. Sc. in Chemistry Vladimir N. Tishkov
Corresponding member of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Alexey V. Tutelyan
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey A. Shlyapnikov
Professor, D. Sc. in Chemistry Andrey E. Shchekotikhin

Scientific Editors

Ph. D. in Medicine Svetlana M. Kuznetsova
Ph. D. in Biology Irina V. Belyavskaya

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Natalia N. Besednova	Lyudmila P. Zueva
Tatyana A. Bogush	Galina A. Klyasova
Andrey N. Vasiliev	Irina A. Leneva
Valeriy M. Volzhanin	Sergey D. Mitrokhin
Natalya V. Dmitrieva	Victor V. Tets
Yuliya A. Zakharova	Evgenia V. Shikh

Журнал* цитируется в: *Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)*

Cited in: *Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)*

Экспериментальные исследования

- Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Алсовзиди А. К. М., Караваяева О. А., Семёнов А. П., Бородин И. А.
Экспресс-анализ воздействия аминогликозидов на бактерии с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем
Логинова С. Я., Шукина В. Н., Савенко С. В., Сахаров Р. В., Суровяткина И. В., Борисевич С. В.
Разработка условий скрининга *in vitro* эффективных лекарственных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья
Селянская Н. А., Титова С. В., Меньшикова Е. А., Кругликов В. Д., Ежова М. И.
Чувствительность к антибактериальным препаратам биоплёнок, образованных штаммами холерных вибрионов различных серогрупп
Хмидет А. Б. С., Ясенявская А. Л., Цибизова А. А., Тюренков И. Н., Озеров А. А., Самотруева М. А.
Оценка противомикробной активности пиримидинового соединения в отношении *Klebsiella pneumoniae*

Клинические исследования и практика

- Черников А. Ю., Полянский Д. Д., Дьяков А. В., Ротенко К. Д., Панфилова Д. В.
Отдалённые результаты химиотерапии туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием бедаквиллина

Обзоры

- Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Яковлев А. А., Матосова Е. В., Крыжановский С. П., Щелканов М. Ю.
Потенциальная роль микро- и нанопластика в распространении вирусов
Ковальчук С. Н., Федорова Л. С., Ильина Е. Н.
Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам
Орлов Ю. П., Бутров А. В., Свиридов С. В., Афанасьев В. В., Кондратьев А. Н., Ценципер Л. М., Говорова Н. В., Кондратьев А. И., Байтугаева Г. А., Какуля Е. Н.
Сукцинат и сукцинатдегидрогеназа как «точка опоры» в цикле Кребса при критических состояниях
Белов Б. С., Гриднева Г. И., Аронова Е. С., Муравьева Н. В.
К вопросу о скрининге и профилактике хронических и оппортунистических инфекций в ревматологии

Experimental Research

- 4 Guliy Olga I., Zaitsev Boris D., Alsowaidi Ali Kadhim Mohammed, Karavaeva Olga A., Semyonov Alexander P., Borodina Irina A.
Rapid Analysis of the Effect of Aminoglycosides on Bacteria by Using a Sensor System Based on a Piezoelectric Resonator with a Lateral Electric Field
11 Loginova Svetlana Ya., Schukina Veronika N., Savenko Sergey V., Sakharov Roman V., Surovyatkina Irina V., Borisevich Sergey V.
Development of the Screening Conditions *In Vitro* Effective Drugs Against the Causative Agent of Chikungunya Fever
16 Selyanskaya Nadezhda A., Titova Svetlana V., Menshikova Elena A., Kruglikov Vladimir D., Yezhova Mariya I.
Sensitivity to Antibacterial Drugs of Biofilms Formed by Strains of Cholera Vibrions of Various Serogroups
22 Hmidet Aisha B. S., Yasyenyavskaya Anna L., Tsibizova Alexandra A., Tyurenkov Ivan N., Ozerov Alexander A., Samotrueva Marina A.
Evaluation of the Antimicrobial Activity of Pyrimidine Compound Against *Klebsiella pneumoniae*

Clinical Research and Practice

- 27 Chernikov Aleksandr Yu., Polyansky Dmitry D., Dyakov Aleksandr V., Rotenko Kirill D., Panfilova Darya V.
Long-Term Results of Chemotherapy of Tuberculosis with a Widespread Drug-Resistant Pathogen Using Bedaquiline

Reviews

- 33 Andryukov Boris G., Besednova Natalia N., Zaporozhets Tatyana S., Yakovlev Anatoly A., Matosova Ekaterina V., Kryzhanovsky Sergey P., Shchelkanov Mikhail Yu.
The Potential Role of Micro- and Nanoplastics in the Spread of Viruses
45 Kovalchuk Svetlana N., Fedorova Lyudmila S., Ilina Elena N.
Molecular Mechanisms of Microbial Resistance to Disinfectants
57 Orlov Yuriy P., Butrov Andrey V., Sviridov Sergey V., Afanasiev Vasily V., Kondratiev Anatoly N., Tsentsiper Lubov M., Govorova Nataly V., Kondratiev Arkady I., Baytugaeva Galina A., Kakulya Evgeny N.
Succinate and Succinate Dehydrogenase as a «Foothold» in the Krebs Cycle in Critical Conditions
69 Belov Boris S., Gridneva Galina I., Aronova Evgenia S., Muravyeva Natalia V.
On the Issue of Screening and Prevention of Chronic and Opportunistic Infections in Rheumatology

* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и кандидата наук.

Экспресс-анализ воздействия аминогликозидов на бактерии с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем

*О. И. ГУЛИЙ¹, Б. Д. ЗАЙЦЕВ², А. К. М. АЛСОВЭЙДИ³,
О. А. КАРАВАЕВА¹, А. П. СЕМЁНОВ², И. А. БОРОДИНА²

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов, Россия

² Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратовский филиал, Саратов, Россия

³ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Rapid Analysis of the Effect of Aminoglycosides on Bacteria by Using a Sensor System Based on a Piezoelectric Resonator with a Lateral Electric Field

*OLGA I. GULIY¹, BORIS D. ZAITSEV², ALI KADHIM MOHAMMED ALSOWAIDI³,
OLGA A. KARAVAEVA¹, ALEXANDER P. SEMYONOV², IRINA A. BORODINA²

¹ Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russia

² Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, Russia

³ Saratov State University, Saratov, Russia

Резюме

Показана возможность экспресс-анализа воздействия аминогликозидных антибиотиков на бактерии (*Escherichia coli*) с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем с диапазоном рабочих частот 6–7 МГц. Для экспериментов использовали штаммы бактерий *E. coli* как чувствительные, так и устойчивые к канамицину. При оценке воздействия канамицина на бактерии использовали изменение модуля электрического импеданса резонатора в качестве аналитического сигнала. Установлено, что критерием чувствительности бактерий к канамицину является изменение модуля электрического импеданса датчика после воздействия антибиотика на бактерии на любой частоте вблизи резонанса. Датчик обладает высокой чувствительностью и позволяет проводить диагностику антимикробной восприимчивости бактерий в течение 7–9 мин.

Ключевые слова: аминогликозидные антибиотики; бактерии; датчик на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем

Для цитирования: Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Алсовэиди А. К. М., Караваева О. А., Семёнов А. П., Бородин И. А. Экспресс-анализ воздействия аминогликозидов на бактерии с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 1–2: 4–10. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-4-10>.

Abstract

The possibility of express analysis of the effect of aminoglycoside antibiotics on bacteria (*Escherichia coli*) using a sensor system based on a piezoelectric resonator with a lateral electric field with an operating frequency range of 6–7 MHz is shown. *E. coli* strains, both sensitive and resistant to kanamycin were used for the experiments. During evaluating the kanamycin effect on bacteria, the change in the electrical impedance modulus of the resonator was used as an analytical signal. It has been established that the criterion for the antibiotic bacteria sensitivity is the change in the modulus of the sensor electrical impedance after antibiotic exposure on bacteria at any frequency near the resonance. The sensor is highly sensitive and allows diagnosing the antimicrobial susceptibility of bacteria within 7–9 minutes.

Keywords: aminoglycoside antibiotics; bacterial; sensor based on a piezoelectric resonator with a lateral electric field

For citation: Gulyi O. I., Zaitsev B. D., Alsowaidi A. K. M., Karavaeva O. A., Semyonov A. P., Borodina I. A. Rapid analysis of the effect of aminoglycosides on bacteria by using a sensor system based on a piezoelectric resonator with a lateral electric field. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68: 1–2: 4–10. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-4-10>.

Введение

Чрезмерное и порой неправильное использование антибиотиков приводит к бактериальной эволюции и формированию штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Рост устойчивости возбудителей инфекций к антибиотикам (антибиотикорезистентность) рассматривается в разных странах мира как угроза национальной безопасности. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) относит проблему антимикробной резистентности к числу наиболее приоритетных, о чём свидетельствует разработка «Глобальной стратегии ВОЗ по сдерживанию резистентности к антимикробным препаратам». В докладе ООН проблема устойчивости к антибиотикам демонстрируется как «серьёзная угроза» для глобального общественного здравоохранения [1–4]. Бактериальные патогены, вызывающие инфекции человека, претерпевают эволюционные изменения в условиях антропогенной трансформации внешней среды, изменения путей передачи инфекции и восприимчивости к ним человеческой популяции [5].

В основе эффективного действия антибактериальных препаратов лежит высокая чувствительность к ним микробных клеток. Основной целью определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам является прогнозирование их эффективности при лечении инфекций. Поэтому определение антимикробной восприимчивости (АМВ) бактерий является одной из основных задач при антибиотикотерапии. Определение АМВ также проводят при наблюдении за распространением резистентности среди микроорганизмов и в процессе изучения новых препаратов. Для этих целей применяют, как правило, стандартные микробиологические методы определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотика в мясо-пептонном бульоне или на твёрдой питательной среде, основанные на способности препаратов угнетать рост микроорганизмов [6]. Скорость обычного тестирования АМВ, по сути, ограничена наблюдением за ростом клеточных колоний, которое может продолжаться в течение нескольких дней. Для быстрого определения АМВ бактерий весьма перспективны методы электрофизического анализа, поскольку позволяют получить информацию о метаболически активных клетках без их повреждения в течение короткого промежутка времени. Для определения активности антибиотиков в отношении бактерий развиваются автоматизированные методы, например, с помощью биосенсорных систем [7–12]. Перспективы применения пьезокварцевых биосенсоров для оценки АМВ микробных клеток продемонстрированы в работе [13], в которой описан способ регистрации меха-

нических колебаний бактерий до и после воздействия на них антибиотиков (полимиксина В и ампициллина) кварцевым резонатором на примере подвижной кишечной палочки. Резонатор позволял регистрировать фазовый шум, вызванный различными типами движения бактерий с различной частотой. Уменьшение фазового шума после добавления антибиотика являлось следствием уменьшения движения бактерий из-за отсутствия у них устойчивости к данному антибиотику. В сочетании с визуализацией клеток до и после добавления антибиотика, а также подсчёта количества колониеобразующих единиц, установлено, что в течение 7–15 мин можно определять АМВ.

Анализ данных литературы показал возможность разработки высокочувствительных жидкостных датчиков на основе резонаторов с поперечным электрическим полем, поскольку они реагируют на изменение как механических параметров контактирующей жидкости, так на изменение её электрических свойств [14]. Перспективными для тестирования АМВ бактерий являются датчики, которые позволяют проводить многократные измерения и легко очищаются после проведения измерений. Поскольку процедура определения АМВ бактерий классическими методами достаточно длительна [15], разработка метода быстрого анализа активности препаратов в отношении микробных клеток является чрезвычайно важной.

Цель работы — исследование возможности экспресс-анализа воздействия аминогликозидов на бактерии с помощью датчика на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем.

Материал и методы

В работе использовали бактерии *Escherichia coli* штаммов K-12, XL-1, B-878, K-12 (pMMB33), полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (Саратов) (<http://collection.ibppm.ru>).

Микроорганизмы хранили при +4°C и пересекали каждые 2 нед.

Для культивирования бактерий использовали жидкую питательную среду LB следующего состава (г/л): NaCl (ЗАО «ЛенРеактив», Россия) — 5,0%; пептон (Becton, Dickinson & Co., США) — 10,0%; дрожжевой экстракт (DIFCO, США) — 5,0%. Полужидкая среда LB содержала 0,7% агар-агара; твёрдая — 1,5 и 3% агар-агара.

В работе использовали канамицин (Sigma, США).

Для оценки жизнеспособности клеток после их обработки канамицином использовался стандартный метод подсчёта колоний клеток. Для подсчёта количества колоний, образующихся из отдельных жизнеспособных клеток после воздействия антибиотиков, использовали стандартный метод посева на поверхность плотной питательной среды, как описано в [16]. Контролем служило количество выросших колоний при посеве клеток без их обработки антибиотиком.

Исследование проводили с помощью сенсорной системы, включающей пьезоэлектрический резонатор с поперечным электрическим полем. Этот резонатор был выполнен на основе пластины ниобата лития X — среза толщиной

0,5 мм [17]. На нижней стороне пластины были нанесены два прямоугольных электрода с зазором между ними. Область вокруг электродов и часть электродов были покрыты специальным лаком, который демпфировал паразитные волны Лэмба [18] и обеспечивал достаточно высокую добротность ~630. Диапазон рабочих частот составлял 6–7 МГц. Возбуждаемая акустическая волна с продольной поляризацией распространялась вдоль нормали к поверхности пластины. На верхней стороне пластины был приклеен жидкостный контейнер объёмом 1 мл. Для проведения анализа в жидкостный контейнер вносили подготовленную суспензию микробных клеток (концентрация 10^6 кл/мл) и измеряли частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса датчика с помощью прецизионного измерителя LCR параметров 4285A (Agilent, США). Затем добавляли антибиотик и измерения повторялись. Использовали одну концентрацию микробных клеток и разную концентрацию антибиотика.

Все эксперименты проводились не менее чем пять раз. Относительная погрешность результатов измерений исследуемых образцов составляла $\pm 2\%$, т. е. при проведении нескольких экспериментов с одним и тем же взаимодействием суспензии клеток с антибиотиком значения реальной и мнимой частей электрического импеданса имеют разброс значений на любой частоте в пределах $\pm 2\%$.

Анализ и представление данных осуществляли при помощи программы Microsoft Excel 2010 и стандартных методов статистической обработки.

Результаты и обсуждение

Аминогликозиды являются бактерицидными антибиотиками и проявляют быстрый эффект при лечении тяжёлых инфекций, вызванных чувствительными к ним микроорганизмами. Поэтому аминогликозиды часто выбираются при лечении тяжёлых инфекций, сопряжённых с глубоким угнетением иммунитета, например, при фебрильной нейтропении. Данная группа антибиотиков широко используется как в медицине, так и в ветеринарии. Объём продаж аминогликозидов за 2020 г. в Евросоюзе (EU) составил 5,6% от общего объёма продаж всех групп антибиотиков [19]. Важное преимущество аминогликозидов заключается в том, что они оказывают бактерицидное действие независимо от фазы размножения микроорганизмов, в том числе и на микроорганизмы, находящиеся в фазе покоя.

На практике при выборе антибиотиков обычно руководствуются принципом принадлежности антибактериального препарата к определённой группе, поэтому в настоящей работе использовался канамицин, как представитель амино-

гликозидов. Поскольку канамицин активен в отношении большого числа граммотрицательных палочек, в качестве объекта исследования использовали микробные клетки *E.coli*. Идея экспериментов заключалась в сравнительном анализе регистрируемых параметров датчика после воздействия канамицина на микробные клетки *E.coli* штаммов (K-12, XL-1, B-878, K-12 (pMMB33)), различающихся по устойчивости к изучаемому антибиотику. Полученные данные сравнивались с результатами стандартного микробиологического высева. Общая схема проведения эксперимента представлена на рис. 1.

Согласно данным литературы МПК канамицина для клеток *E.coli* K-12 составляет 2 мкг/мл [20], исходя из этого, в работе использовали следующие концентрации антибиотика: 0,5; 1,0, 2,0 и 4,0 мкг/мл. В предварительных экспериментах установлено, что оптимальное время воздействия канамицина на бактерии (т. е. время для регистрации аналитического сигнала) составляет ~7–9 мин.

При оценке воздействия канамицина на бактерии канамициночувствительного штамма *E.coli* K-12 показано, что добавление канамицина приводит к изменению как реальной R (рис. 2, *a*), так и мнимой X (рис. 2, *b*) частей электрического импеданса резонатора даже при добавлении минимальной концентрации канамицина (0,5 мкг/мл). Полученные данные позволили построить зависимости изменения величины реальной ΔR (рис. 3, *a*) и мнимой ΔX (рис. 3, *b*) частей импеданса

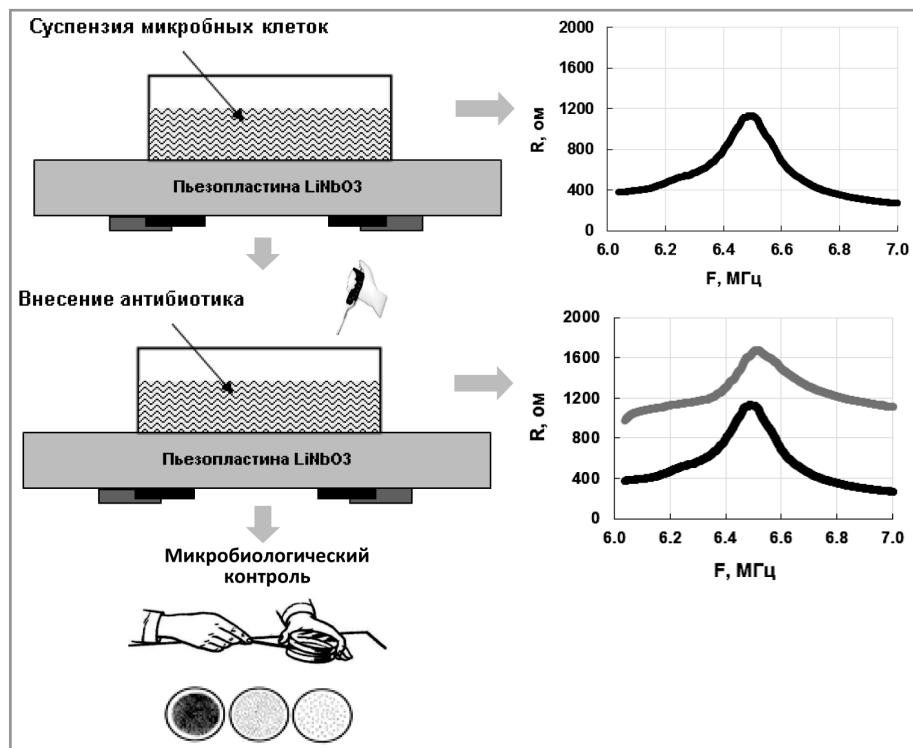


Рис. 1. Общая схема проведения экспериментов.

Fig. 1. General scheme of experiments.

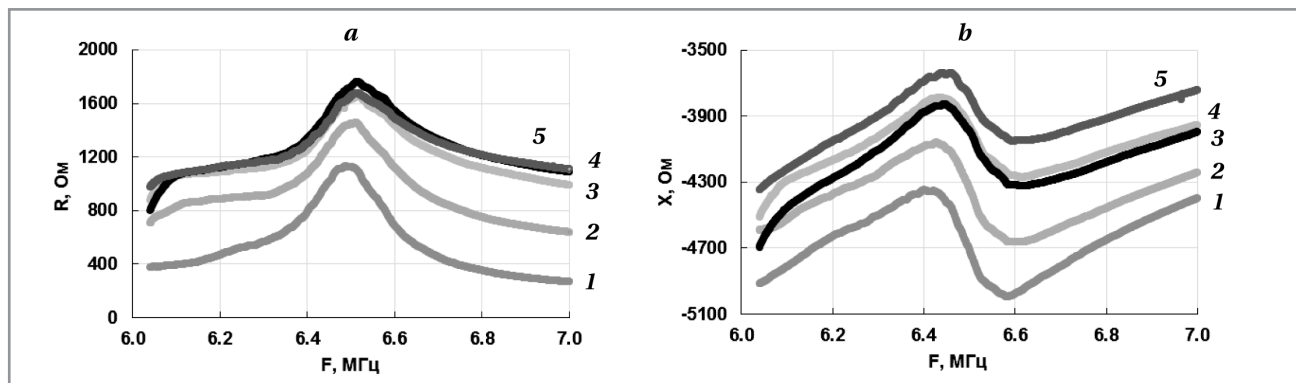


Рис. 2. Частотные зависимости реальной R (a) и мнимой X (b) частей электрического импеданса для клеток *E.coli* K-12 после воздействия разных концентраций канамицина.

1 — без воздействия антибиотика; после воздействия канамицина: 2 — 0,5 мкг/мл; 3 — 1 мкг/мл; 4 — 2 мкг/мл; 5 — 4 мкг/мл.

Fig. 2. Frequency dependences of the real R (a) and imaginary X (b) parts of the electrical impedance for *E.coli* K-12 cells after exposure to different concentrations of kanamycin.

1 — without exposure to an antibiotic; after exposure to kanamycin (mcg/ml): 2 — 0,5; 3 — 1; 4 — 2; 5 — 4.

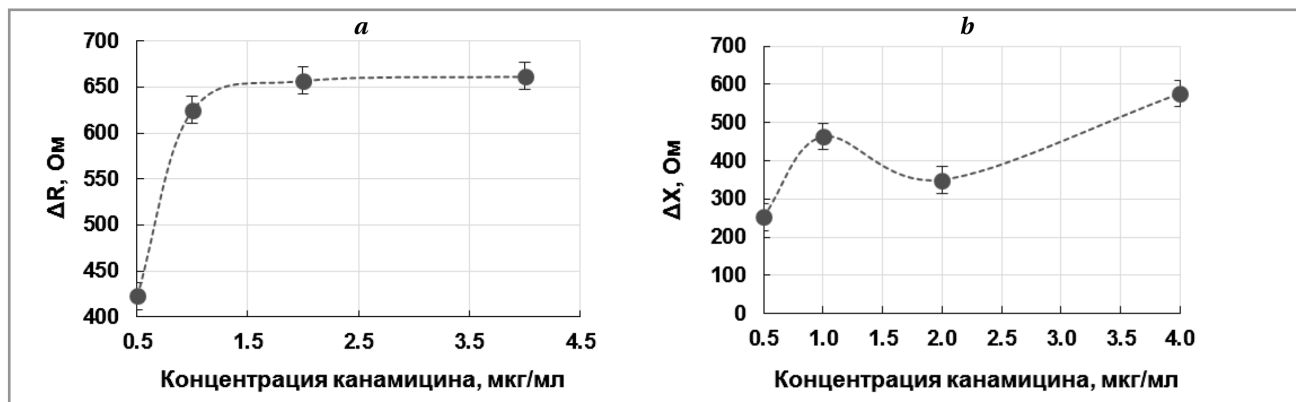


Рис. 3. Зависимости изменения реальной ΔR (a) и мнимой ΔX (b) частей электрического импеданса на частоте 6,5 МГц от концентрации канамицина, добавляемого в бактериальную суспензию.

Fig. 3. Dependences of changes in the real ΔR (a) and imaginary ΔX (b) parts of the electrical impedance at a frequency of 6.5 MHz on the concentration of kanamycin added to the bacterial suspension.

вблизи резонансной частоты от концентрации канамицина. Из данных, представленных на рис. 3а, видно, что с увеличением концентрации антибиотика изменение реальной части импеданса быстро растёт при увеличении концентрации с 0,5 до 1 мкг/мл. Затем рост замедляется и ΔR достигает насыщения при концентрации канамицина 4 мкг/мл. Что касается мнимой части электрического импеданса, то её изменение ΔX растёт с увеличением концентрации канамицина и достигает максимального значения для концентрации антибиотика 4 мкг/мл. Такая зависимость изменения величины регистрируемого сигнала обусловлена, вероятно, механизмом действия антибиотика. Известно, что механизм антимикробного действия канамицина связан с подавлением белкового синтеза на стадии переноса аминокислот от аминоацил-тРНК на рибосомы с последующим угнетением синтеза нуклеиновых кислот и нарушением образования клеточной стенки.

Канамицин способствует удержанию на рибосоме аминоацил-тРНК, не соответствующих кодону, установленному в А-участке рибосомы. В результате такого ложного кодирования синтезируются неправильные полипептиды с большим количеством ошибок, что и приводит к цитотоксическому (бактерицидному) эффекту канамицина на клетки [21]. Проникновение аминогликозидов через внешнюю мембрану грамотрицательных бактерий через пориновые каналы вызывает частичную деструкцию мембраны и усиление проникновения аминогликозидов через этот барьер. Таким образом, изменение регистрируемого сигнала датчика при действии канамицина, возможно, обусловлено частичной деструкцией мембраны клеток, вследствие чего содержимое клетки проникает в среду измерения и увеличивает её проводимость. Именно это увеличение проводимости и фиксируется датчиком в виде изменения реальной и мнимой частей электрического импеданса.

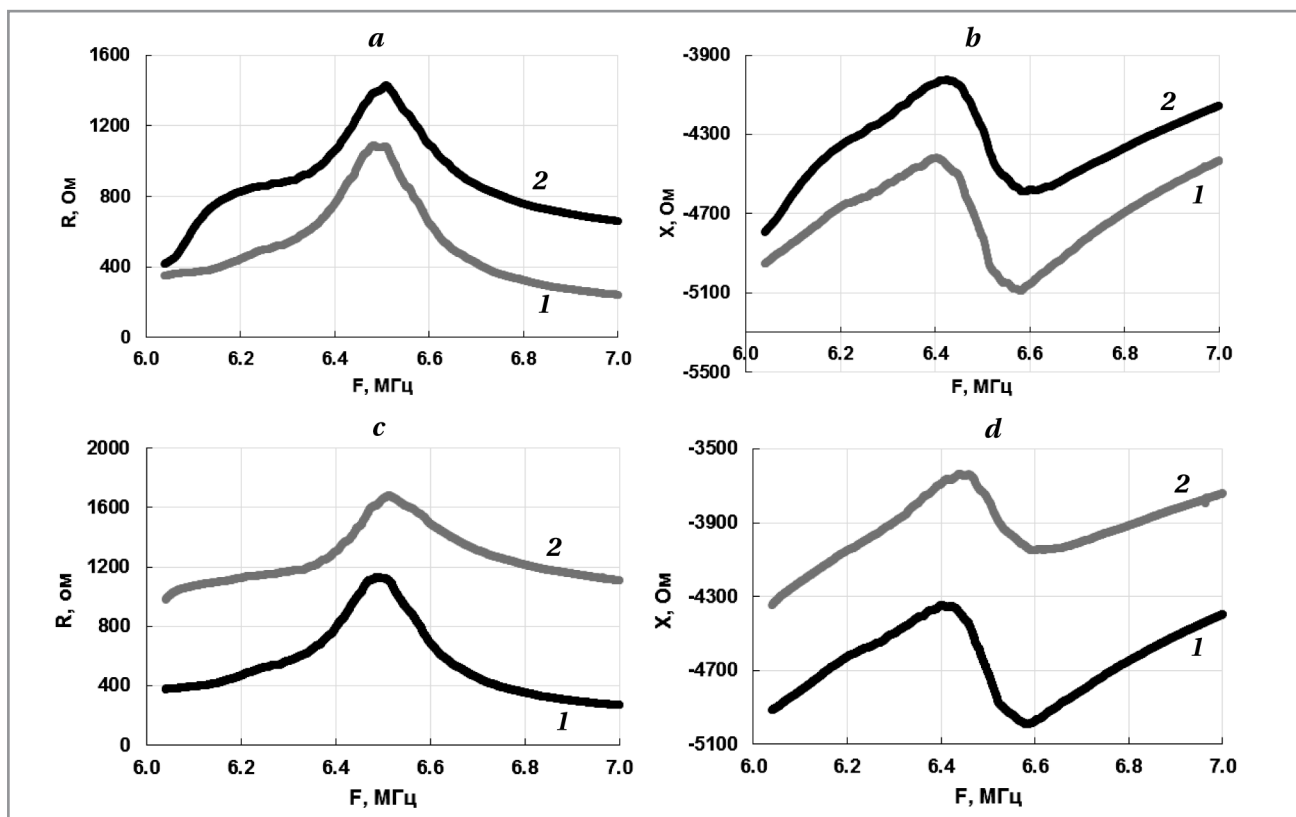


Рис. 4. Частотные зависимости реальной R (a, c) и мнимой X (b, d) частей электрического импеданса для суспензии клеток *E.coli* штаммов XL-1 (a, b) и B-878 (c, d) до (1) и после (2) воздействия канамицина.

Fig. 4. Frequency dependences of the real R (a, c) and imaginary X (b, d) parts of the electrical impedance for suspension of *E.coli* cells of strains XL-1 (a, b) and B-878 (b, d) before (1) and after (2) exposure to kanamycin.

Были проведены исследования с другими штаммами XL-1 и B-878, являющимися чувствительным к канамицину. Поскольку при проведении предыдущих исследований зафиксировано максимальное значение ΔR и ΔX при концентрации канамицина 4 мкг/мл, в дальнейших исследованиях использовали данную концентрацию антибиотика. На рис. 4 представлены результаты изменения регистрируемых параметров датчика при добавлении 4 мкг/мл канамицина к суспензии *E.coli* штаммов XL-1 (рис. 4, a, b) и B-878 (рис. 4, c, d). Видно, что для данных штаммов также зафиксированы значительные изменения реальной и мнимой частей электрического импеданса датчика. На частоте 6,65 МГц, близкой к частоте резонанса, ΔR оказывается равным 418 Ом и 853 Ом для штаммов XL-1 и B-878, соответственно. Изменения ΔX для этих штаммов равны 364 Ом и 837 Ом.

Для проверки предположения о возможности дифференциации чувствительных и резистентных штаммов при воздействии канамицина, проведены исследования с бактериями канамициноустойчивого штамма *E.coli* K-12 (pMMB33), обладающего плазмидой pMMB33, несущей устойчивость к канамицину. Условия эксперимента были аналогичны как и при использовании канамициночувствительных штаммов. Из данных, представленных на рис. 5, a, b видно, что

в используемом диапазоне частот не зафиксировано изменений реальной и мнимой части электрического импеданса датчика. Следовательно, изменение величины регистрируемого сигнала датчика при действии канамицина отличается для чувствительных и резистентных штаммов.

Следует отметить, что такой ориентировочный критерий воздействия канамицина на бактерии, как изменение модуля электрического импеданса резонатора, составляет не менее ~3%. Фактически для определения критерия чувствительности надо принимать во внимание изменение регистрируемого сигнала датчика на величину не менее 3% при воздействии канамицина по сравнению с контролем (клетки без воздействия антибиотика). Также для увеличения надёжности следует учитывать не одну резонансную частоту, а набор частот в определённом диапазоне вблизи резонанса.

Таким образом, регистрируя изменения реальной или мнимой части электрического импеданса суспензии клеток после воздействия на нее канамицина, можно сделать вывод о чувствительности/устойчивости изучаемых бактерий к исследуемому антибиотику. Возможность регистрации воздействия антибиотиков на микробные клетки служит информативным параметром для определения активности препарата и чувствительности к нему бактерий. Поскольку изменение

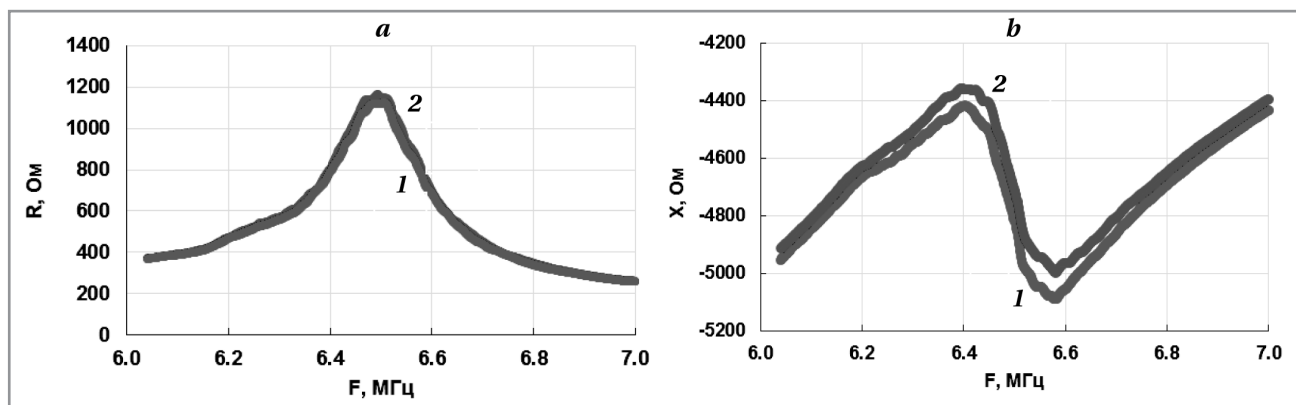


Рис. 5. Частотные зависимости R (a) и мнимой X (b) частей импеданса для суспензии клеток *E.coli* K-12 (pMMB33) до (1) и после (2) воздействия канамицина.

Fig. 5. Frequency dependences of R (a) and imaginary X (b) parts of the impedance for suspension of *E.coli* K-12 (pMMB33) cells before (1) and after (2) exposure to kanamycin.

величины регистрируемого сигнала датчика при действии канамицина отличается для чувствительных и резистентных штаммов, можно рекомендовать сенсорную систему на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем для экспресс-оценки воздействия аминогликозидов на бактерии.

Быстрота измерений с использованием пьезоэлектрических резонаторов с поперечным электрическим полем может привлечь специалистов для лабораторной диагностики антибиотикочувствительности бактерий. Разработанная сенсорная система позволяет проводить исследования при выполнении большого количества анализов, что значительно сокращает время, необходимое для оказания врачебной помощи. Исследование проводится непосредственно в жидкой фазе без иммобилизации компонентов анализа на поверхности пьезоэлектрика. Определение АМВ «в полевых условиях» и по месту оказания медицинской помощи является весьма важным аспектом, который позволит оперативно выбрать антибактериальный препарат и своевременно назначить лечение. С ис-

пользованием существующих стандартных методов и методик для определения АМВ бактерий тратится от 24 до 96 ч и более. Высокая чувствительность сенсора позволяет проводить диагностику АМВ бактерий в режиме реального времени, время проведения анализа составляет ~7–9 мин. Такая сенсорная система может быть полезна не только при определении антибиотикочувствительности бактерий для корректировки лечения, но и во время разработки новых антибактериальных препаратов и анализе восприимчивости бактерий к ним.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного Фонда проект № 22-29-00587.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов. Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

Литература/References

- Интернет-ресурсы <http://www.un.org/apps/news/story.asp?NewsID=47691#.VmZ00ImLR5w>
- Leung E., Weil D.E., Raviglione M., Nakatani H. World Health Organization World health day antimicrobial resistance technical working group. The WHO policy package to combat antimicrobial resistance. Bull World Health Organ. 2011; 89: 390–392. doi: 10.2471/BLT.11.088435.
- Aslam B., Wang W., Arshad M.I., Khurshid M., Muzammil S., Rasool M.H., Nisar M.A., Alvi R.F., Aslam M.A., Qamar M.U. et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect. Drug Resist. 2018; 11: 1645–1658. doi: 10.2147/IDR.S173867. eCollection 2018.
- Rooke L.S.J., Smith R.D., Pouwels K.B., Buchanan J., Abel L., Eibich P., Butler C.C., Tan P.S., Sarah Walker A., Robotham J.V. et al. The challenge of antimicrobial resistance: What economics can contribute. Science 2019; 364: eaau4679. doi: 10.1126/science.aau4679.
- Singh M., Dominy B. The evolution of cefotaxime activity in the TEM β -lactamase. J Mol Biol. 2012; 415:205–220. doi: 10.1016/j.jmb.2011.10.041. Epub 2011 Nov 3.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1. 2013. <http://www.eucast.org>.

- Kasas S., Malovichko A., Villalba M.I., Vela M.E., Yantorno O., Willaert R.G. Nanomotion detection-based rapid antibiotic susceptibility testing. Antibiot. (Basel, Switz.) 2021; 10: 287. doi: 10.3390/antibiotics10030287.
- Venturelli L., Harrold Z.R., Murray A.E., Villalba M.I., Lundin E.M., Dietler G., Kasas S., Foschia R. Nanomechanical bio-sensing for fast and reliable detection of viability and susceptibility of microorganisms. Sensors and Actuators: B. Chemical. 2021; 348: 130650. doi: 10.1016/j.snb.2021.130650.
- Karan Syal, Rafael Iriya, Yunze Yang, Hui Yu, Shaopeng Wang, Shelley E. Haydel, Hong-Yuan Chen, Nongjian Tao. Antimicrobial susceptibility test with plasmonic imaging and tracking of single bacterial motions on nanometer scale. ACS Nano. 2016; 10 (1): 845–852. doi: 10.1021/acsnano.5b05944.
- Gfeller K.Y., Nugaeva N., Hegner M. Rapid biosensor for detection of antibiotic-selective growth of *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol. 2005; 71 (5): 2626–2631. doi: 10.1128/AEM.71.5.2626-2631.2005.
- Maugeri G., Lychko I., Sobral R., Roque A.C.A. Identification and antibiotic-susceptibility profiling of infectious bacterial agents: a review of current and future trends. Biotechnol J. 2019;14(1):e1700750. doi: 10.1002/biot.201700750.
- Reynoso E.C., Laschi S., Palchetti I., Torres E. Advances in antimicrobial resistance monitoring using sensors and biosensors: A review. Chemosensors 2021; 9: 232. doi: 10.3390/chemosensors9080232.

13. Johnson W.L., France D.C., Rentz N.S., Cordell W.T., Walls F.L. Sensing bacterial vibrations and early response to antibiotics with phase noise of a resonant crystal. *Sci Rep.* 2017 Sep 22; 7 (1): 12138. doi: 10.1038/s41598-017-12063-6.
14. Zaitsev B.D., Shikhabudinov A.M., Teplykh A.A., Kuznetsova I.E. Liquid sensor based on a piezoelectric lateral electric field-excited resonator. *Ultrasonics.* 2015; 63: 179–183. doi: 10.1016/j.ultras.2015.07.009.
15. Barenfanger J., Drake C., Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 1415–1418. doi: 10.1128/JCM.37.5.1415-1418.1999.
16. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology, EUCAST Definitive Document. 1998; 4: 291–296. doi: 10.1111/j.1469-0691.1998.tb00061.x.
17. Guliy O.I., Zaitsev B.D., Borodina I.A., Burygin G.L., Karavaeva O.A., Semyonov A.P. Analysis of the microbial cell-Ab binding in buffer solution by the piezoelectric resonator. *Anal Biochem.* 2018; 554: 53–60. doi: 10.1016/j.ab.2018.05.028.
18. Zaitsev B.D., Kuznetsova I.E., Semyonov A.P., Vasil'ev A.A. New Method of Parasitic Mode Suppression in Lateral-Field-Excited Piezoelectric Resonator. *Tech Phys Lett.* 2011; 37 (6): 503–506. doi: 10.1134/S1063785011060150.
19. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2021. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2019 and 2020'. (EMA/58183/2021)
20. Bongaerts G.P., Kaptijn G.M. Aminoglycoside phosphotransferase-II-mediated amikacin resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1981; 20 (3): 344–350. doi: 10.1128/AAC.20.3.344.
21. Salimizand H., Zomorodi A.R., Mansury D., Khakshoor M., Azizi O., Khodaparast S., Baseri Z., Karami P., Zamanlou S. et al. Diversity of aminoglycoside modifying enzymes and 16S rRNA methylases in *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter nosocomialis* species in Iran; wide distribution of aadA1 and armA. *Infect Genet Evol.* 2018; 66: 195–199. doi: 10.1016/j.meegid.2018.09.028.

Информация об авторах

Гулий Ольга Ивановна — д. б. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов, Россия

Зайцев Борис Давыдович — д. ф.-м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории физической акустики Саратовского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратов, Россия

Алсowэйд Али Кадхим Мохаммед — аспирант очной формы обучения Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

Караваяева Ольга Александровна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ Саратовский научный центр РАН (ИБФРМ РАН), Саратов, Россия

Семёнов Александр Павлович — к. ф.-м. н., старший научный сотрудник лаборатории физической акустики Саратовского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратов, Россия

Бородина Ирина Анатольевна — к. ф.-м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории физической акустики Саратовского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Саратов, Россия

About the authors

Olga I. Guliy — D. Sc. in Biology, Professor, Leading researcher Biochemistry Laboratory of Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences – Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russia

Boris D. Zaitsev — D. Sc. in Physical and Mathematical Sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Physical Acoustics of the Saratov Branch of the Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, Russia

Ali Kadhim Mohammed Alsowaidi — full-time Ph. D. student, Saratov State University, Saratov, Russia

Olga A. Karavaeva — Ph. D. in Biology, Researcher of Biochemistry Laboratory of Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences — Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russia

Alexander P. Semyonov — Ph. D. in Physical and Mathematical Sciences, Senior researcher of the Laboratory of Physical Acoustics of the Saratov Branch of the Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, Russia

Irina A. Borodina — Ph. D. in Physical and Mathematical Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Physical Acoustics of the Saratov Branch of the Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, Russia

Разработка условий скрининга *in vitro* эффективных лекарственных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья

С. Я. ЛОГИНОВА, В. Н. ЩУКИНА, С. В. САВЕНКО,
Р. В. САХАРОВ, И. В. СУРОВЯТКИНА, *С. В. БОРИСЕВИЧ

ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия

Development of the Screening Conditions *In Vitro* Effective Drugs Against The Causative Agent of Chikungunya Fever

SVETLANA YA. LOGINOVA, VERONIKA N. SCHUKINA, SERGEY V. SAVENKO,
ROMAN V. SAKHAROV, IRINA V. SUROVYATKINA, *SERGEY V. BORISEVICH

48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, *Sergiev Posad, Russia*

Резюме

Вирс Чикунгунья (CHIKV) является представителем вирусов рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* и относится к зоонозным арбовирусным инфекциям, переносимыми комарами рода *Aedes*. Лихорадка Чикунгунья вызывает взрывоопасные эпидемии с участием миллионов случаев. Существует настоятельная необходимость в разработке противовирусных препаратов широкого спектра. Актуальным является разработка модели скрининга *in vitro* эффективных препаратов. Для выбора оптимальных условий скрининга проведён сравнительный анализ чувствительности культур клеток к вирусу Чикунгунья, штамм FN198/66. Оценены динамика и уровень накопления вируса при различных инфицирующих дозах. Показано, что вирус Чикунгунья, штамм FN198/66, хорошо размножается в перевиваемых культурах клеток Vero V, Vero Cl008, ВНК-21/13 и КЛ-17. Все изученные линии клеток могут быть использованы для проведения скрининга эффективных неспецифических медицинских средств защиты в отношении вируса Чикунгунья.

Ключевые слова: вирус Чикунгунья; культура клеток; множественность инфицирования; негативные колонии

Для цитирования: Логинова С. Я., Щукина В. Н., Савенко В. В., Сахаров Р. В., Суровяткина И. В., Борисевич С. В. Разработка условий скрининга *in vitro* эффективных лекарственных препаратов в отношении возбудителя лихорадки Чикунгунья. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 1–2: 11–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-11-15>.

Abstract

The Chikungunya virus (CHIKV) is a member of the *Flavivirus* genus, the *Flaviviridae* family, and is a zoonotic arbovirus infection transmitted by *Aedes* mosquitoes. Chikungunya fever causes explosive epidemics involving millions of cases. There is an urgent need to develop broad-spectrum antivirals. Actual is the development of a model of screening *in vitro* effective drugs. To select the optimal screening conditions, a comparative analysis of cell cultures sensitivity to Chikungunya virus, strain FN198/66 was carried out. The dynamics and level of virus accumulation at different infectious doses were estimated. It is shown that the Chikungunya virus, strain FN198/66, well propagated in transplantable cell cultures Vero V, Cl008 Vero, BHK-21/13 and TC-17. All studied cell lines can be used to screen for effective non-specific medical defenses against Chikungunya virus.

Keywords: *Chikungunya virus; cell culture; multiple infections; negative colonies*

For citation: Loginova S. Ya., Schukina V. N., Savenko S. V., Sakharov R. V., Borisevich S. V. Development of the screening conditions *in vitro* effective drugs against the causative agent of Chikungunya fever. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68: 1–2: 11–15. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-11-15>.

Введение

В связи со сложившейся неблагополучной эпидемической ситуацией в мире по лихорадке Чикунгунья, активно проводятся исследования по выявлению эффективных противовирусных средств в отношении его возбудителя [1–6].

В настоящее время сложилась общая методология изучения противовирусных препаратов, традиционно используемая многими исследователями. Она включает доклиническую и клиническую стадии изучения, каждая из которых состоит из нескольких этапов [7–12]. Первым этапом лабораторного изучения противовирусной эф-

фективности препаратов являются исследования, проводимые с использованием культур клеток. Основой данных исследований является оценка влияния изучаемого препарата на репродукцию вируса в культуре клеток, выявляемая тем или иным способом, а биологические особенности возбудителя обуславливают выбор конкретного метода проведения данных исследований. В связи с тем, что чувствительность перевиваемых клеток к различным возбудителям не одинакова, кроме того, различные типы и линии клеток неодинаково чувствительны к воздействию противовирусных препаратов, необходимо предварительно проводить выбор культуры клеток и условия скрининга оценки эффективности [11]. Метод оценки эффективности неспецифических медицинских средств защиты (НМСЗ) в опытах с использованием культур клеток имеет несомненное преимущество в плане экспрессности.

Исследования показали, что оптимальная множественность инфицирования монослоя культуры клеток при оценке противовирусной эффективности препаратов должна составлять от 0,0001 до 0,001 условных единиц на клетку (уе/кл). При такой инфицирующей дозе высокоэффективные препараты, как правило, полностью подавляют репродукцию возбудителя, при инфицирующей дозе от 0,003 до 0,03 уе/клетку — на 4,0–4,5 lg уе/мл, а при 0,3 уе/клетку — всего на 1,4 lg уе/мл [10, 13].

В соответствии с данными литературы вирус накапливается в следующих культурах клеток: почки зелёной мартышки — Vero E-6, карцинома шейки матки — HeLa, почка сирийского хомяка — ВНК-21 и комаров *A.albopictus* — С6/36НТ [14–16].

Целью работы — разработка оптимальных условий скрининга *in vitro* эффективных химиопрепаратов, индукторов интерферона и рекомбинантных человеческих интерферонов в отношении возбудителя чикунгуньи.

Материал и методы

Вирус. В работе использовали вирус Чикунгунья, штамм FN198/66, полученный из ГУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского» РАМН, который хранится в Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Культура клеток. Использована перевиваемая культура клеток почек зелёных мартышек — Vero Cl008 и Vero V; почек

хомяков — ВНК-21/13; комаров *Aedes albopictus* — С6/36 и диплоидная культура клеток лёгкого эмбриона человека, клон КЛ-17. В качестве среды поддержания использовали полусинтетическую среду (ПС-4) на растворе Хенкса, содержащую 2% сыворотки крупного рогатого скота, соответственно. Перед применением препараты растворяли в физиологическом растворе.

Оценка биологической активности вируса. Биологическую активность вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, оценивали титрованием в культуре клеток Vero, Cl008 по формированию негативных колоний возбудителем под агаровым покрытием (lg БОЕ/мл).

Исследования проведены в соответствии с рекомендациями ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [17].

Статистический анализ. Полученные результаты представляли в виде среднего $\pm$ ошибка репрезентативности ($\bar{X} \pm \delta_x$) [18].

Результаты и обсуждение

В результате проведённых исследований выявлено, что максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero V зависит от величины инфицирующей дозы (табл. 1). При множественности инфицирования 0,00003 БОЕ на клетку максимум накопления приходится на 72 ч, при 0,003 и 0,0003 БОЕ на клетку — на 48 ч после заражения клеток Vero V. При этом следует отметить, что величина накопления вируса через 48 ч при использовании множественности инфицирования 0,003 и 0,0003 БОЕ на клетку достоверно (с вероятностью 95%) выше, чем при дозе 0,00003 БОЕ на клетку.

При дозе инфицирования 0,00004 и 0,0004 БОЕ на клетку в Vero Cl008 максимальный уровень накопления вируса отмечен через 72 ч после инфицирования с последующим выходом на плато через 96 ч (табл. 2). При увеличении инфицирующей дозы вируса до 0,004 БОЕ на клетку максимальный уровень накопления вируса выявлен через 48 ч после заражения клеток с последующим выходом на плато через 72 ч. При этом следует отметить, что уровень накопления вируса на 48, 72 и 96 ч после инфицирования статистически не отличался от таковых показателей для всех изученных инфицирующих доз.

В культуре клеток ВНК-21/13 при множественности инфицирования 0,00001 БОЕ на клетку максимум накопления приходится на 48 ч и составляет 5,85 lg БОЕ/мл (табл. 3). Через 72 ч

Таблица 1. Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero V

Table 1. The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the Vero V cell culture

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00003	3,50 $\pm$ 0,09	6,72 $\pm$ 0,07	7,20 $\pm$ 0,04	7,22 $\pm$ 0,02
0,0003	4,04 $\pm$ 0,05	6,94 $\pm$ 0,06	7,01 $\pm$ 0,05	7,00 $\pm$ 0,06
0,003	5,58 $\pm$ 0,04	6,94 $\pm$ 0,06	7,04 $\pm$ 0,08	6,90 $\pm$ 0,05

Таблица 2. Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток Vero C1008

Table 2. The results of the study of the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in cell culture Vero C1008

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00004	3,50±0,09	5,48±0,07	6,00±0,04	5,83±0,02
0,0004	4,00±0,04	5,83±0,06	6,13±0,03	5,93±0,07
0,004	4,48±0,02	5,84±0,05	6,14±0,08	6,00±0,05

Таблица 3. Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток ВНК-21/13

Table 3. The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the cell culture VNK-21/13

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00001	3,40±0,02	5,85±0,01	4,69±0,08	3,55±0,03
0,0001	5,80±0,04	5,98±0,04	4,704±0,03	3,73±0,04
0,001	6,31±0,03	6,00±0,03	4,72±0,04	3,602±0,07

Таблица 4. Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток C6/36

Table 4. Results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in C6/36 cell culture

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,00004	≤1,0	2,35±0,08	5,55±0,03	5,65±0,09
0,0004	1,96±0,38	5,92±0,07	6,50±0,02	6,78±0,04
0,004	2,32±0,03	6,55±0,04	7,22±0,04	7,36±0,02

Таблица 5. Результаты изучения динамики и уровня накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток КЛ-17

Table 5. The results of studying the dynamics and level of accumulation of the Chikungunya virus, strain FN198/66, in the cell culture KL-17

Множественность инфицирования, БОЕ на клетку	Уровень накопления вируса после инфицирования, lg БОЕ/мл, $\bar{X} \pm \delta_x$			
	через 24 ч	через 48 ч	через 72 ч	через 96 ч
0,004	1,902±0,03	≤1,0	≤1,0	≤1,0
0,04	2,80±0,04	3,84±0,04	3,95±0,07	5,75±0,02
0,4	3,21±0,03	4,92±0,03	5,60±0,05	5,77±0,04

после инфицирования выявлено статистически достоверное (с вероятностью 95%) снижение накопления возбудителя. При инфицирующей дозе 0,0001 и 0,001 БОЕ на клетку не выявили статистически значимого (с вероятностью 95%) отличия динамики и уровня накопления вируса по сравнению с дозой вируса 0,00001 БОЕ на клетку, при этом максимум накопления отмечен через 24 ч после инфицирования клеток. Уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, в культуре клеток ВНК-21/13 при множественности инфицирования 0,001 БОЕ на клетку статистически выше (с вероятностью 95%), чем при двух других инфицирующих дозах.

В культуре клеток C6/36 при низкой инфицирующей дозе (0,00004 БОЕ на клетку) максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, отмечен через 96 ч (табл. 4).

При увеличении множественности инфицирования в 10 и 100 раз накопление вируса в культуре клеток C6/36 через 72 ч после инфицирования достоверно (с вероятностью 95%) не отличалось от такового при применении дозы 0,00004 БОЕ на клетку. Следует отметить, что максимум накопления вируса отметили также через 96 ч. Выявлена зависимость уровня накопления вируса от дозы инфицирования (достоверность повышения накопления с вероятностью 95%).

При инфицировании диплоидных клеток лёгкого эмбриона человека КЛ-17 в дозе 0,004 БОЕ на клетку на протяжении всего срока наблюдения вирус не выявлен. При дозе 0,04 БОЕ на клетку максимум накопления вируса приходится на 96 ч и составляет 5,75 lg БОЕ/мл (табл. 5). С увеличением инфицирующей дозы вируса до 0,4 lg БОЕ на клетку отмечен более высокий уро-

вень накопления вируса (с вероятностью 95%). Максимальный уровень накопления вируса отмечен через 72 ч после инфицирования с последующим выходом на плато через 96 ч.

Таким образом, в перевиваемых клетках почек зелёных мартышек (Vero V и Vero Cl008) в изученном диапазоне инфицирующих доз максимальный уровень накопления вируса Чикунгунья, штамм FN198/66, отмечен через 72 ч после заражения и пик накопления не зависел от множественности инфицирования. Эти линии клеток могут быть использованы для проведения скрининга эффективных НМСЗ в отношении вируса Чикунгунья. Условия проведения скрининга: доза инфицирования 0,00003–0,00004 БОЕ на клетку при инкубировании в течение 72 ч при 37°C.

Перевиваемая культура клеток почек хомяка (ВНК-21/13) также может быть использована для

скрининга НМСЗ в отношении вируса Чикунгунья с инфицирующей дозой 0,00001 БОЕ на клетку при инкубировании в течение 48 ч при 37°C.

Диплоидные клетки лёгкого эмбриона человека могут быть использованы для изучения противовирусной эффективности в отношении вируса Чикунгунья видоспецифических препаратов (например, человеческих интерферонов) при инфицирующей дозе 0,4 БОЕ на клетку, инкубировании в течение 72 ч при 37°C.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Yactayo S., Staples J. E., Millot V. et al. Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *J Infect Dis.* 2016; 214 (Suppl 5): 441–445. doi: 10.1093/infdis/jiw390. PMID: PMC5137246.
2. Salata C., Calistri A., Parolin C. et al. Antiviral activity of cationic amphiphilic drugs. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017; 15 (5): 483–492. doi: 10.1080/14787210.2017.1305888. Epub 2017 Mar 20.
3. Wang Y.M., Lu J.W., Lin C.C. et al. Antiviral activities of niclosamide and nitazoxanide against chikungunya virus entry and transmission. *Antiviral Res.* 2016; 135: 81–90. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.10.003. Epub 2016 Oct 11.
4. Abdelnabi R., Neyts J., Delang L. et al. Towards antivirals against chikungunya virus. *Antivir Res.* 2015; 121: 59–68. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.017. Epub 2015 Jun 25.
5. Lani R., Hassandarvish P., Shu M.-H. et al. Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antivir Res.* 2016; 133: 50–61. doi: 10.1016/j.antiviral.2016.07.009. Epub 2016 Jul 25.
6. Crance J.M., Scaramozzino N., Jouan A., Garin D. et al. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses. *Antiviral Res.* 2003; 58 (1): 73–79. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00185-7.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2005. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. Moscow: FGBU «NTSESMP» Minzdravotsrazvitiya Rossii, 2005. (in Russian)]
8. Лагушкин Н.А., Митин Н.И., Старовойтова В.А. и др. Методические подходы к поиску антивирусных препаратов, их испытание и оценка. Вирусные ингибиторы и механизм их действия. Рига: 1977; 138–149. [Lagushkin N.A., Mitin N.I., Starovojtova V.A. i dr. Metodicheskie podkhody k poisku antivirusnykh preparatov, ikh ispytanie i otsenka. Virusnye ingibitory i mekhanizm ikh dejstviya. Riga: 1977; 138–149. (in Russian)]
9. Ильенко В.И. Методы отбора соединений, обладающих противовирусной активностью в отношении возбудителя гриппа. Сборник. Методические вопросы научной разработки противовирусных средств. Минск: 1977; 15–29. [Il'enko V.I. Metody otbora soedinenij, obladajushchikh protivovirusnoj aktivnost'ju v otnoshenii возбуdivatelya grippa. Sbornik. Metodicheskie voprosy nauchnoj razrabotki protivovirusnykh sredstv. Minsk: 1977; 15–29. (in Russian)]

10. Чижов Н.П., Ершов Ф.И., Индулен М.К. Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. Рига, 1988. [Chizhov N.P., Ershov F.I., Indulen M.K. Osnovy eksperimental'noj khimioterapii virusnykh infektsij. Riga, 1988. (in Russian)]
11. Вотьяков В.И., Галегов Г.А., Бореко Е.И. и др. Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений. Методические рекомендации. Минск: 1986. [Votjakov V.I., Galegov G.A., Boreko E.I. i dr. Pervichnoe izuchenie antivirusnykh svoystv sinteticheskikh i prirodnykh soedinenij. Metodicheskie rekomendatsii. Minsk: 1986. (in Russian)]
12. Дьяков С.И., Чижов Н.П., Сидоренко С.В. Современные антибиотики и противовирусные препараты в экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций. Минск: 1988. [D'yakov S.I., Chizhov N.P., Sidorenko S.V. Sovremennye antibiotiki i protivovirusnye preparaty v eksperimental'noj khimioterapii bakterial'nykh i virusnykh infektsij. Minsk: 1988. (in Russian)]
13. Вотьяков В.И., Андреева О.И., Мишаева Н.П. Оценка специфического действия антивирусных веществ при экспериментальных вирусных энцефалитах. Минск: 1986. [Votjakov V.I., Andreeva O.I., Mishaeva N.P. Otsenka spetsificheskogo dejstviya antivirusnykh veshchestv pri eksperimental'nykh virusnykh entsefalitakh. Minsk: 1986. (in Russian)]
14. Gigante A., Gómez-SanJuan A., Delang L. et al. Antiviral activity of [1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-7(6H)-ones against chikungunya virus targeting the viral capping nsP1. *Antiviral Res.* 2017; 144: 216–222. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.06.003. Epub 2017 Jun 12.
15. Mounce B. C., Cesaro T., Carrau L. et al. Curcumin inhibits Zika and chikungunya virus infection by inhibiting cell binding. *Antiviral Res.* 2017; 142: 148–157. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.03.014. Epub 2017 Mar 24.
16. Gómez-Calderón C., Mesa-Castro C., Robledo S. et al. Antiviral effect of compounds derived from the seeds of *Mammea americana* and *Tabernaemontana cymosa* on Dengue and Chikungunya virus infections. *BMC Complement Altern Med.* 2017; 17 (1): 57. doi: 10.1186/s12906-017-1562-1.
17. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2012. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. M.: FGBU «NTSESMP» Minzdravotsrazvitiya Rossii, 2012. (in Russian)]
18. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз, 1962; 180. [Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Medgiz, 1962; 180. (in Russian)]

Информация об авторах

Логинова Светлана Яковлевна — д. б. н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

Шукина Вероника Николаевна — к. б. н., научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Мос-

About the authors

Svetlana Ya. Loginova — D. Sc. in Biology, Leading researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6732-8404. eLibrary Spin: 8764-7946

Veronika N. Schukina — Ph. D. in Biology, Researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of De-

ковская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

Савенко Сергей Вадимович — старший научный сотрудник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

Сахаров Роман Владимирович — старший научный сотрудник, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-6155-1365

Суровяткина Ирина Владимировна — к. б. н., научный сотрудник, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0001-7096-3580

Борисевич Сергей Владимирович — д. б. н., профессор, академик РАН РФ, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, Московская область, Сергиев Посад, Россия. ORCID: 0000-0002-6742-3919. eLibrary Spin: 5753-3400

fence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5461-3641. eLibrary Spin: 1504-4433

Sergey V. Savenko — Senior researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-5175-916X. eLibrary Spin: 6353-7075

Roman V. Sakharov — Senior researcher at the 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0001-6155-1365

Surovyatkina Irina Vladimirovna — Ph. D. in Biology, Researcher, FSBI «48 Central Research Institute» of the Ministry of Defense of Russia», Moscow region, Sergiev Posad, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7096-3580

Sergey V. Borisevich — D. Sc. in Biology, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Institute, 48th Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Sergiev Posad, Russia. ORCID: 0000-0002-6742-3919. eLibrary Spin: 5753-3400

Чувствительность к антибактериальным препаратам биоплёнок, образованных штаммами холерных вибрионов различных серогрупп

*Н. А. СЕЛЯНСКАЯ, С. В. ТИТОВА, Е. А. МЕНЬШИКОВА,
В. Д. КРУГЛИКОВ, М. И. ЕЖОВА

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Sensitivity to Antibacterial Drugs of Biofilms Formed by Strains of Cholera Vibrions of Various Serogroups

*NADEZHDA A. SELYANSKAYA, SVETLANA V. TITOVA, ELENA A. MENSNIKOVA,
VLADIMIR D. KRUGLIKOV, MARIYA I. YEZHOVA

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Резюме

Способность *Vibrio cholerae* образовывать биоплёнки может вызвать неэффективность лечения и профилактики холеры. Цель исследования — определение антибиотикочувствительности *V.cholerae* в составе биоплёнок. Материал и методы. Определяли чувствительность к 11 антибактериальным препаратам биоплёнок 10 штаммов *V.cholerae* различных серогрупп, выделенных от человека и из воды, полученных в течение 48 ч при 37°C на пластинках во флаконах с водопроводной автоклавированной водой, заражённых взвесью 10^4 микробных клеток *V.cholerae*. Для чего пластинки трёхкратно промывали в физиологическом растворе и переносили в пенициллиновые флаконы с двукратными разведениями антибактериальных препаратов в жидкой питательной среде (бульон Мартена, pH 7,7). Через 24 ч выращивания в термостате (37°C) делали отпечатки биоплёнок и высев 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (pH 7,7). Результат учитывали через 24 ч, определяя минимальные подавляющие концентрации препаратов по наличию или отсутствию роста *V.cholerae*. Результаты. Изученные штаммы в составе биоплёночных сообществ, в отличие от планктонной формы, высокорезистентны ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование, за исключением ципрофлоксацина и цефтазидима. Для повышения эффективности лечения холеры и других инфекций, возбудителями которых являются холерные вибрионы, необходимо определение антибиотикочувствительности биоплёнок *V.cholerae*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*; биоплёнки; антибиотикочувствительность

Для цитирования: Селянская Н. А., Титова С. В., Меньшикова Е. А., Кругликов В. Д., Ежова М. И. Чувствительность к антибактериальным препаратам биоплёнок, образованных штаммами холерных вибрионов различных серогрупп. Антибиотики и химиотер. 2023; 68: 1–2: 16–21. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-16-21>.

Abstract

The ability of *Vibrio cholerae* to form biofilms may cause ineffectiveness of cholera treatment and prevention. The aim of the study was to determine the antibiotic sensitivity of *V.cholerae* in biofilms. Material and methods. Sensitivity to 11 antibacterial agents was determined for biofilms of 10 strains of *V.cholerae* of different serogroups isolated from humans and from water obtained for 48 hours at 37°C on plastic plates in vials with autoclaved tap water infected with a suspension of 10^4 *V.cholerae* microbial cells. For this purpose the plates were washed three times in physiological solution and transferred into penicillin vials with double dilutions of antibacterial agents in liquid nutrient medium (Martin's broth, pH 7.7). After 24 hours of cultivation in the thermostat (37°C), the biofilms were imprinted and 0.1 ml of plankton culture was seeded onto plates with Marten's agar (pH 7.7). After 24 hours in the thermostat (37°C), the biofilms were imprinted and 0.1 ml of plankton culture was sown on plates with Marten's agar (pH 7.7). The result was counted after 24 h, determining the minimum suppressive concentrations of preparations by the presence or absence of *V.cholerae* growth. Results. The strains studied in biofilm communities, in contrast to the planktonic form, were highly resistant to all antibacterial drugs taken in the study, except for ciprofloxacin and ceftazidime. To improve the effectiveness of treatment of cholera and other infections whose causative agents are cholera vibrio, it is necessary to determine the antibiotic sensitivity of *V.cholerae* biofilms.

Keywords: *Vibrio cholerae*; biofilms; antibiotic sensitivity

For citation: Selyanskaya N. A., Titova S. V., Menshnikova E. A., Kruglikov V. D., Yezhova M. I. Sensitivity to antibacterial drugs of biofilms formed by strains of vibrio cholerae of various serogroups. Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy. 2023; 68: 1–2: 16–21. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-16-21>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. М. Горького, 117/40, Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия, 344002.
E-mail: selyanskaya_na@antiplague.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 117/40 M. Gorky st., Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, 344002 Russia. E-mail: selyanskaya_na@antiplague.ru

Введение

В последние годы внимание учёных привлечено к изучению микробных биоплёнок — высокоорганизованных сообществ, образованных микроорганизмами, клетки которых имеют специализацию, контактируют между собой, вырабатывают межклеточное вещество и отграничены от окружающей среды дополнительными оболочками. Было доказано, что биоплёнкообразование, наряду с другими неспецифическими механизмами, может участвовать в формировании антибиотикорезистентности бактерий. Система обмена информацией, экзополисахаридный матрикс и ряд физиологических особенностей, характерных для биоплёнок, делают микроорганизмы, включённые в их структуру, в 1000 раз менее чувствительными к антибактериальным препаратам, чем планктонные клетки [1].

В настоящее время активно изучается чувствительность биоплёнок различных микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Так, установлено, что биоплёнки ряда микробов слабо чувствительны к аминогликозидам [2] и бета-лактамам [3]. А некоторые антибактериальные препараты характеризуются хорошей пенетрацией в биоплёнки и высокой клинической эффективностью [4].

Способность холерных вибрионов образовывать биоплёнки в окружающей среде [5] и в организме человека [6, 7] способствует персистенции этих возбудителей. Поэтому важным залогом эффективности этиотропной терапии холеры является тестирование антибиотиков в отношении биоплёнок данного возбудителя.

В связи с этим, целью настоящего исследования стало определение чувствительности к антибактериальным препаратам холерных вибрионов в составе биоплёнок.

Материал и методы

В работе использованы штаммы *Vibrio cholerae*, имеющие различный набор детерминант патогенности: El Tor (6 штаммов), выделенные от больных (P-5879, 19667, 18826) и из воды (19613, 19241, 18904), клинические изоляты (ctx+) O139 серогруппы (16077, 16063) и *V.cholerae* non O1/ non O139 (16150 (ctx+), 19190 (ctx-)), полученные из Музея живых культур ФКВЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Для определения действия антибактериальных препаратов на образовавшиеся сообщества, биоплёнки холерных вибрионов получали на пластиковых пластинках во флаконах с водопроводной автоклавированной водой (100 мл), заражённых взвесью 10^4 микробных клеток холерных вибрионов каждого штамма, способом, описанным ранее [8], в течение 48 ч при 37°C. На 3-и сутки культивирования пластинки с образовавшимися биоплёнками после трёхкратного промывания в физиологическом растворе переносили в пенициллиновые флаконы, содержащие двукратные разведения антибактериальных препаратов в жидкой питательной среде (бульон Мартена, pH 7,7). В контрольный флакон с биоплёнкой антибактериальный препарат не добавляли. Через 24 ч выращивания в термостате (37°C) делали отпечатки биоплёнок и высев 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (pH 7,7). Результат учитывали через 24 ч, определяя минимальные подавляющие концентрации (МПК) препаратов по наличию или отсутствию роста холерных вибрионов. Отнесение культур к чувствительным/устойчивым проводили в соответствии с Критериями интерпретации результатов определения чувствительности *V.cholerae* [9].

В работе использованы препараты группы тетрациклинов (тетрациклин, доксициклин), хлорамфеникоол (левомицетин), рифампицин, аминогликозидов (стрептомицин, гентамицин), бета-лактамов (ампициллин, цефтазидим) —

Таблица 1. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов холерных вибрионов Эль Тор

Table 1. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* El Tor clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> El Tor					
			P-5879		18826		19667	
	S*	R*	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
средние значения МПК, мг/л								
Доксициклин	≤2,0	>4,0	0,3±0,1	21,3±5,3	1,3±0,3	10,7±2,7	1,3±0,3	21,3±5,3
Тетрациклин	≤4,0	>8,0	0,3±0,1	1,3±0,3	3,3±0,7	26,7±5,3	3,3±0,7	42,7±10,7
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	0,8±0,2	42,7±10,7	21,3±5,3	85,3±21,3	170,2±42,7	426,6±85,3
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	3,3±0,7	53,3±10,7	192±80,6	426,7±85,3	85,3±21,3	682,7±170,7
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0003	0,001±0,0003	1,7±0,3	1,7±0,3	0,13±0,3	0,3±0,6
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	5,3±1,3	53,3±10,7	683±170	853,3±170	42,6±10,7	85,3±21,3
Гентамицин	≤4,0	>8,0	2,7±0,6	6,7±1,3	5,3±1,3	10,6±2,7	2,7±0,7	5,3±1,3
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	2,7±0,7	53,3±10,7	85,3±21,3	106,7±21,3	213,3±42,7	426,6±65,3
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	0,23±0,1	0,7±0,1	0,66±0,1	1,66±0,3	Нд	Нд
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	1,3±0,3	21,3±5,3	0,83±0,7	42,7±10,7	1,3±0,3	64,0
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	1,3±0,3	21,3±5,3	213,3±42,7	426±85,3	341,3±85,3	426,6±85,3

Примечание. Здесь и табл. 1–4: «Нд» — нет данных; * — S — чувствительный; R — устойчивый; ** — пограничные значения МПК (МУК 4.2.2495-09). Жирным шрифтом выделены достоверные отличия между МПК планктонной и биоплёночной культур.

Note. Here and Tables 1–4: Нд — no data; * — S — sensitive; R — resistant; ** — boundary values of MPC (MUK 4.2.2495-09). Bold font highlights significant differences between the MPC of planktonic and biofilm cultures.

отечественного производства; налидиксовая кислота (невиграмон, Chinoip, Венгрия), цiproфлоксацин (квинтор, Торрент Фарм.ЛТД, Индия), триметоприм/сульфаметоксазол (бикотрим, Adgio, Индия), рекомендуемые для этиотропной терапии холеры [10].

Эксперименты повторяли три раза. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистических пакетов «Microsoft Office 2007» и «Statistica 6.0» для Windows XP. Достоверность полученных данных оценивали при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Планктонная культура штамма *V.cholerae* El Tor P-5879 в соответствии с МУК 4.2.2495-09 обладала чувствительностью ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование (табл. 1).

При сравнении антибиотикочувствительности планктонной и биоплёночной культур указанного штамма установлено, что средние значения МПК антибактериальных препаратов в отношении его биоплёнок увеличились в 2–50 раз. При этом было подтверждено статистически значимое ($p < 0,05$) повышение резистентности холерных вибрионов Эль Тор P-5879 в составе биоплёнки к хлорамфениколу, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу (см. табл. 1).

Планктонные культуры штаммов *V.cholerae* El Tor 18826 и 19667 проявляли устойчивость к хлорамфениколу, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу, налидиксовой кислоте, при сохранении чувствительности к тетрациклинам, гентамицину, цефтазидиму, цiproфлоксацину, рифампицину (см. табл. 1).

Установлено повышение значений МПК в отношении биоплёночных культур этих штаммов к тетрациклинам, гентамицину, налидиксовой кислоте, рифампицину в 4–7 и более раз по сравнению с планктонными культурами. *V.cholerae* El Tor 18826 и 19667 в составе биоплёнок достоверно

стали устойчивы к тетрациклинам и рифампицину (см. табл. 1).

Холерные вибрионы Эль Тор, выделенные из воды, в планктонной форме были чувствительны к тетрациклинам, хлорамфениколу, гентамицину, рифампицину, цефтазидиму и устойчивы к стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу, фуразолидону. Штаммы *V.cholerae* El Tor 19613 и 19241 проявляли резистентность к налидиксовой кислоте (табл. 2).

Средние значения МПК антибактериальных препаратов для биоплёнок, образованных этими штаммами, увеличились в 1,3–35 раз в сравнении с планктонными культурами (см. табл. 2). При этом в составе биоплёнок штаммы приобрели устойчивость к тетрациклинам, гентамицину, рифампицину, а *V.cholerae* El Tor 18904 — и к налидиксовой кислоте.

Планктонные культуры холерных вибрионов O139 серогруппы *V.cholerae* O139 16063 и 16077 оказались устойчивы к стрептомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 3).

Биоплёнки этих штаммов проявляли большую устойчивость к антибактериальным препаратам в сравнении с планктонными формами с повышением значений МПК в 1,5–48 раз. В соответствии с МУК 4.2.2495-09 биоплёночные культуры приобрели устойчивость к тетрациклинам, хлорамфениколу, налидиксовой кислоте, гентамицину, ампициллину, рифампицину (см. табл. 3).

Планктонная форма штамма *V.cholerae* non O1/non O139 16150 проявляла чувствительность ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование, а штамм *V.cholerae* non O1/non O139 19190 был устойчив к стрептомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 4).

Биоплёночные культуры этих штаммов имели МПК антибактериальных препаратов в 2–20 раз

Таблица 2. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур холерных вибрионов Эль Тор, выделенных из воды

Table 2. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* El Tor isolated from water

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> El Tor					
			19613 (вода, ctx±)		19241 (вода, ctx±)		18904 (вода, ctx-)	
	S*	R*	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
средние значения МПК, мг/л								
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	1,2±0,7	10,7±4,6	0,8±1,0	21,3±9,2	1,5±2,2	26,7±32,3
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	5,5±4,3	29,3±30,3	5,7±8,9	53,3±18,5	3,2±4,2	8,3±7,5
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	12,0±17,32	192,0±110,9	12,0±17,3	53,3±18,5	4,7±3,0	64,0
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	352,0±277,1	362,7±258,7	426,7±147,8	512,0	2,3±1,5	34,7±28,1
Цiproфлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,53±0,45	0,83±0,29	0,37±0,23	0,67±0,29	0,004±0,002	0,04±0,01
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	66,7±60,0	128,0	53,3±18,5	106,7±36,9	5,3±2,3	42,7±18,5
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	4,3±3,5	42,7±8,48	1,3±0,6	21,3±9,2	2,3±1,5	24,0±13,9
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	25,3±33,5	181,3±129,3	5,3±2,3	106,7±36,9	24,0±13,9	74,7±48,9
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	3,0±4,3	4,0±3,5	1,3±0,6	2,0±1,7	0,7±0,3	1,7±0,6
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	3,3±4,0	42,7±18,5	1,3±0,6	26,7±9,2	1,3±0,6	24,0±13,9
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	26,7±32,3	128,0	213,3±73,9	256,0	4,3±3,5	18,7±12,2

Таблица 3. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов *V.cholerae* O139

Table 3. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* O139 clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> O139			
			16063		16077	
			планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
	S*	R*	средние значения МПК, мг/л			
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	8,0±7,9	26,7±9,2	1,75±2,0	3,33±4,0
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	1,3±0,6	13,3±4,6	1,33±0,6	12,0±6,9
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	8,0±6,9	384,0±221,7	2,7±1,2	53,3±18,5
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	11,3±17,9	139,0±158,4	1,3±0,6	22,7±16,2
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0005	0,16±0,3	0,004±0,005	0,33±0,3
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	13,3±4,6	106,7±129,3	26,7±9,2	170,7±73,9
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	6,7±2,3	13,3±4,6	4,5±4,9	24,0±11,3
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	10,7±4,6	85,3±36,9	5,3±2,3	48,0±27,7
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	Нд	Нд	1,3±0,6	8,0±6,9
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	5,3±2,3	21,3±9,2	2,3±1,5	21,7±17,9
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	Нд	Нд	106,7±36,9	192,0±110,9

Таблица 4. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов *V.cholerae* non O1/non O139

Table 4. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* non O1/non O139 clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> non O1/non O139			
			16150		19190	
			планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
	S*	R*	средние значения МПК, мг/л			
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	2,0±1,7	17,3±14,0	1,3±0,6	3,3±4,0
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	4,0±3,5	21,3±9,2	6,7±8,0	8,7±7,0
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	3,3±1,1	32,0±27,7	3,7±3,8	24,0±13,9
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	1,3±0,6	26,7±9,3	9,3±6,1	17,3±14,0
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0006	0,003±0,002	0,001±0,0006	0,002±0,0006
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	2,7±1,1	42,7±18,5	42,7±18,8	85,3±37,0
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	1,33±0,6	3,7±3,8	3,3±4,0	18,7±12,2
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	3,3±1,1	170,7±74,0	12,0±6,9	138,7±112,4
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	0,8±0,3	3,7±3,8	0,7±0,3	1,7±0,6
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	0,8±0,3	1,3±0,6	7,0±7,9	21,3±9,2
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	0,8±0,3	10,7±4,6	33,3±30,0	74,7±48,9

большие, чем у планктонных форм. Биоплёнки штамма *V.cholerae* non O1/non O139 16150 стали достоверно устойчивы к тетрациклину, налидиксовой кислоте, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу (см. табл. 4).

Таким образом, изученные штаммы *V.cholerae* El Tor, O139, non O1/non O139 в составе биоплёночных сообществ имели более высокие значения МПК антибактериальных препаратов в сравнении с планктонными формами, что согласуется с данными литературы о большей устойчивости биоплёнок микроорганизмов к действию антибиотиков [11]. При этом, по мнению некоторых исследователей, исход взаимодействия биоплёнки и антибиотика зависит не только от типа антибиотика и видовой принадлежности биоплёнокообразующих бактерий, но и от их штаммовых особенностей, а также от возраста биоплёнки, т. е. от параметров, которые могут определять химический состав и архитектуру матрикса [12].

Интересен факт нарастания устойчивости у изученных штаммов к хлорамфениколу, стреп-

томицину, триметоприму/сульфаметоксазолу и налидиксовой кислоте в биоплёночной форме при наличии резистентности к данным антибактериальным препаратам у планктонной формы. Это обстоятельство, на наш взгляд, подтверждает наличие в биоплёнках наряду с классическими типами устойчивости, характерными для планктонных форм бактерий, специфических вариантов резистентности, возникающих в биоплёнках, которые включают в себя инактивацию антибиотиков внеклеточными полимерами или ферментами, замедление метаболизма с последующим уменьшением количества мишеней для действия антибиотиков, экспрессию возможных генов резистентности, возникновение в биоплёнке микроорганизмов-персистентов. Биоплёнки имеют гетерогенный экзополисахаридный матрикс, который, образуя трёхмерную фильтрующую систему, угнетает доставку антибактериальных препаратов к бактериальным клеткам [13]. Резистентный фенотип клеток и сниженный метаболизм микро-

организмов в биоплёнке, который достигается за счёт их многослойной топографии, приводит к снижению антибиотикочувствительности [14]. По данным литературы, строение биоплёнок также способствует процессам обмена генетической информацией, в том числе резистентности к антимикробным химиопрепаратам [15]. По мнению некоторых исследователей, в отличие от планктонных клеток биоплёнка имеет другой фенотип, заключающийся в изменении параметров роста и экспрессии специфических генов [16]. Исследования показали, что в биоплёнках может возникнуть резистентность к ампициллину, тетрациклину, пенициллину, эритромицину и хлорамфениколу в результате взаимодействия между генами на плазмидах, последовательной индукции систем выброса на бактериальной хромосоме [17]. У *V.cholerae* описана возможность ослабления проницаемости для антибиотиков бактериальных оболочек [18]. Авторами был получен биоплёнкообразующий мутант с изменённой структурой порина OmpU, ведущей к гиперэкспрессии мембранной помпы MexCD-OprJ, который проявлял выраженную резистентность к цефалоспориновым антибиотикам.

Значения МПК ципрофлоксацина и цефтазидима в отношении биоплёночных культур холерных вибрионов либо не изменились, либо повысились незначительно в сравнении с планктонными культурами. При этом биоплёнки

всех штаммов сохраняли чувствительность к этим препаратам. По данным литературы, фторхинолоны оказывают ингибирующее действие на биоплёнки бактерий путём преодоления барьера липидных мембран и активного проникновения в микробные клетки-мишени [19].

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют, что антибиотикочувствительность штаммов *V.cholerae* El Tor, O139, non O1/non O139 в планктонной форме и в составе биоплёночных сообществ различается. Биоплёнки имели более высокую резистентность ко всем антибиотикам, взятым в исследование. Наибольшую активность в отношении биоплёночных культур холерных вибрионов продемонстрировали ципрофлоксацин и цефтазидим. Эти препараты занимают важное место в арсенале средств этиотропной терапии холеры [20, 21].

В настоящее время очевидно, что повышение эффективности лечения холеры и других инфекций, возбудителями которых являются холерные вибрионы, невозможно без тестирования антибиотиков на их эффективность в отношении биоплёнок. Результатом таких исследований должна стать разработка новых схем лечения, которые учитывают свойства антибиотиков и особенности строения биоплёнок возбудителя в зависимости от локализации патологического процесса.

Литература/References

1. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. Журнал микробиологии. 2011; 3: 99–109. [Romanova Jyu.M., Gintsburg A.L. Bakterial'nye bioplenki kak estestvennaya forma sushchestvovaniya bakterij v okruzhajushchej srede i organizme khozaina. Zhurnal Mikrobiologii. 2011; 3: 99–109. (in Russian)]
2. Sadovskaya I., Vinogradov E., Li J. et al. High-level antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: the ndvB gene is involved in the production of highly glycerol-phosphorylated β -(1-3)-glucans, which bind aminoglycosides. Glycobiology. 2010; 20: 895–904. doi: 10.1093/glycob/cwq047. Epub 2010 Mar 26.
3. Farber B.E., Kaplan M.H., Clogston A.G. *Staphylococcus epidermidis* extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptides antibiotics. J Infect Dis. 1990; 161: 37–40. doi: 10.1093/infdis/161.1.37.
4. Mathur T., Singhal S., Khan S et al. Adverse effect of staphylococci slime on *in vitro* activity of glycopeptides. Jpn J Infect Dis. 2005; 58: 353–357.
5. Татаренко О.А., Алексеева Л.П., Телесманич Н.Р. и др. Влияние некоторых факторов на формирование биоплёнки токсигенными и атотоксигенными холерными вибрионами эль-тор. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 5: 36–40. [Tatarenko O.A., Alekseeva L.P., Telesmanich N.R. i dr. Vliyanie nekotorykh faktorov na formirovanie bioplenki toksigennymi i atoksigennymi kholernymi vibriionami el'-tor. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2012; 5: 36–40. (in Russian)]
6. Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Евтеева Н.И., Руднева Е.И. Межвидовое взаимодействие бактерий и образование смешанной (полимикробной) биоплёнки. Журнал микробиологии. 2012; 1: 93–101. [Mayanskij A.N., Chebotar' I.V., Evtseva N.I., Rudneva E.I. Mezvidovoe vzaimodejstvie bakterij i obrazovanie smeshanno (polimikrobnnoj) bioplenki. Zhurnal Mikrobiologii. 2012; 1: 93–101. (in Russian)]
7. Hay A.J., Zhu J. Host intestinal signal-promoted biofilm dispersal induces *Vibrio cholerae* colonization. Infect Immun. 2015; 83 (1): 317–323. doi: 10.1128/IAI.02617-14. Epub 2014 Nov 3.
8. Титова С.В., Кушнарева Е.В. Оценка способности холерных вибрионов к образованию биоплёнок *in vitro* с помощью нового методического подхода. Фундаментальные исследования. 2014; 10: 375–379. [Titova S.V., Kushnareva E.V. Otsenka sposobnosti kholernykh vibriionov k obrazovaniju bioplenok *in vitro* s pomoshch'yu novogo metodicheskogo podkhoda. Fundamental'nye Issledovaniya. 2014; 10: 375–379. (in Russian)]
9. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. Методические указания МУ 4.2.2495-09. М.: 2009. [Opredelenie chuvstvitel'nosti vozbuditelej opasnykh bakterial'nykh infektsij (chuma, sibirskaya yazva, kholera, tulyaremiya, brutsellez, sap, melioidoz) k antibakterial'nyim preparatam. Metodicheskie Ukazaniya MU 4.2.2495-09. Moscow: 2009. (in Russian)]
10. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.1086-02. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2002; 85. [Sanitarno-epidemiologicheskie pravila SP 3.1.1086-02. Profilaktika kholery. Obshchie trebovaniya k epidemiologicheskomu nadzoru za kholeroj. Moscow: Federal'nyj Tsentr Gossanepidnadzora Minzdrava Rossii. 2002; 85. (in Russian)]
11. Фролова Я.Н., Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю. Чувствительность к антибиотикам биоплёночных культур токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*. Клиническая лабораторная диагностика. 2014; 59 (6): 51–53. [Frolova Ya.N., Kharseeva G.G., Mironov A.Jyu. Chuvstvitel'nost' k antibiotikam bioplenochnykh kul'tur toksigennykh shtamov *Corynebacterium diphtheriae*. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2014; 59 (6): 51–53. (in Russian)]
12. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. и др. Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012; 14 (1): 51–58. [Chebotar' I.V., Mayanskij A.N., Konchakova E.D. i dr. Antibiotikorezistentnost' bioplenochnykh bakterij. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2012; 14 (1): 51–58. (in Russian)]

13. Туркутукоев В.Б., Ибрагимова Т.Д., Фомин Д.В. Молекулярные особенности морфологии биоплёнок, формируемых штаммами неферментирующих грамотрицательных бактерий. Тихоокеанский медицинский журнал. 2013; 4: 44–47. [Turkutjukov V.B., Ibragimova T.D., Fomin D.V. Molekulyarnye osobennosti morfologii bioplenok, formiruemykh shtammami nefermentiruyushchikh gramnegativnykh bakterij. Tikhookeanskij Meditsinskij Zhurnal. 2013; 4: 44–47. (in Russian)]
14. Винник Ю.С., Серова Е.В., Андреев Р.И. и др. Особенности формирования микробных биоплёнок на различных субстратах. Возможность изучения биоплёнок на желчных конкрементах. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5: 1–8. [Vinnik Jy.S., Serova E.V., Andreev R.I. i dr. Osobennosti formirovaniya mikrobnykh bioplenok na razlichnykh substratakh. Vozmozhnost' izucheniya bioplenok na zhelchnykh konkrementakh. Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya. 2013; 5: 1–8. (in Russian)]
15. Harriott M.M., Noverr M.C. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* form polymicrobial biofilms: effects on antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53 (9): 3914–3922. doi: 10.1128/AAC.00657-09. Epub 2009 Jun 29.
16. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Романова Н.И., Цирульников О.М. Госпитальная микрофлора и биоплёнки. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2012; 14 (3): 83–91. [Gabrieľyan N.I., Gorskaya E.M., Romanova N.I., Tsirul'nikova O.M. Gospital'naya mikroflora i bioplenki. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov. 2012; 14 (3): 83–91. (in Russian)]
17. May T., Ito A., Okabe S. Induction of multidrug resistance mechanism in *Escherichia biofilm* by interplay between tetracycline and ampicillin resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53 (11): 4628–39.
18. Pagel M., Simonet V., Li J. et al. Phenotypic characterization of pore mutants of the *Vibrio cholerae* porin OmpU. *J Bacteriol.* 2007; 189 (23): 8593–600.
19. Голуб А.В. Бактериальные биоплёнки — новая цель терапии? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012; 14 (1): 23–29. [Golub A.V. Bakterial'nye bioplenki — novaya tsel' terapii? Klinicheskaya Mikrobiologiya I Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2012; 14 (1): 23–29. (in Russian)]
20. Luo Y., Ye J., Jin D. et al. Molecular analysis of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* isolated from hospitalized patients in China. *BMC Microbiol.* 2013; 13: 52. doi: 10.1186/1471-2180-13-52.
21. George N., Fredrick E., Mohapatra A. et al. Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* sepsis in a patient with nephrotic syndrome. *Indian J Nephrol.* 2013; 23 (5): 378–380. doi: 10.4103/0971-4065.116329.

Информация об авторах

Селянская Надежда Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-0008 4705

Титова Светлана Викторовна — к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Меньшикова Елена Аркадьевна — к. б. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

Кругликов Владимир Дмитриевич — д. м. н., главный научный сотрудник, начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

Ежова Мария Ивановна — младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

About the authors

Selyanskaya Nadezhda Alexandrovna — Ph. D. in Medicine, Senior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-0008 4705

Svetlana V. Titova — Ph. D. in Medicine, Leading researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Elena A. Menshikova — Ph. D. in Biology, Senior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia

Vladimir D. Kruglikov — D. Sc. in Medicine, Chief researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia

Mariya I. Yezhova — Junior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia

Оценка противомикробной активности пиримидинового соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он в отношении *Klebsiella pneumoniae*

А.Б.С. ХМИДЕТ¹, *А. Л. ЯСЕНЯВСКАЯ¹, А. А. ЦИБИЗОВА¹, И. Н. ТЮРЕНКОВ²,
А. А. ОЗЕРОВ², М. А. САМОТРУЕВА¹

¹ Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

² Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Evaluation of the Antimicrobial Activity of a Pyrimidine Compound 3-(2-Benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one in Relation to *Klebsiella pneumoniae*

AISHA B. S. HMIDET¹, *ANNA. L. YASENYAVSKAYA¹, ALEXANDRA. A. TSIBIZOVA¹,
IVAN N. TYURENKOV², ALEXANDER A. OZEROV², MARINA. A. SAMOTRUEVA¹

¹ Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

² Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Резюме

Исследование посвящено оценке противомикробной активности в отношении *Klebsiella pneumoniae* пиримидинового соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он в условиях *in vivo* на модели генерализованной инфекции. Эксперимент проводили на мышах линии СВА в количестве 40 особей, которых разделили на четыре группы: 1-я группа — контрольные животные, получавшие интраперитонеально воду для инъекций в эквивалентном объёме (контроль I); 2-я группа — инфицированные животные, которые не получали лечения (контроль II); 3-я группа — мыши с генерализованной инфекцией, которые получали в качестве лечения цефтриаксон в дозе 50 мг/кг интраперитонеально в течение 7 дней; 4-я группа — инфицированные животные, которым вводили исследуемое соединение в дозе 31 мг/кг (1/10 от молекулярной массы) в течение 7 сут. Генерализованную инфекцию моделировали путём интраперитонеального введения *K. pneumoniae* в дозе 3×10^6 в объёме 0,5 мл. В процессе эксперимента оценивали выживаемость животных. После выведения мышей из эксперимента проводили расчёт индекса обсеменённости крови, печени, селезёнки и лёгких, а также определяли общее количество лейкоцитов, С-реактивный белок и прокальцитонин. Было установлено, что изучаемое соединение способствует повышению выживаемости лабораторных животных в условиях генерализованной клебсиеллёзной инфекции, а также снижению индекса обсеменённости, общего количества лейкоцитов и уровня маркеров генерализованной инфекции. Таким образом, производное пиримидина 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он проявляет антибактериальную активность, сопоставимую с действием препарата сравнения — цефтриаксона, в отношении *K. pneumoniae* в условиях экспериментальной инфекции.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*; генерализованная инфекция; противомикробная активность; выживаемость животных; индекс обсеменённости

Для цитирования: Хмидет А. Б. С., Ясенявская А. Л., Цибизова А. А., Тюренков И. Н., Озеров А. А., Самотруева М. А. Оценка противомикробной активности пиримидинового соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он в отношении *Klebsiella pneumoniae*. Антибиотики и химиотер. 2023; 68: 1–2: 22–26. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-22-26>.

Abstract

The study is devoted to the evaluation of the antimicrobial activity against *Klebsiella pneumoniae* of the pyrimidine compound 3-(2-Benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one under *in vivo* conditions in a model of generalized infection. The experiment was performed on 40 CBA line mice, which were divided into four groups: Group 1, control animals that received intraperitoneal injection water in an equivalent volume (control I); Group 2, infected animals that received no treatment (control II); Group 3, mice with generalized infection that received ceftriaxone at a dose of 50 mg/kg intraperitoneally for 7 days as treatment; Group 4, infected animals that received the study compound at a dose of 31 mg/kg (1/10 of the molecular weight) for 7 days. Generalized infection was modeled by intraperitoneal injection of *Cl. pneumoniae* at a dose of 3×10^6 in a volume of 0.5 ml. In the course of the experiment, animal survival rate was evaluated. After the mice were removed from the experiment, the blood, liver, spleen and lungs were calculated, and the total number of leukocytes, C-reactive protein and procalcitonin were determined. The compound under study was found to increase the survival rate of laboratory

animals under conditions of generalized *Klebsiella* infection, as well as to decrease the insemination index, the total number of leukocytes and the level of markers of generalized infection. Thus, the pyrimidine derivative 3-(2-Benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazolin-4(3H)-one exhibits antibacterial activity comparable to that of the reference drug — ceftriaxone against *Klebsiella pneumoniae* under experimental infection.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; generalized infection; antimicrobial activity; animal survival rate; index of the infestation

For citation: Hmidet A. B. S., Yasenyavskaya A. L., Tsibizova A. A., Tyurenkov I. N., Ozerov A. A., Samotrueva M. A. Evaluation of the antimicrobial activity of pyrimidine compound 3-(2-benzoyloxy-2-oxoethyl)quinazolin-4(3H)-oh in relation to *Klebsiella pneumoniae*. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 22–26. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-22-26>.

Устойчивость бактерий к противомикробным препаратам является одной из главных причин роста заболеваемости и смертности от инфекционно-воспалительных осложнений. Основными предрасполагающими факторами развития антибиотикорезистентности является неограниченная доступность противомикробных средств, применяемых в виде лекарственных средств, а также используемых в пищевой промышленности [1, 2]. Возникновение резистентности является естественным процессом для микроорганизмов, сформировавшимся в результате мутации, определяющей устойчивость к тому или иному антибиотик и передающейся при обмене генетическим материалом между микроорганизмами [3].

В настоящее время отмечается усиление формирования резистентности *K. pneumoniae* к различным группам противомикробных средств, в частности, пенициллинового и цефалоспоринового ряда, карбапенемам и аминогликозидам, а также фторхинолонам, что существенно затрудняет лечение инфекционно-воспалительных заболеваний, вызванных данным микроорганизмом. Эффективным подходом к решению данной проблемы является разработка новых антимикробных соединений [4, 5].

На сегодняшний день в качестве основы для создания новых антибактериальных препаратов рассматриваются пиримидинсодержащие соединения. Доказано, что пиримидин и его производные обладают широкой фармакологической активностью (противовоспалительной, антиоксидантной, противоопухолевой, антигипертензивной, противовирусной, противомикробной и др.) [6, 7]. Установлено, что структура пиримидина является важной частью многих эндогенных веществ, что позволяет данным соединениям взаимодействовать с генетическим материалом, ферментами, липополисахаридами и другими биополимерными структурами в клетке [8]. Кроме того, исследователями был идентифицирован пиримидин в качестве метаболита клеточных процессов, таких как биосинтез клеточной стенки, клеточная проницаемость, репликация ДНК, биосинтез белка и др., у различных микроорганизмов, в том числе и *K. pneumoniae*, что может рассматриваться как один из основных аспектов механизма противомикробного действия пиримидиновых соединений [9, 10].

Значительный интерес к производным пиримидина, наряду с широким спектром биологической активности и низкой токсичностью, объясняется накопленным обширным экспериментальным материалом, касающимся особенностей процесса синтеза и фармакологического действия различных производных пиримидина.

Цель исследования — изучение противомикробной активности производного пиримидина 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он в отношении *K. pneumoniae* в условиях *in vivo*.

Материал и методы

Оценку противомикробной активности соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он с лабораторным шифром VMA-13-03 в отношении *K. pneumoniae* в условиях *in vivo* проводили моделируя генерализованную инфекцию. Эксперимент проводили на мышах линии СВА в количестве 40 особей, которых разделили на четыре группы: 1-я группа — контрольные животные, получавшие интраперитонеально воду для инъекций в эквивалентном объеме (контроль I); 2-я группа — инфицированные животные, которые не получали лечения (контроль II); 3-я группа — мыши с генерализованной инфекцией, которые получали в качестве лечения цефтриаксон в дозе 50 мг/кг интраперитонеально в течение 7 дней; 4-я группа — инфицированные животные, которым вводили исследуемое соединение в дозе 31 мг/кг (1/10 от молекулярной массы) в течение 7 сут. Генерализованную инфекцию моделировали путем интраперитонеального введения *K. pneumoniae* в дозе 3×10^6 в объеме 0,5 мл (доза была определена в предварительных исследованиях).

В процессе эксперимента оценивали выживаемость животных. После выведения мышей из эксперимента проводили расчёт индекса обсеменённости крови, печени, селезёнки и лёгких, а также определяли общее количество лейкоцитов, С-реактивный белок и прокальцитонин.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Excel и программного обеспечения BIostat. Различия между группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни и считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 показаны результаты оценки выживаемости животных в условиях генерализованной клебсиеллёзной инфекции при применении производного пиримидина.

При формировании генерализованной клебсиеллёзной инфекции наблюдалась гибель животных, в результате чего через неделю осталось 4 выживших особи. В группе мышей, получавших в качестве лечения цефтриаксон, на седьмые сутки погибли 2 особи, тогда как в группе, полу-

Таблица 1. Влияние соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он (VMA-13-03) на выживаемость животных в условиях генерализованной клебсиеллезной инфекции

Table 1. Effect of the compound 3-(2-Benzyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one (VMA-13-03) on animal survival under conditions of generalized *Klebsiella* infection

Группы животных	Выживаемость (в %), сутки						
	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е	6-е	7-е
Контроль I	100	100	100	100	100	100	100
Контроль II (3×10 ⁶ микробных тел)	100	100	80	60	50	50	40
Цефтриаксон (50 мг/кг)	100	100	100	100	100	90	80
VMA-13-03 (31 мг/кг)	100	100	100	100	90	90	90

Таблица 2. Влияние соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он (VMA-13-03) на обсеменённость внутренних органов и крови

Table 2. Effect of 3-(2-Benzyloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one (VMA-13-03) compound on internal organ and blood infestation

Экспериментальные группы	Число особей	Печень	Селезёнка	Лёгкие	Кровь
Контроль I (вода/инъекций)	10	—	—	—	—
Контроль II (3×10 ⁶ микробных тел)	4	+	+	+	+
Цефтриаксон (50 мг/кг)	6	—	—	—	—
	2	+	—	—	+
VMA-13-03 (31 мг/кг)	6	—	—	—	—
	3	—	—	—	+

Примечание. «+» — характерный рост *K.pneumoniae*; «—» — нет роста *K.pneumoniae*.

Note: «+» — characteristic growth of *K.pneumoniae*; «—» — no growth of *K.pneumoniae*.

Таблица 3. Влияние соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он (VMA-13-03) на индекс обсеменённости крови и внутренних органов

Table 3. Effect of 3-(2-Benzyloxy-2-oxoethyl)quinazolin-4(3H)-one (VMA-13-03) compound on blood and internal organ infestation index

Экспериментальные группы	Печень	Селезёнка	Лёгкие	Кровь
Контроль I (вода/инъекций)	0	0	0	0
Контроль II (3×10 ⁶ микробных тел)	1,0±0,1*	1,0±0,1*	1,0±0,1*	1,0±0,1*
Цефтриаксон (50 мг/кг)	0,06±0,01 [#]	0	0	0,06±0,01 [#]
VMA-13-03 (31 мг/кг)	0	0	0	0,09±0,02 [#]

Примечание. * и [#] — $p < 0,01$ по отношению к показателям группы контроля I и контроля II.

Note: * and [#] — $P < 0.01$ with respect to the parameters of control group I and control group II.

чавшей пиримидиновое соединение, погибло 1 животное, т. е. выживаемость составила 90%.

В табл. 2 представлены результаты оценки обсеменённости *K.pneumoniae* крови и внутренних органов (печени, селезёнки, лёгких).

Изучение микробной обсеменённости внутренних органов и крови показало, что в контроле I не было выявлено *K.pneumoniae*; в группе контроля II характерный рост наблюдался во всех образцах; у животных, получавших в качестве лечения цефтриаксон, у двух особей *K.pneumoniae* была идентифицирована в печени и крови; применение VMA-13-03 у животных привело к характерному росту микроорганизма у двух особей в крови.

Результаты определения индекса обсеменённости внутренних органов и крови, представляющего собой отношение положительных проб посева *K.pneumoniae* ко всем пробам, в условиях генерализованной клебсиеллезной инфекции при введении пиримидиновой субстанции VMA-13-03 представлены в табл. 3.

Моделирование генерализованной клебсиеллезной инфекции привело к значительному росту

индекса обсеменённости всех внутренних органов и крови в сравнении с контролем I. Введение цефтриаксона способствовало снижению индекса в печени и крови в 16 раз ($p < 0,01$) по отношению к контролю II и селезёнки и печени — до уровня здоровых животных. Пиримидиновое производное привело к снижению индекса обсеменённости крови в 11 раз ($p < 0,01$) в сравнении с контролем II и во внутренних органах — до уровня контроля I.

В табл. 4 показаны результаты определения общего количества лейкоцитов, уровней маркеров генерализованной инфекции (С-реактивный белок и прокальцитонин) на фоне экспериментальной модели инфекции.

Формирование генерализованной инфекции привело к увеличению общего количества лейкоцитов, уровня С-реактивного белка и прокальцитонина в 3,8 ($p < 0,01$), 6 ($p < 0,01$) и 1,9 ($p < 0,05$) раза, соответственно, в сравнении с группой интактных животных; введение препарата сравнения способствовало снижению изучаемых показателей в 1,4 ($p < 0,05$), 1,6 ($p < 0,01$) и 2 ($p > 0,05$) раза, соответственно, по отношению к контролю II; пиримидиновое соединение способствовало снижению

Таблица 4. Влияние соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он (VMA-13-03) на общее количество лейкоцитов и маркеры генерализованной инфекции**Table 4.** Effect of compound 3-(2-Benzylloxy-2-oxoethyl)quinazoline-4(3H)-one (VMA-13-03) on total white blood cell count and markers of generalized infection

Экспериментальные группы	Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	С-реактивный белок, мг/л	Прокальцитонин, нг/мл
Контроль I (вода/инъекций)	7,18 $\pm$ 1,02	18,61 $\pm$ 1,20	1,86 $\pm$ 0,08
Контроль – II (3 $\times$ 10 ⁶ микробных тел)	27,37 $\pm$ 2,56**	111,35 $\pm$ 12,41**	3,63 $\pm$ 0,97*
Цефтриаксон (50 мг/кг)	18,91 $\pm$ 2,45 [#]	66,88 $\pm$ 4,23 [#]	1,65 $\pm$ 0,98
VMA-13-03 (31 мг/кг)	15,46 $\pm$ 1,10 [#]	58,47 $\pm$ 3,97 [#]	1,98 $\pm$ 0,11

Примечание. * и [#] — $p < 0,05$ по отношению к показателям группы контроля I и контроля II; ** и ^{##} — $p < 0,01$ по отношению к показателям группы контроля I и контроля II.

Note: * and [#] — $P < 0.05$ versus control I and control II; ** and ^{##} — $P < 0.01$ versus control I and control II.

показателей в 1,8 ($p < 0,01$), 1,9 ($p < 0,01$) и 1,8 ($p > 0,05$) раза, соответственно, в сравнении с группой инфицированных животных.

Опираясь на полученные результаты, можно сделать вывод, что исследуемое пиримидиновое производное 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он с шифром VMA-13-03 оказывает выраженную противомикробную активность в отношении *K. pneumoniae*, проявляющуюся в повышении выживаемости лабораторных животных в условиях генерализованной клебсиеллёзной инфекции, вызванной интраперитонеальным введением штамма, выделенного от больных, страдающих хроническим бронхитом, в дозе 3×10^6 микробных тел, а также снижении индекса обсеменённости, общего количества лейкоцитов и уровня маркеров генерализованной инфекции (С-реактивный белок и прокальцитонин), что свидетельствует о снижении воспалительной реакции при введении данного соединения. Полученные результаты сопоставимы с результатами, полученными при введении животным в качестве лекарственного препарата цефтриаксона. Следует отметить, что влияние изучаемого соединения на С-реактивный белок более выражено, что, вероятно, связано с его иммуотропным действием, в т. ч. на процессы фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета, что доказано в ранее проведённых исследованиях.

Полученные данные нашли подтверждение в результатах других исследований. Доказана противомикробная активность пирано[2,3-d]пиримидина, производных бензотиазолпиримидина, 7-(трифторметил)пиридо[2,3-d]пиримидиновых производных триазола, соединения имидазо[1,2- α]пиримидина, производных тиазоло[3,2- α]тиохромено[4,3-d]пиримидина в отношении *K. pneumoniae* [11–14]. Установлена противомикробная активность аналогов 6-нитро-1,2,4-триаоло[1,5- α]пиримидина в отношении экспериментальной септической инфекции [15].

Заключение

Таким образом, производное пиримидина 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он проявляет антибактериальную активность, сопоставимую с действием препарата сравнения — цефтриаксона, в отношении *Klebsiella pneumoniae* в условиях экспериментальной инфекции.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.

Литература/References

- Yelin I., Kishony R. Antibiotic resistance. Cell. 2018; 172 (5): 1136–1136. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.018.
- Chatterjee A., Modarai M., Naylor N. R., Boyd S. E., Atun R., Barlow J., Robotham J. V. Quantifying drivers of antibiotic resistance in humans: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2018; 18 (12): e368–e378. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30296-2.
- Singh R., Singh A. P., Kumar S., Giri B. S., Kim K. H. Antibiotic resistance in major rivers in the world: a systematic review on occurrence, emergence, and management strategies. Journal of Cleaner Production. 2019; 234: 1484–1505. doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06.243.
- Chokshi A., Sifri Z., Cennimo D., Horng H. Global contributors to antibiotic resistance. J Glob Infect Dis. 2019; 11 (1): 36. doi: 10.4103/jgid.jgid_110_18.
- Aslam B., Wang W., Arshad M. I., Khurshid M., Muzammil S., Rasool M. H., Baloch Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect Drug Resist. 2018; 11: 1645. doi: 10.2147/IDR.S173867.
- Цибизова А. А., Ясенявская А. Л., Тюренков И. Н., Озеров А. А., Башкина О. А., Самотруева М. А. Оценка противомикробной активности производного пиримидина в отношении *Staphylococcus aureus*. Антибиотики и химиотер. 2022; 67 (5–6): 4–9. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-5-6-4-9 [Tsibizova A. A., Yasyenyavskaya A. L., Tyurenkov I. N., Ozerov A. A., Bashkina O. A., Samotrueva M. A. Evaluation of antimicrobial activity of a pyrimidine derivative against *Staphylococcus aureus*. Antibiotiki i Khimioter. = Antibiotics and Chemotherapy. 2022; 67: 5–6: 4–9. doi: https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-5-6-4-9. (in Russian)]
- Ясенявская А. Л., Цибизова А. А., Озеров А. А., Тюренков И. Н., Башкина О. А., Самотруева М. А. Оценка иммуноотоксических свойств производных пиримидина Иммунология. 2022; 43 (3): 312–319. doi: https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-3-312-319. [Yasyenyavskaya A. L., Tsibizova A. A., Ozerov A. A., Tyurenkov I. N., Bashkina O. A., Samotrueva M. A. Otsenka immunotoksicheskikh svoystv proizvodnykh pirimidina Immunologiya. 2022; 43 (3): 312–319. doi: https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-3-312-319. (in Russian)]
- Tolba M., El-Dean A., Ahmed M., Hassanien R., Sayed M., Zaki R., Abdel-Raheem S. Synthesis, reactions, and applications of pyrimidine derivatives. Current Chemistry Letters. 2022; 11 (1): 121–138. doi: 10.5267/j.ccl.2021.8.002

9. Bassyouni F, Tarek M., Salama A., Ibrahim B., Salah El Dine S., Yassin N., Abdel-Rehim M. Promising antidiabetic and antimicrobial agents based on fused pyrimidine derivatives: molecular modeling and biological evaluation with histopathological effect. *Molecules*. 2021; 26 (8): 2370. doi: 10.3390/molecules26082370.
10. Horchani M., Hajlaoui A., Harrath A. H., Mansour L., Jannet H. B., Romdhane A. New pyrazolo-triazolo-pyrimidine derivatives as antibacterial agents: Design and synthesis, molecular docking and DFT studies. *Journal of Molecular Structure*, 2020; 1199: 127007. doi: 10.1016/j.molstruc.2019.127007.
11. Bhat A. R., Dongre R. S., Almalki F. A., Berredjem M., Aissaoui M., Touzani R., Akhter M. S. Synthesis, biological activity and POM/DFT/docking analyses of annulated pyrano [2, 3-d] pyrimidine derivatives: Identification of antibacterial and antitumor pharmacophore sites. *Bioorg Chem*. 2021; 106: 104480. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104480.
12. Maddila S., Gorle S., Seshadri N., Lavanya P., Jonnalagadda S. B. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of novel benzothiazole pyrimidine derivatives *Arabian Journal of Chemistry*, 2016; 9 (5): 681–687 doi: 10.1016/j.arabjc.2013.04.003.
13. Naresh Kumar R., Jitender Dev G., Ravikumar N., Krishna Swaroop D., Debanjan B., Bharath G., Narsaiah B., Nishant Jain S., Gangagni Rao A. Synthesis of novel triazole/isoxazole functionalized 7-(trifluoromethyl)pyrido[2,3-d]pyrimidine derivatives as promising anticancer and antibacterial agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016 Jun 15; 26 (12): 2927–2930. doi: 10.1016/j.bmcl.2016.04.038. Epub 2016 Apr 16. PMID: 27130357.
14. Suresh L., Sagar Vijay Kumar P., Poornachandra Y., Ganesh Kumar C., Babu N. J., Chandramouli G. V. P. An expeditious four-component domino protocol for the synthesis of novel thiazolo[3,2-a]thiochromeno[4,3-d]pyrimidine derivatives as antibacterial and antibiofilm agents. *Bioorg Med Chem*. 2016; 24: 3808–3817 doi: 10.1016/j.bmc.2016.06.025.
15. Savateev K. V., Ulomsky E. N., Fedotov V. V., Rusinov V. L., Sivak K. V., Lyubishin M. M., Kuzmich N. N., Aleksandrov A. G. 6-nitrotriazolo[1,5-a]pyrimidines as promising structures for pharmacotherapy of septic conditions. *Russ J Bioorg Chem*. 2017; 43: 421. doi: 10.1134/S1068162017040094.

Информация об авторах

Хмидет Айша Бент Салах — студентка 6 курса по специальности «Педиатрия» ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация, г. Астрахань, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7664-4361

Ясенявская Анна Леонидовна — к. м. н., доцент, руководитель Научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия. ORCID: 0000-0003-2998-2864

Цибизова Александра Александровна — к. фарм. н., доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия. ORCID: 0000-0002-9994-4751

Тюренков Иван Николаевич — д. м. н., профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования факультета усовершенствования врачей ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия. ORCID: 0000-0001-7574-3923

Озеров Александр Александрович — д. х. н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия. ORCID: 0000-0002-4721-0959

Самотруева Марина Александровна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Россия. ORCID: 0000-0001-5336-4455

About the authors

Aisha B. S. Hmidet — student of the 6th year in the specialty «Pediatrics» of the Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7664-4361

Anna L. Yasyenyavskaya — Ph. D. in Medicine, Associate Professor, Head of the Research Center, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan, Russia. ORCID: 0000-0003-2998-2864

Alexandra A. Tsybizova — Ph. D. in Pharmaceutics, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology of the Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan, Russia. ORCID: 0000-0002-9994-4751

Ivan N. Tyurenkov — D. Sc. in Medicine, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology and Pharmacy of the Institute of Continuing Medical and Pharmaceutical Education of the Faculty of Advanced Training of Doctors of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Volgograd, Russia. ORCID: 0000-0001-7574-3923

Alexander A. Ozerov — D. Sc. in Chemistry, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Volgograd, Russia. ORCID: 0000-0002-4721-0959

Marina A. Samotrueva — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Technology and Biotechnology of the Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan, Russia. ORCID: 0000-0001-5336-4455

Отдалённые результаты химиотерапии туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием бедаквилина

*А. Ю. ЧЕРНИКОВ, Д. Д. ПОЛЯНСКИЙ, А. В. ДЬЯКОВ,
К. Д. РОТЕНКО, Д. В. ПАНФИЛОВА

ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России, Курск, Россия

Long-Term Results of Chemotherapy of Tuberculosis With a Widespread Drug-Resistant Pathogen Using Bedaquiline

*ALEKSANDR YU. CHERNIKOV, DMITRY D. POLYANSKY,
ALEKSANDR V. DYAKOV, KIRILL D. ROTENKO, DARYA V. PANFILOVA

Kursk State Medical University MOH Russia, Kursk, Russia

Резюме

Актуальность. Отдалённые результаты лечения больных туберкулёзом с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя не представлены в медицинской литературе. **Цель.** Изучить эффективность и отдалённые результаты лечения пациентов с широкой лекарственной устойчивостью туберкулёза с использованием бедаквилина. **Материал и методы.** Сформированы две группы пациентов с туберкулёзом с широкой лекарственной устойчивостью, которые в качестве базового курса химиотерапии получали бедаквилин в основной группе (49 человек) и моксифлоксацин в контрольной группе (76 человек). Изучены результаты лечения по окончании курса химиотерапии и по истечению трёх лет диспансерного наблюдения. **Результаты.** 87,8±9,2% пациентов из основной группы завершили эффективный курс лечения с контролем по посеву мокроты. У 67,3±13,1% достигнуто прекращение бацилловыделения на 1–2 мес. лечения. Нежелательные эффекты химиотерапии отмечены в 10,2–32,7% случаев, причём удлинение интервала QT только у 8,2±7,7% пациентов. После трёхлетнего диспансерного наблюдения в основной группе не отмечалось рецидива туберкулёза, реже встречалась впервые выявленная хроническая обструктивная болезнь лёгких, не установлено случаев лечения у кардиолога и гинеколога, чаще наблюдался перевод пациентов со второй группы инвалидности на третью. **Заключение.** Применение бедаквилина для лечения пациентов с широкой лекарственной устойчивостью туберкулёза позволяет достигнуть раннего прекращения бацилловыделения с переводом на амбулаторное лечение, снизить частоту нежелательных реакций химиотерапии. Отдалённые результаты диспансерного наблюдения свидетельствуют о низком риске реактивации туберкулёза, значительном снижении потребности в диспансерном наблюдении у других специалистов, в том числе у кардиолога, улучшении результатов комплексной реабилитации.

Ключевые слова: туберкулёз; широкая лекарственная устойчивость; бедаквилин; отдалённые результаты лечения.

Для цитирования: Черников А. Ю., Полянский Д. Д., Дьяков А. В., Ротенко К. Д., Панфилова Д. В. Отдалённые результаты химиотерапии туберкулёза с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием бедаквилина. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 1–2: 27–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-27-32>.

Abstract

Relevance. Long-term results of treatment of patients with widespread drug-resistant tuberculosis are not presented in the medical literature. **Objective.** Study the efficacy and long-term results of treatment of patients with widespread drug-resistant tuberculosis using bedaquiline. **Material and methods.** Two groups of patients with widespread drug-resistant tuberculosis were formed, who received bedaquiline as the base drug of the chemotherapy course: bedaquiline in the main group (49 people) and moxifloxacin in the control group (76 people). The results of treatment at the end of the course of chemotherapy and after three years of follow-up were studied. **Results.** 87.8±9.2% of patients from the main group completed an effective course of treatment with sputum culture control. In 67.3±13.1%, the cessation of bacillus excretion was achieved at 1–2 months of treatment. Undesirable effects of chemotherapy were noted in 10.2–32.7% of cases, with prolongation of the QT interval only in 8.2±7.7% of patients. After a three-year dispensary follow-up, there was no recurrence of tuberculosis in the main group, chronic obstructive pulmonary disease was less common for the first time, no cases of treatment by a cardiologist and gynecologist were found, the transfer of patients from the second disability group to the third was more often observed. **Conclusion.** The use of bedaquiline for the treatment of patients with widespread drug-resistant tuberculosis makes it possible to achieve early cessation of bacillus excretion with transfer to outpatient treatment, reduce the frequency of adverse reactions of chemotherapy. The long-term results of dispensary observation indicate a low

risk of reactivation of tuberculosis, a significant reduction in the need for dispensary observation by other specialists, including a cardiologist, and improvement in the results of complex rehabilitation.

Key words: tuberculosis; broad drug resistance; bedaquiline; long-term treatment results.

For citation: Chernikov A. Yu., Polyansky D. D., Dyakov A. V., Rotenko K. D., Panfilova D. V. Long-term results of chemotherapy of tuberculosis with a widespread drug-resistant pathogen using bedaquiline. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 27–32. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-27-32>.

Введение

Согласно клиническим рекомендациям Российского общества фтизиатров 2022 г., широкая лекарственная устойчивость микобактерии туберкулёза (МБТ) — это устойчивость к рифампицину с устойчивостью к изониазиду или без неё, в сочетании с устойчивостью к любому фторхинолону и, по крайней мере, к линезолиду или к бекваквину [1]. Хотя ранее в практической деятельности использовалась иная формулировка, широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) — это устойчивость к рифампицину, изониазиду, фторхинолону и инъекционному противотуберкулёзному препарату [2]. Для терапии туберкулёза с ШЛУ в более ранней трактовке первоначально рекомендовали пациентам моксифлоксацин, как базовое лекарство режима химиотерапии, а позднее новый препарат бекваквин [3].

Бекваквин — это первый препарат в классе диарилхинолинов, оказывающий мощный бактерицидный эффект на микобактерию туберкулёза, при этом в отличие от фторхинолонов он воздействует на активность F-АТФ синтазы, блокируя вращение с-кольца фермента [4]. Несмотря на высокую стоимость, этот препарат было рекомендовано использовать в практической деятельности Российских противотуберкулёзных диспансеров с 2016 г. [5]. В медицинской литературе была обоснована экономическая эффективность включения беквакина в стандартные режимы химиотерапии. Так, в Гонконге установлено, что назначение беквакина в сочетании с другими химиопрепаратами, к которым сохранена чувствительность, приносит коэффициент добавочной экономической эффективности 12 долларов США/QALY в сравнении с режимами терапии без этого препарата [6].

В настоящий момент накоплены данные о 77% клинической эффективности данного препарата с использованием посева мокроты, как критерия контроля результативности лечения, при этом среднее время конверсии результата посева мокроты составило 60 дней [7]. В Китае 24-недельное лечение 177 пациентов с ШЛУ беквакином на фоне персонализированных схем приёма туберкулостатиков зарекомендовало себя, как безопасный режим химиотерапии [8]. Устойчивость к бекваквину в настоящее время составляет 2,4% и определяется в 40% случаев му-

тациями в гене Rv0678 [9]. Нежелательные эффекты терапии беквакином могут наблюдаться в 11,2% случаев [10]. У 5,8% пациентов эти реакции были настолько серьёзны, что препарат пришлось отменить [7].

Кардиотоксичность, часто выражающаяся в удлинении интервала QT и развитии связанных с этим нарушений сердечного ритма, вероятно связана с ингибированием гена *hERG* и нарушением реполяризации калиевых каналов, а также с высокой липофильностью действующего вещества, приводящего к длительному периоду полувыведения препарата из организма — около 5–6 мес. [11]. Среднее удлинение интервала QT при приёме беквакина составляет 15,4 мс, только у 3,9% из 233 пациентов установлено удлинение QT более 60 мс по сравнению с исходным уровнем, что требует безотлагательного прекращения приёма препарата [12]. Однако тяжёлых эпизодов со смертельным исходом, описанных при приёме фторхинолонов, в частности, спарфлоксацина, не установлено [13].

Среди других нежелательных реакций на приём беквакина выделяют желудочно-кишечные реакции, составляющие 14% от всех подобных реакций [14]. Нефротоксические реакции, встречающиеся при приёме фторхинолонов, при приёме беквакина практически не отмечены [15]. В целом бекваквин продемонстрировал удовлетворительный профиль безопасности, что наряду с удовлетворительным уровнем эффективности лечения, позволяет использовать его в лечении пациентов с ШЛУ [16]. У пациентов с ШЛУ достаточно часто формируются большие остаточные изменения в лёгких в виде фиброза, бронхоэктазов, кист, интенсивных очагов [17].

Совокупность функциональных и анатомических посттуберкулёзных изменений может приводить к сужению мелких дыхательных путей и развитию обструктивной болезни, в связи с чем в литературе появился термин «туберкулёз-ассоциированная хроническая обструктивная болезнь лёгких» [18]. У лиц, прошедших полный курс антимикобактериальной химиотерапии в 16,3% случаев регистрировалась бронхиальная обструкция, причём у большинства необратимая [19]. Раннее использование беквакина в схеме химиотерапии может уменьшить частоту формирования выраженных остаточных изменений в лёгких [20]. Но многие исследователи счи-

тают, что для достижения этого эффекта необходимо не рекомендованное в инструкции 24-недельное применение препарата, а более длительный срок, как минимум 13–15 мес. [21, 22]. Удлинение срока лечения не ухудшает профиль безопасности препарата [23].

Встречаются мнения исследователей, что при удлинении срока можно использовать не только стандартный режим дозирования препарата (400 мг в сутки ежедневно первые 2 нед., затем 200 мг в сутки 3 раза в неделю 22 нед.), но применять уменьшенные дозировки 100 мг ежедневно при продлении срока лечения [24, 25]. Отдалённые результаты лечения бедаквилином (через 3–5 лет) у пациентов с ШЛУ туберкулёза в литературе не встречались, в связи с чем мы решили сделать эту проблематику целью нашего исследования.

Цель исследования — изучить клиническую эффективность и отдалённые результаты лечения пациентов с туберкулёзом с ШЛУ возбудителя при использовании бедаквилина в качестве базового препарата в режиме химиотерапии.

Материал и методы

Среди 5269 пациентов, состоявших на диспансерном учёте с активной формой туберкулёза в Курском областном противотуберкулёзном диспансере в 2013–2019 гг., множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) было установлено в 608 (11,5%) случаях. Из них ШЛУ составила 125 (2,4%) случаев. Помимо устойчивости к изониазиду, рифампицину и фторхинолонам, установлена устойчивость к следующим противотуберкулёзным препаратам: стрептомицин — 374 (7,1%); этамбутол — 294 (5,6%); канамицин — 99 (1,9%); этионамид (протионамид) — 82 (1,6%); капреомидин — 37 (0,7%); парааминосалициловая кислота — 26 (0,5%); цикloserин — 17 (0,3%); амикацин — 8 (0,2%); пипразинамид — 7 (0,1%). Среднегодовая распространённость МЛУ на 100000 населения составила 7,9; ШЛУ — 1,6. При этом среднегодовая распространённость туберкулёза за этот период времени составила 68,5 на 100000 населения. Число пациентов с впервые выявленным туберкулёзом с ШЛУ в 2013 г. составило 5 человек, в 2019 г. — таких пациентов не было.

В соответствии с приказом министерства здравоохранения Российской Федерации от 29.12.2014 №951, утверждающим методические рекомендации по совершенствованию диагностики и лечения туберкулёза органов дыхания,

пациентам после подтверждения ШЛУ культуры на жидких и плотных питательных средах с определением спектра чувствительности МБТ к химиопрепаратам назначался режим химиотерапии 5. Основу данного режима составлял антибиотик из группы фторхинолонов. Первоначально это был моксифлоксацин, но с 2017 г. основным препаратом данного режима становится бедаквилин. С 2013 г. в перечень закупаемых за счёт иных межбюджетных трансфертов из федерального бюджета антибактериальных препаратов и противотуберкулёзных препаратов (второго ряда) входил моксифлоксацин, и региональные противотуберкулёзные службы именно этот препарат использовали в качестве базисного при назначении режима химиотерапии 5. С 2017 г. появилась возможность приобретать бедаквилин, что изменило массовый подход к лечению туберкулёза с ШЛУ.

Были сформированы две группы исследования: основная группа 1 — 49 человек, получавших бедаквилин; контрольная группа 2 — 76 человек, получавших моксифлоксацин. Средний возраст пациентов составил в группе 1 — 42,6±6,6 лет, в группе 2 — 47,3±6,9 лет. В обеих группах преобладали мужчины и запущенные клинико-рентгенологические формы туберкулёза, что отражено в табл. 1.

Всем назначался режим химиотерапии 5, при этом в группе 1 базовым препаратом был бедаквилин (это пациенты, зарегистрированные для лечения в 2017–2019 гг.), а в группе 2 — моксифлоксацин (это пациенты 2013–2016 гг.). Для повышения результативности химиотерапии всем пациентам были предложены методики психологического сопровождения длительного терапевтического лечения, ранний перевод на амбулаторный контролируемый режим химиотерапии при достижении прекращения бацилловыделения в стационаре, использование для контроля приверженности химиотерапии на амбулаторном этапе видеосвязи с помощью установленных на смартфонах мессенджерах.

Изучались результаты субъективного и объективного обследований, данные лучевой диагностики, результаты лабораторных и инструментальных исследований, представленные в медицинских картах больных туберкулёзом через три года после окончания основного курса лечения. Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы SPSS 23.0. Вычислялись вероятность события P , 95% доверительный интервал для вероятности события 1β , коэффициент сопряжённости Пирсона χ^2 , t -критерий Стьюдента, вероятность ошибки p (статистически значимая при $p < 0,05$). Исследование было одобрено региональным этическим комитетом 14.12.2020. Дизайн исследования: сравнительное, когортное, проспективное.

Результаты и обсуждение

Результаты проведённых курсов химиотерапии представлены в табл. 2.

Таблица 1. Распределение пациентов по полу и клинико-рентгенологическим формам в группах исследования
Table 1. Distribution of patients by gender and clinical and radiological forms in the study groups

Показатель	Число пациентов в абсолютных цифрах		
	Группа 1, $n=49$	Группа 2, $n=76$	Всего, $n=125$
Очаговый	1	4	5
Инфильтративный	5	2	7
Диссеминированный	15	16	31
Туберкулома	3	9	12
Кавернозный	1	2	3
Фиброзно-кавернозный	21	37	58
Цирротический	3	6	9
Мужчины	39	64	103
Женщины	10	12	22

Таблица 2. Результаты химиотерапии в группах исследования
Table 2. Results of chemotherapy in the study groups

Показатель	Группа 1, n=49	Группа 2, n=76	χ^2	p
Прекращение бацилловыделения на 1–2 мес. лечения	67,3±13,1%	44,7±11,2%	6,124	0,014
Прекращение бацилловыделения на 3–4 мес. лечения	20,4±11,3%	22,4±9,4%	0,068	0,795
Рубцевание полости	61,2±13,6%	51,3±11,2%	1,183	0,277
Рассасывание инфильтрации и очагов	22,4±11,6%	19,7±8,9%	0,133	0,716
Перевод на амбулаторное лечение после 3 мес. лечения в стационаре	67,3±13,1%	44,7±11,2%	6,124	0,014

В первой и второй группах в период проведения курса химиотерапии отмечались нежелательные эффекты: удлинение интервала QT — 8,2±7,7%, 22,4±9,4% ($\chi^2=4,301$, $p=0,039$), соответственно; аритмия — 0, 2,6±3,6%; обострения гастрита и псевдомембранозный колит — 32,7±13,1%, 36,8±10,8% ($\chi^2=0,229$, $p=0,633$); гепатотоксические реакции — 16,3±10,3%, 22,4±9,4% ($\chi^2=0,680$, $p=0,410$); стойкое повышение артериального давления — 2,0±3,9%, 19,7±5,0% ($\chi^2=8,358$, $p=0,004$); нарушения менструального цикла — 2,0±3,9%, 5,3±5,0% ($\chi^2=0,806$, $p=0,370$); нефротоксические реакции — 6,1±6,7%, 10,5±6,9% ($\chi^2=0,720$, $p=0,397$); повышение уровня мочевины — 32,7±13,1%, 31,6±10,5% ($\chi^2=0,016$, $p=0,900$); энцефалопатия и астения центральной нервной системы — 10,2±8,4%, 10,5±6,9% ($\chi^2=0,003$, $p=0,955$). Развитие этих реакций не потребовало полной отмены препарата.

Полностью неэффективный курс лечения отмечен у 6 пациентов из группы 1 и у 25 пациентов из группы 2. Среди них в группе 1 проведено оперативное лечение 4 (8,2±7,7%) пациентов, 2 (4,1±5,6%) пациента категорически отказались от операции. В группе 2 проведено 15 (19,7±8,9%) операций (8 резекций и 7 экстраплевральный пневмолиз) и 7 (9,2±6,5%) пациентам назначен новый курс лечения с использованием бедаквилина и клапанной бронхоблокации, 3 (3,9±4,4%) человека отказались от дальнейшего лечения. Отказавшимся от лечения назначалась паллиативная помощь.

У 43 (87,8±9,2%) пациентов из группы 1 и 51 (67,1±10,6%) пациента из группы 2 установлен эффективный курс лечения, подтверждённый культуральным исследованием ($\chi^2=6,812$, $p=0,010$). В обеих группах дополнительно проведено оперативное лечение для резекции туберкулом и оставшихся полостных изменений: 1-я — 20 (40,8±13,8%), 2-я — 21 (27,6±11,4%) ($\chi^2=2,350$, $p=0,126$). В дальнейшем все пациенты с положительным эффектом химиотерапии находились на диспансерном наблюдении в течение трёх лет. По окончании трёх лет наблюдения выявлены случаи рецидива туберкулёза — 2,0±3,9%, 3,9±4,4% ($\chi^2=0,350$, $p=0,555$), соответственно.

Установлены стойкие изменения на электрокардиограмме и кардиологические нарушения, требующие наблюдения врача-кардиолога, — 0,

5,3±5,0%. Впервые диагностирована хроническая обструктивная болезнь лёгких — 8,2±7,7%, 27,6±11,4% ($\chi^2=7,057$, $p=0,008$). Наблюдались у врача-гастроэнтеролога по поводу хронического гепатита, хронического панкреатита и хронического гастрита — 6,1±6,7%, 9,2±6,5% ($\chi^2=0,386$, $p=0,535$); у врача-эндокринолога по поводу сахарного диабета и заболеваний щитовидной железы — 2,0±3,9%, 10,5±6,9% ($\chi^2=3,211$, $p=0,074$); у врача-гинеколога — 0, 5,3±5,0%. Развитие периферического рака лёгкого установлено у 0, 1,3±2,5%.

Скончались за данный период диспансерного наблюдения: — 0, 2,6±3,6%, из них все от выраженных посттуберкулёзных остаточных изменений в лёгких. Была установлена вторая группа инвалидности в группе 1 — 59,2±13,8%, в группе 2 — 63,2±10,8% ($\chi^2=0,199$, $p=0,656$). Перевод пациентов со второй группы инвалидности на третью — 20 из 29 (69,0±16,8%), 21 из 48 (43,8±19,0%) ($\chi^2=4,617$, $p=0,032$), соответственно.

Обсуждение

Курс химиотерапии пациентов с ШЛУ с включением бедаквилина статистически значимо был эффективен в сравнении с аналогичным курсом с включением моксифлоксацина. Эффективность по посеву мокроты достигла 87,8%, что немного превышает данные литературы. При этом раннее прекращение бацилловыделения на 1–2 мес. лечения зафиксировано в 67,3% случаев, что статистически значимо превышает такой же показатель в контрольной группе. Это способствовало раннему переводу большинства пациентов на амбулаторное лечение, снижая общую стоимость затрат на химиотерапию. Среди нежелательных эффектов химиотерапии встречались реакции со стороны желудочно-кишечного тракта, печени, мочевыделительной и центральной нервной систем. Частота этих реакций 10,2–32,7% в основной группе была сопоставима с частотой в контрольной группе, но при проведении химиотерапии с базовым препаратом моксифлоксацином также отмечались стойкое повышение артериального давления и нарушение менструального цикла. Удлинение интервала QT установлено в 8,2% случаев, что соответствует данным литературы и

статистически значимо ниже, чем в контрольной группе. После трёхлетнего диспансерного наблюдения установлено, что после приёма химиотерапии с включением бедаквиллина не отмечалось рецидива туберкулёза, статистически значимо реже встречалась впервые выявленная хроническая обструктивная болезнь лёгких. Пациентам основной группы не было необходимо наблюдаться у кардиолога и гинеколога в отличие от пациентов контрольной группы, хотя частота диспансерного наблюдения у эндокринолога и гастроэнтеролога достоверно не отличалась в обеих группах. Перевод пациентов со второй группы инвалидности на третью (реабилитация больных) статистически достоверно чаще наблюдалась в основной группе.

Ограничения исследования. В связи с ограниченностью выборки пациентов с данной патологией в одном субъекте Российской Федерации желательно провести многоцентровое рандомизированное исследование с аналогичной целью.

Заключение

Применение бедаквиллина для лечения пациентов с туберкулёзом с ШЛУ возбудителя позволяет достигнуть раннего прекращения бацилловыделения с переводом на амбулаторное лечение, снизить частоту нежелательных реакций химиотерапии. Отдалённые трёхлетние результаты диспансерного наблюдения за пациентами, принимавшими бедаквиллин, свидетельствуют о низком риске реактивации туберкулёза, значительном

снижении потребности в диспансерном наблюдении у других специалистов, в том числе у кардиолога, а также об улучшении результатов комплексной реабилитации пациентов.

Дополнительная информация

Авторы подтверждают, что эта статья ранее не была опубликована, а также не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. Все таблицы, представленные в рукописи, являются авторскими и не заимствованы из других источников.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. При подготовке рукописи у авторов не возникло отношений с промышленными и финансовыми организациями, способных привести к конфликту интересов в связи с представленным в рукописи материалом. Источники финансирования работы — собственные средства авторов.

Вклад авторов. А. Ю. Черников — разработка концепции и дизайна, обоснование и написание рукописи; Д. Д. Полянский — сбор, анализ и интерпретация данных; А. В. Дьяков — сбор, анализ и интерпретация данных; К. Д. Ротенко — проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение статьи для публикации рукописи; Д. В. Панфилова — проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение статьи для публикации рукописи.

Все авторы согласны быть ответственными за все аспекты своей работы.

Литература/References

1. Министерство здравоохранения Российской Федерации, Российское общество фтизиатров, Ассоциация фтизиатров. Клинические рекомендации Туберкулёз у взрослых. М.: 2022; 151. Доступно по ссылке: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16_2 [Ministerstvo zdravooohraneniya Rossijskoj Federacii, Rossijskoe obshchestvo ftiziatrov, Associaciya ftiziatrov. Klinicheskie rekomendacii Tuberkulyoz u vzroslykh. Moscow: 2022; 151. Dostupno po ssylke: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/16_2. (in Russian)]
2. Global tuberculosis report 2017. Geneva, World Health Organization; 2017; 262.
3. Schnippel K., Firnhaber C., Page-Shipp L., Sinanovic E. Impact of adverse drug reactions on the incremental cost-effectiveness of bedaquiline for drug-resistant tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2018; 22 (8): 918–925. doi:10.5588/ijtld.17.0869.
4. Sarathy J.P., Gruber G., Dick T. Re-Understanding the Mechanisms of Action of the Anti-Mycobacterial Drug Bedaquiline. *Antibiotics (Basel).* 2019; 8 (4): 261. doi: 10.3390/antibiotics8040261.
5. Коновалова М.Н., Одинаев В.С., Василенко Т.И., Задремайлова Т.А. Опыт применения препарата бедаквиллин в лечении больных туберкулёзом лёгких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. Туберкулёз и болезни лёгких. 2017; 95 (12): 49–53. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-12-49-53>. [Konovalova M.N., Odinaev V.S., Vasilenko T.I., Zadremajlova T.A. Opyt primeneniya preparata bedakvillin v lechenii bol'nykh tuberkulyozom lyogkih s mnozhestvennoj i shirokoj lekarstvennoj ustojchivost'yu vozбудitelya. Tuberkulyoz i Bolezni Lyogkih. 2017; 95 (12): 49–53. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-12-49-53>.
6. Fan Q., Ming W.K., Yip W.Y., You J.H.S. Cost-effectiveness of bedaquiline or delamanid plus background regimen for multidrug-resistant tuberculosis in a high-income intermediate burden city of China. *Int J Infect Dis.* 2019; 78: 44–49. doi: 10.1016/j.ijid.2018.10.007.
7. Borisov S.E., Dheda K., Enwerem M., Leyet R.R., D'Ambrosio L., Centis R. et al. Effectiveness and safety of bedaquiline-containing regimens in the treatment of MDR- and XDR-TB: a multicentre study. *Eur Respir J.* 2017; 49 (5): 1700387. doi: 10.1183/13993003.00387-2017.
8. Gao M., Gao J., Xie L., Wu G., Chen W., Chen Y. et al. Early outcome and safety of bedaquiline-containing regimens for treatment of MDR- and XDR-TB in China: a multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2021; 27 (4): 597–602. doi: 10.1016/j.cmi.2020.06.004.
9. Yao C., Guo H., Li Q., Zhang X., Shang Y., Li T. et al. Prevalence of extensively drug-resistant tuberculosis in a Chinese multidrug-resistant TB cohort after redefinition. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2021; 10 (1): 126. doi: 10.1186/s13756-021-00995-8.
10. Mbuagbaw L., Guglielmetti L., Hewison C., Bakare N., Bastard M., Caumes E. et al. Outcomes of bedaquiline treatment in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Emerg Infect Dis.* 2019; 25 (5): 936–943. doi: 10.3201/eid2505.181823.
11. Rahul H.P., Pawara R., Pawara K., Ahmed F., Shirkhedkar A., Suraha S. A structural insight of bedaquiline for the cardiotoxicity and hepatotoxicity. *Tuberculosis.* 2019; 117: 79–84. doi:10.1016/j.tube.2019.06.005.
12. Fox G.J., Menzies D. A review of the evidence for using bedaquiline (TMC207) to treat multi-drug resistant tuberculosis. *Infect. Dis. Ther.* 2013; 2 (2): 123–144. doi: 10.1007/s40121-013-0009-3.
13. Можоккина Г.Н., Самойлова А.Г. Кардиотоксические свойства фторхинолонов и бедаквиллина. Туберкулёз и болезни лёгких. 2019; 97 (4): 56–62. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-4-56-62>. [Mozhokkina G.N., Samojlova A.G. Kardiotoksicheskie svoystva ftorhinolonov i bedakvilina. Tuberkulez i Bolezni Legkih. 2019; 97 (4): 56–62. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-4-56-62>. (in Russian)]
14. Партиева Н.Н., Абулкасимов С.П., Пулатов Ж.А., Мухторов Ш.Н., Айтжанова А.У. Побочные нежелательные явления при применении бедаквиллина в режиме лечения больных с ШЛУ ТБ. Молодой учёный. 2018; 10 (1): 31–33. [Parpieva N.N., Abulkasimov S.P., Pulatov

- Zh.A., Muhtorov Sh.N., Ajtzhanova A.U. Pobochnye nezhelatel'nye yavleniya pri primeneniі bedakvilina v rezhime lecheniya bol'nyh s SHLU TB. *Molodoy uchenyj*. 2018; 10 (1): 31–33. (in Russian)]
15. Можоккина Г.Н., Самойлова А.Г., Зангиева З.А. Нефротоксические свойства противотуберкулёзных препаратов. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2019; 97 (10) 9–65. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-10-59-65>. [Mozhokkina G.N., Samojlova A.G., Zangieva Z.A. Nefrotoksicheskie svoystva protivotuberkuleznyh preparatov. *Tuberkulez i Bolezni Legkih*. 2019; 97 (10): 59–65. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-10-59-65>. (in Russian)]
 16. Тихонова Л.Ю., Соколова В.В., Тарасюк И.А., Екименко А.М. Опыт применения препарата бекдаквилин у больных туберкулёзом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в Амурской области. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2018; 96 (6): 45–50. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50>. [Tihonova L.YU., Sokolova V.V., Tarasyuk I.A., Ekimenko A.M. Opyt primeneniya preparata bedakvilin u bol'nyh tuberkulezom s mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivost'yu возбуdivatelya v Amurskoj oblasti. *Tuberkulez i Bolezni Legkih*. 2018; 96 (6): 45–50. doi: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50>. (in Russian)].
 17. Rhee C.K., Yoo K.H., Lee J.H. et al. Clinical characteristics of patients with tuberculosis-destroyed lung. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013; 17 (1): 67–75. doi: 10.5588/ijtld.12.0351.
 18. Allwood B.W., Byrne A., Meghji J., Rachow A., van der Zalm M.M., Schoch O.D. Post-tuberculosis lung disease: clinical review of an under-recognised global. *Respiration*. 2021; 100 (8): 751–763. doi: 10.1159/000512531.
 19. Sarkar M., Srinivasa A., Madabhavi I., Kumar L.K. Tuberculosis associated chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Resp J*. 2017; 11 (3): 285–295. doi: 10.1111/crj.12621.
 20. Khoshnood S., Goudarzi M., Taki E., Darbandi A., Kouhsari E., Heidary M. Bedaquiline: Current status and future perspectives. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021 June; 25: 48–59. doi:10.1016/j.jgar.2021.02.017.
 21. Lewis J.M., Hine P., Walker J. et al. First experience of effectiveness and safety of bedaquiline for 18 months within an optimised regimen for XDR-TB. *Eur Respir J*. 2016; 47: 1581–1584. doi: 10.1183/13993003.01980-2015.
 22. Caminero J.A., Piubello A., Scardigli A. et al. Proposal for a standardised treatment regimen to manage pre- and extensively drug-resistant tuberculosis cases. *Eur Respir J*. 2017; 50: 1700648. doi: 10.1183/13993003.00648-2017.
 23. Furin J., Lessem E., Cox V. Recommending prolonged bedaquiline use for the treatment of highly resistant strains of tuberculosis. *Eur Respir J*. 2017; 50 (5): 1701552. doi: 10.1183/13993003.01552-2017.
 24. Svensson E.M., Karlsson M.O. Modelling of mycobacterial load reveals bedaquiline's exposure-response relationship in patients with drug-resistant TB. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72 (12): 3398–3405. doi: 10.1093/jac/dkx317.
 25. Salinger D.H., Nedelman J.R., Mendel C., Spigelman M., Hermann D.J. Daily dosing for bedaquiline in patients with tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63 (11): 463–419. doi: 10.1128/AAC.00463-19.

Информация об авторах

Черников Александр Юрьевич — д. м. н., доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Курск, Россия. ORCID: 0000-0002-2045-9607. SPIN-код: 7810-3535. Researcher ID: K-9041-2017

Полянский Дмитрий Дмитриевич — студент 6 курса, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Курск, Россия

Дьяков Александр Васильевич — ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Курск, Россия

Ротенко Кирилл Денисович — ординатор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Курск, Россия

Панфилова Дарья Вячеславовна — студентка 5 курса, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Курск, Россия

About the authors

Aleksandr Yu. Chernikov — D. Sc. in Medicine, Assistant, Department of Clinical Immunology, Allergology and Phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2045-9607. SPIN-код: 7810-3535. Researcher ID: K-9041-2017

Dmitry D. Polyansky — 6th year student, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Aleksandr V. Dyakov — Assistant, Department of Clinical Immunology, Allergology and Phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Kirill D. Rotenko — Resident physician, Department of Clinical Immunology, Allergology and Phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Darya V. Panfilova — 5th year student, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Потенциальная роль микро- и нанопластика в распространении вирусов

Б. Г. АНДРЮКОВ¹, * Н. Н. БЕСЕДНОВА¹, Т. С. ЗАПОРОЖЕЦ¹, А. А. ЯКОВЛЕВ¹,
Е. В. МАТОСОВА¹, С. П. КРЫЖАНОВСКИЙ², М. Ю. ЩЕЛКАНОВ^{1,3,4}

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова, Владивосток, Россия

² Медицинское объединение ДВО РАН, Владивосток, Россия

⁴ ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

⁵ Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия

The Potential Role of Micro- and Nanoplastics in the Spread of Viruses

BORIS G. ANDRYUKOV¹, *NATALIA N. BESEDNOVA¹, TATYANA S. ZAPORozHETS¹,
ANATOLY A. YAKOVLEV¹, EKATERINA V. MATOSOVA¹,
SERGEY P. KRYZHANOVSKY², MIKHAIL YU. SHCHELKANOV^{1,3,4}

¹ Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia

² Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

³ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

⁴ A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology of the Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Резюме

В настоящем обзоре приведены материалы последних лет о возрастающем влиянии микро- и нанопластика (МП/НП) на распространение патогенных вирусов человека и животных. Освещён вопрос о взаимодействии вирусов с пластисферой, о роли оболочки вирусов в сохранении этих микроорганизмов на микрочастицах в составе биоплёнки. Обсуждаются вопросы синергизма патогенетического действия МП/НП и вирусов, исследованного на различных моделях. Представлены материалы о негативном влиянии МП/НП на проницаемость естественных барьеров организма, что может создавать благоприятные условия для проникновения вирусов и развитие инфекционного процесса. Авторы обращают внимание на необходимость расширения междисциплинарных исследований в данной области, учитывая тот факт, что вирусы, находящиеся на МП/НП, могут повышать свою инфекционность и, возможно, формировать новые геноварианты.

Ключевые слова: микропластик; нанопластик; вирусы; пластисфера; микрочастицы; патогены; микроорганизмы; биоплёнка

Для цитирования: Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Запорожец Т. С., Яковлев А. А., Матосова Е. В., Крыжановский С. П., Щелканов М. Ю. Потенциальная роль микро- и нанопластика в распространении вирусов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68: 1–2: 33–44. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-33-44>.

Abstract

The review presents recent materials about the growing influence of micro- and nanoplastics (MP/NP) on the spread of pathogenic viruses in humans and animals. The issue of the interaction of viruses with the plastisphere, the role of the virus envelope in the preservation of these microorganisms on microparticles in the composition of the biofilm has been elucidated. The issues of synergism of the pathogenetic action of MP/NP and viruses, studied on various models, are discussed. The article shows the negative effect of MP/NP on the permeability of the body's natural barriers, which can create favorable conditions for the penetration of viruses and the development of an infectious process. The authors draw attention to the need to expand interdisciplinary research in this area, given the fact that viruses residing on MP/NP can increase their infectivity and, possibly, form new genovariants.

Keywords: microplastic; nanoplastic; viruses; plastisphere; microparticles; pathogens; microorganisms; biofilms

For citation: Andryukov B. G., Besednova N. N., Zaporozhets T. S., Yakovlev A. A., Matosova E. V., Kryzhanovskiy S. P., Shchelkanov M. Yu. The potential role of micro- and nanoplastics in the spread of viruses. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 33–44. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-33-44>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Сельская, д. 1,
НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова,
Роспотребнадзора, г. Владивосток, 690087.
E-mail: besednoff_lev@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 1 Selskaya st., Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing Vladivostok, 690087 Russian Federation. E-mail: besednoff_lev@mail.ru

Введение

Непрерывное и с каждым днём увеличивающееся производство синтетических полимеров или пластика разнообразного химического строения приводит к масштабному загрязнению им и продуктами его разложения окружающей среды, что представляет угрозу для здоровья человека и животных. В 2014 г. в программе Организации Объединённых наций по окружающей среде (UNEP) было зафиксировано, что загрязнение пластиком Мирового океана является одной из 10 основных экологических проблем современности. По мнению L. Sul и M. Labrenz [1], наличие микропластика и его широкое распространение — маркер эпохи антропоцена, новая единица времени, которая может стать частью геологической шкалы времени.

Человечество пока не может справиться с отходами пластика, количество которых растёт с каждым днём. Из-за неправильной утилизации (67,9% пластиковых отходов в настоящее время сжигаются или закапываются) они попадают во внешнюю среду и в дальнейшем продукты их разложения обнаруживаются в больших количествах в реках, озёрах, аллювии, морской воде, донных отложениях морей и океанов, почве, атмосферном воздухе [2–4]. Продукты разложения синтетических полимеров модулируют распределение жирных кислот и формирование распространяющихся в пространстве концентрационных химических волн в результате метагенеза, что влияет на состав и активность микрофлоры и осложняет разложение остальных органических веществ [5–7].

В настоящее время учёные различных специальностей уделяют особое внимание действию микропластика (МП — частицы с размерами 1 мкм–5 мм) и нанопластика (НП — частицы с размерами 1–1000 нм) на здоровье человека и животных [8, 9]. МП/НП встречается даже в таких районах Земли, как Арктика и Антарктика, где отсутствует их производство. Всемирная Организация Здравоохранения пока не спешит делать какие-либо выводы о точно подтверждённом вреде микропластика, однако признаёт, что его влияние на человека и животных ещё слишком мало изучено.

Микрочастицы первичного МП специально изготавливаются небольших размеров с целью добавления их в скрабы для лица и тела, чистящие средства и т.п. Вторичный МП/НП образуется в результате физического (под действием осадков, низких и высоких температур, УФ-излучения и пр.) и биологического разрушения в окружающей среде с течением времени крупных пластиковых предметов [6, 7, 10, 11].

Микрочастицы с током воздуха поднимаются с суши и водных поверхностей и снова с атмосферными осадками попадают на землю и в во-

доёмы [12]. В реках и морях микрочастицы поглощаются морскими животными, рыбами, крабами и пр., а затем с пищей, содержащей гидробионты или морскую соль, оказываются в кишечнике человека [13]. МП/НП попадают в организм человека с водопроводной и бутилированной водой, морепродуктами, напитками, молоком, фруктами, овощами [14].

МП/НП обнаруживаются в крови, моче и фекалиях людей [15]. Наиболее распространёнными компонентами загрязнения являются полиэтилен (ПЭ) и полипропилен (ПП) [16]. Воздействие МП/НП вызывает большую тревогу, так как человеческий организм постепенно становится пластифицированным. Впервые о накоплении пластиковых волокон учёные сообщили в 1998 г. В 87% из 114 образцов (контрольные препараты и образцы злокачественных новообразований) авторы обнаружили МП [17]. Микрочастицы находили в печени, селезёнке и лимфатических узлах брюшной полости у пациентов с эндопротезами тазобедренных и коленных суставов [18], в плаценте человека [19], толстом кишечнике [20]. Ежедневно человек потребляет примерно 5 г МП/НП [21]. При этом в организме младенцев микропластика значительно больше, чем у взрослых [22].

В целом, имеются убедительные доказательства того, что накопление и воздействие МП/НП в тканях человека является весьма распространённым явлением. Частицы размером менее 100 мкм могут проникать через клеточные мембраны, а наночастицы размером менее 20 мкм могут перемещаться в различные органы [23].

В дополнение к прямым токсическим эффектам загрязнение МП/НП изменяет свойства микроорганизмов. Несмотря на то, что каждая отдельная частица МП/НП имеет незначительные размеры, площадь её поверхности достаточна для сорбции большого количества бактериальных и вирусных частиц. Учитывая гигантское количество частиц МП/НП, их суммарная поверхностная площадь, которая может быть покрыта сорбированными микроорганизмами, достигает колоссальных значений. При этом бактерии образуют на поверхности частиц микроплёнки, способствующие формированию у микроорганизмов множественной лекарственной устойчивости [24] и более высокой вирулентности [25], а у вирусов — большей устойчивости во внешней среде и повышению инфекционности [26]. Под воздействием течений Мирового океана [27] патогенные микроорганизмы могут оказаться в жизнеспособном состоянии далеко за пределами своих привычных ареалов.

В период пандемии COVID-19, этиологически связанной с коронавирусом тяжёлого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2 —

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (Nidovirales: Coronaviridae, *Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*) [28, 29], произошёл беспрецедентный рост производства, потребления и утилизации различных средств индивидуальной защиты (СИЗ) на основе пластика [30, 31]. В то же время, пластиковые поверхности могут быть фактором распространения, поскольку возбудитель может оставаться стабильным и жизнеспособным на полипропилене и других пластмассах — до 5–9 сут. Предполагают, что на поверхности частиц МП/НП SARS-CoV-2 может переноситься на значительные расстояния [32].

В работе авторы попытались систематизировать немногочисленные разрозненные сведения о патогенных вирусах — «путешественниках» на частицах МП/НП и об их потенциальной эпидемиологической значимости.

Пути проникновения МП/НП в организм

Небольшие размеры частиц пластика позволяют ему попадать в организм различными путями. Основным из них является пероральный (с водой и пищей, загрязнёнными МП/НП). Считают, что до 90% МП/НП удаляются выделительной системой [33]. При этом МП размером более 150 мкм, вероятно, не абсорбируется, в то время как МП размером менее 150 мкм может попадать из кишечника в лимфу и кровь и оказывать системное воздействие. По предположению учёных, только частицы размером <20 мкм (примерно 0,3% от их суммарного количества) может проникать в органы, а самая мелкая фракция (0,1–10 мкм) — проходить через гематоэнцефалический барьер и плаценту. Взаимодействие МП/НП с иммунной системой в ряде случаев может индуцировать иммуносупрессию/иммунную активацию и аномальные воспалительные процессы [34, 35].

Второй по значению путь попадания МП в организм — респираторный — обусловлен высокой концентрацией МП/НП в воздухе, на порядок превышающей его содержание в других средах [36, 37]. В частности, городская пыль, включающая микрочастицы синтетического текстиля и резиновых шин транспортных средств, загрязнённые аэрозоли от океанских и морских волн, а также переносимые по воздуху частицы, образующиеся при обеззараживании сточных вод, является источником огромного массива микрочастиц, постоянно вдыхаемых человеком. Пыль внутри помещений также является существенным источником воздействия МП/НП на человека. В организм детей, например, ежедневно проникает около 17300 нг/кг массы тела полиэтиленовых МЧ [38].

Лёгкое человека имеет довольно большую альвеолярную поверхность (около 150 м²) и очень

тонкий тканевой барьер, через который в кровотоки легко проникают частицы НП [39], образуя зоны «матового стекла». Количество волокон из НП в лёгких возрастает с увеличением возраста [37]. В тканях опухолей лёгких такие микроволокна обнаруживаются чаще, чем в нормальной ткани (в 58 и 46% случаев, соответственно). При этом НП-микроволокна, по всей вероятности, встраиваются в ткань лёгких. Это особенно актуально для респираторных бактерий и вирусов, сорбированных на частицах МП/НП, которые могут стать усугубляющим патогенез фактором и способствовать интенсификации инфекционного процесса.

До настоящего времени нет достоверных данных о проникновении МП/НП через кожные покровы в организм человека [40]. Вместе с тем, результаты исследования Р. К. Cheung, L. Fok [41] показали, что плотность микрошариков в скрабах для лица варьируется от 5219 до 50393 частиц в 1 г, в среднем, 20860 частиц/г. Воздействие этого микропластика на кожу может вызвать микро-травмы и открыть путь для проникновения бактерий, вирусов и самих микрочастиц. Прикрепление полиэтиленовых НП к кератиноцитам способствует образованию белковой короны вокруг частиц, что может запустить процесс пиноцитоза. Р. М. Gopinath и соавт. [42] установили, что как однократное, так и многократное воздействие НЧ приводило к опосредованному окислительным стрессом подавлению роста кератиноцитов и ингибированию их пролиферации.

Методы идентификации микро- и нанопластика

Для определения химической характеристики микропластика в настоящее время используют инфракрасную спектроскопию с преобразованием Фурье (FT-IR) и рамановскую спектроскопию [43, 44]. Гидродинамический диаметр, дисперсность частиц, дзета-потенциал и электрофоретическую подвижность наночастиц можно оценить с помощью динамического рассеяния света. О структуре частиц пластика можно получить информацию при помощи пиролизной газовой хроматографии. Идентификацию проводят путём сравнения со стандартными спектрами или пирограммами пластика [45]. Комбинация просвечивающей электронной микроскопии, сканирующей электронной микроскопии с энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией может быть использована для анализа дисперсности, морфологии и состава наночастиц [43, 44]. Вместе с тем, необходимо дальнейшее совершенствование методов для определения характеристик наночастиц из реальной, а не моделированной окружающей среды.

Микропластик — переносчик патогенов. МП/НП рассматривают в настоящее время как но-

вый переносчик патогенов на большие расстояния в водной и воздушной системах. Микропластик обладает более высокой плавучестью и транспортабельностью, чем другие микрочастицы (например, древесина, песок и пр.). В связи с этим МП/НП представляет больше возможностей для распространения патогенов на значительные расстояния и возникновения вспышек инфекционных заболеваний. Бóльший эпидемический риск МП/НП по сравнению с частицами иной природы обусловлен следующими факторами:

- МП не поддаётся деградации и долго сохраняется во внешней среде;
- благодаря гидрофобной природе МП может легко адсорбировать органические и неорганические соединения, обеспечивая питание для носителей вирусов;
- низкая плотность МП делает микропластики более подвижными в воде, что хорошо обеспечивает биоплёнку питательными веществами.

Взаимодействие микроорганизмов с этим плавучим и стойким субстратом может способствовать их выживаемости и сохранению инфекционности в окружающей среде [46]. Например, в пресной воде ротавирус SA11 может выживать на МП до 2 дней [47]. Ротавирусы (RV — Rotaviruses) (Reovirales: Reoviridae, *Rotavirus*), вирус гепатита А (HVA — Hepatovirus A) (Picornavirales: Picornaviridae, *Hepatovirus*) и норовирусы (NoV — Noroviruses) (Picornavirales: Caliciviridae, *Norovirus*) в больших количествах выделяются с фекалиями инфицированных людей и обычно обнаруживаются в неочищенных сточных водах, иле или поверхностных водах, куда поступают очищенные стоки [48–50]. Многие респираторные вирусы — ортомиксовирусы (Articulavirales: Orthomyxoviridae), парамиксовирусы (Mononegavirales: Paramyxoviridae), коронавирусы (Nidovirales: Coronaviridae) — тоже обнаруживаются в стоках [51, 52]. Основными механизмами адгезии вирусов к абиотическим поверхностям являются электростатические взаимодействия и гидрофобные свойства [53]. Как показали V. Moresco с соавт. [26], вирусы могут взаимодействовать с микрочастицами в сточных или поверхностных водах либо непосредственно с поверхностью пластика, либо путём взаимодействия с внеклеточной полимерной матрицей в биоплёнке, что может способствовать включению вирусных капсидных белков или оболочки вируса в состав так называемой пластисферы (ПСФ).

В очищенных сточных водах концентрация патогенных для человека бактерий ниже по сравнению с входящими сточными водами [54]. Вирусы человека, особенно безоболочечные энтеровирусы, менее восприимчивы к процессам инактивации (УФ-облучение, хлор, озон) [55]. Такая высокая устойчивость вирусов на очистных

сооружениях может способствовать их контакту с компонентами биоплёнки на пластиковых поверхностях [56], которая является, вероятно, главным фактором связывания вирусов с пластиком [26].

Образование биоплёнки (ПСФ) на МП/НП

Большинство исследований, касающихся пластисферы на МП/НП, посвящено бактериям и грибам. Однако не менее важная проблема — роль микропластика и ПСФ в распространении патогенных вирусов.

По сравнению со взвешенными вирусными частицами, прикрепившиеся к микропластику микроорганизмы выживают дольше на частицах, которые защищают их от воздействия хлора, озона и ультрафиолетового излучения [59].

Численность, таксономический состав и геномные особенности вирусов были определены для водных источников различных регионов: от пресноводных рек до морских глубин, от Антарктики до Северного Ледовитого океана [60]. Однако такая специфическая ниша, как пластисфера, населённая, как уже показано, не только бактериями, но и вирусами, до настоящего времени практически не изучена. Исследование её вирусной контаминации только начинается.

R. Li и соавт. [61] с помощью метагеномного секвенирования и биоинформационного анализа исследовали состав вирусных сообществ на МП и оценили экологический риск пяти наиболее часто используемых пластмасс. Для этого в разных местах реки были размещены специальные устройства, содержавшие микрочастицы из различных видов пластика: полиэтилена (ПЭ), полипропилена (ПП), полистирола (ПС), полиэтилена-волокна (ПВ) и полиэтиленовые волокна (ПВВ). В устройствах в составе пластисферы были обнаружены разнообразные вирусные сообщества. Доминирующими таксонами на уровне семейства были представители отряда Caudovirales — *Myoviridae*, *Siphoviridae* и *Podoviridae* — на долю которых приходилось 32,8, 26 и 8,32%, соответственно, от общего числа всех вирусов. На основании проведённых исследований авторы показали, что МП является важным вектором прикрепления и распространения вирусов. Самым высоким вирусным разнообразием и высоким риском для окружающей среды из пяти исследованных МП характеризовался полипропиленовый. Состав вирусных ДНК в ПП сопоставим с таковым в морских и пресноводных экосистемах. Роль ПП в распространении вирусов значительна, поскольку это один из преобладающих материалов, из которого делают медицинские маски и который весьма широко распространён повсеместно. При попадании в воду и образовании микропластиков

создаёт потенциальную возможность заражения вирусами, в том числе, SARS-CoV-2, сохраняющемся на пластике маски. ПП считается важным объектом заселения вирусами в водных экосистемах [61, 62].

Бактерии и вирусы часто занимают одни и те же ниши [63]. Та же картина наблюдается и на микрочастицах пластика, где происходит взаимодействие между этими микроорганизмами. Существует два типа взаимодействия, наблюдающиеся при бактериально-вирусных заболеваниях. Прямые взаимодействия способствуют развитию вируса, при этом вирус использует бактериальный компонент для облегчения проникновения в клетку. Непрямое (косвенное) взаимодействие приводит к усилению бактериального патогенеза вследствие развития вирусной инфекции. Энтеновирусы, например, используют прямой путь, а респираторные — косвенный.

М.-J. Gagne и соавт. [64] исследовали связь между кишечными вирусами (вирусом гепатита А и ротавирусами) и бактериальными биоплёнками, сформированными на разных поверхностях, в том числе полистироловой, контактирующими с пищевыми продуктами. Эти вирусы являются основной причиной вспышек болезней пищевого происхождения. Вирусы не размножаются в пищевых продуктах, поэтому в процессе обработки и хранения уровень загрязнения вирусами не увеличивается. Однако для возникновения болезни требуется небольшая доза вирусных частиц, а кишечные вирусы достаточно устойчивы к дезинфицирующим средствам, а также определённое время сохраняются на поверхностях и могут передаваться по пищевой цепи. Бактериальные биоплёнки могут длительное время сохраняться на различных поверхностях, в том числе на пластике [65] и в ряде случаев могут содержать патогенные бактерии: *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus* spp., патогенные штаммы *E.coli* и др. *In vivo* кишечные вирусы всегда сосуществуют с бактериями. Ряд работ свидетельствует о том, что присутствие определённых бактерий в кишечном тракте хозяина способствует развитию полиовирусной, норовирусной, ротавирусной инфекций [66–68]. Норовирус и ротавирус обладают способностью связываться с определёнными штаммами бактерий — *E.cloacae*, *E.coli* Nissle и некоторыми молочнокислыми бактериями — *L.rhamnosus*, *B.bifidum* и др., которые кроме присутствия в желудочно-кишечном тракте, могут обнаруживаться на пластиковых поверхностях в виде биоплёнок на пищевых предприятиях [69, 70].

М.-J. Gagne и соавт. [64] показали, что наличие биоплёнки на полистироловых поверхностях способствует адгезии кишечных вирусов. В присутствии бактерий *Pseudomonas fluorescens*, напри-

мер, в 7000 раз увеличивалась скорость прикрепления ротавируса к пластиковой поверхности после 24-часовой инкубации. Увеличение числа частиц НВА наблюдалось в биоплёнках, образованных молочнокислыми бактериями. Менее всего было влияние биоплёнок на прикрепление норовируса. В этих экспериментах был использован не микропластик, а полистироловые пластинки 18×18 мм. Однако биоплёнки образуются и на микрочастицах. Важно то, что авторы показали взаимодействие кишечных вирусов с бактериальными биоплёнками на пластиковой поверхности и увеличение числа вирусных частиц при контакте с бактериями.

Роль оболочки вирусов в их взаимодействии с пластисферой

Стабильность вирусов зависит от размера и структуры вирусной частицы, в том числе, от наличия или отсутствия оболочки. V. Moresco и соавт. [47] установили, что как оболочечные, так и безоболочечные модельные вирусы (бактериофаг и ротавирус) могут прикрепляться к ПСФ. Безоболочечные вирусы связываются с биоплёнкой и в течение определённого времени успешно выживают. Инактивация оболочечных вирусов (бактериофага) происходит быстрее, чем, например ротавируса, не имеющего оболочки. Со временем стабильность прикрепившихся вирусов снижается, при этом более значительное снижение наблюдается у вирусов, полученных из водной фазы по сравнению с биоплёночными. Вирусы, прикрепившиеся к биоплёнке на МП, вступают во взаимодействие с бактериями, образующими ПСФ. Взаимодействие безоболочечных вирусов с компонентами клеточной стенки бактерий (пептидогликанами, ЛПС) сопровождается повышением инфекционности и термостабильности вирионов, как это имеет место в случае нескольких геногрупп норовируса и вируса Коксаки [63].

В работе V. Moresco и соавт. [47] исследован процесс связывания и восстановления вируса из микропластика, колонизированного биоплёнкой, с целью определения роли этого взаимодействия в обеспечении стабильности вируса и его распространения во внешней среде. Авторы использовали в экспериментах безоболочечный RV (≈80 нм в диаметре) и оболочечный бактериофаг (≈85 нм в диаметре) Phi6 (*Pseudomonas phage* Phi6) (Mindivirales: Cystoviridae, *Cystovirus*). Для оценки адгезии вирусов и извлечения их из плёнки колонизированные МП исследовали через 7 дней после начала эксперимента. Из гранул микропластика извлекались как оболочечный, так и безоболочечный вирусы. При этом инактивация оболочечного вируса была относительно выше, чем

безоболочечного. Обнаружение генома ротавируса как в воде, так и в биоплёнке оставалось стабильным весь период наблюдения. Выделение инфекционных вирусов из колонизированных гранул свидетельствует об опасности, угрожающей человеку, при попадании инфицированного пластика в дыхательные пути или желудочно-кишечный тракт. Подобно бактериям, вирусы иногда могут образовывать плёнки, отличающиеся большей устойчивостью, чем свободные вирусные частицы. Так, энтеровирусы связываются с МП/НП, образуя плёнку, которая увеличивает продолжительность жизни этих патогенов [47].

Синергизм патогенетического действия МП/НП и вирусов

В литературе последних лет представлено достаточно много результатов экспериментальных работ, касающихся действия МП/НП на органы и системы различных животных. Однако они зачастую несопоставимы и носят противоречивый характер, что объясняется разными условиями опытов, разными моделями, различными по химическому составу МП/НП, их размерами и дозировками. В ряде работ сделаны попытки определить значение микропластика в развитии различных патологических процессов у людей. Материалов, касающихся влияния на организм микропластика, инфицированного вирусами, немного.

Q. Wang и соавт. [71] и C. Gonzalez-Fernandez и A. Cuesta [72] исследовали, влияют ли МП/НП на характер и течение вирусной инфекции у оранжево-пятнистого морского окуня (*Epinephelus coioides*), который широко культивируется в Китае и странах Юго-Восточной Азии. Большой ущерб аквакультуре этих рыб наносят иридовирус сингапурского морского окуня (SGIV — Singapore grouper iridovirus) (Pimascovirales: Iridoviridae, *Ranavirus*) и вирус некроза нервной ткани красного морского окуня (RGNNV — Red grouper nervous necrosis virus) (Mononegavirales: Rhabdoviridae, *Novirhabdovirus*). Органом-мишенью SGIV является селезёнка, в ткани которой вирус вызывает кровоизлияния. RGNNV вызывает ретинопатию и энцефалопатию, разрушая, в основном ткани головного мозга и обуславливая тяжёлые системные нарушения. Оба вируса обуславливают высокую смертность — примерно 90% рыб гибнет от этих болезней. Учёные, разрабатывающие эту проблему, считают, что определённый вклад в усиление патологического процесса вносит МП/НП, который в настоящее время обнаруживают в организме этих рыб.

Так, C. Gonzalez-Fernandez и A. Cuesta [72] в течение 24 ч подвергали воздействию функционализированных ПС-частиц (ПС-NH₂; ПС-COOH)

НП (1 мкг/мл) линию клеток головного мозга рыб (SAB-1), после чего инфицировали клетки вирусом. В клетках, обработанных НП, титр вируса был примерно в 10 раз выше, чем в контрольных культурах. Транскрипция воспалительных и противовирусных маркеров в клетках, подвергшихся действию микрочастиц, была снижена по сравнению с контролем (клетки, заражённые вирусом и не обработанные НП). В экспериментах *in vivo* при внутрибрюшинном введении НП и заражении вирусом происходило увеличение репликации вируса в организме, и наблюдалась гибель рыб. Воспалительная и противовирусная реакции также, как и *in vitro*, были снижены.

Клетки линии селезёнки молоди оранжевого морского окуня GS-1 поглощали ПС-НП при концентрациях 5, 50 и 500 мкг/мл [71]. В дозах 50 и 500 мкг/мл НП оказывали на клетки токсическое действие. Через 12 ч после начала воздействия частиц в дозе 50 мкг/мл репликация RGNNV и SGIV в клетках GS-1 увеличивалась. Воздействие наночастиц ускоряло репликацию SGIV в селезёнке и RGNNV в головном мозге молоди рыб. Кроме того, действие на рыб НП снижало экспрессию генов TLR и генов, связанных с выработкой интерферона до- и после вирусной инвазии *in vivo* и *in vitro*, а также снижало устойчивость клеток и тканей рыб к репликации вируса, т. е. наночастицы полистирола снижали устойчивость гидробионтов к патогенным вирусам.

Y. Deng и соавт. [73] исследовали возможное влияние МП на медоносных пчёл. В организме насекомых при помощи рамановской спектроскопии было обнаружено четыре типа МП, включая полистирол. При этом большое количество МП обнаруживалось в средней кишке. Присутствие пластика повышало восприимчивость насекомых к вирусным инфекциям, в частности, к израильскому вирусу острого паралича (IAPV — Israeli acute paralysis virus) (Picornaviridae: Dicistroviridae, *Aparavirus*), инфицирование которым приводит к значительному сокращению пчелиного роя [48]. Гистологический анализ показал, что полистироловые частицы, особенно имеющие размер 0,5 мкм, повреждали ткани средней кишки пчёл, затем поступали в гемолимфу, трахею и мальпигиевы каналы. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что негативное антропогенное влияние в этой области может представлять опасность для пчеловодства и для производства мёда, поскольку это ведёт к сокращению пчёлосемей. И, разумеется, присутствие МП/НП в составе мёда напрямую снижает его потребительские свойства.

На мышинной модели инфекции, вызванной артритогенным вирусом Чикунгунья (CHIKV — Chikungunya virus) (Martellivirales: Togaviridae, *Alphavirus*), было исследовано влияние МП на течение

ние артрита [74]. Заболевание сопровождается сильной преходящей вирусемией, инфекционным артритом и саморассасывающимся отёком стопы, с обширным, преимущественно моноклеарным воспалительным инфильтратом [75, 76]. Артрит обусловлен, в основном, Т-лимфоцитами T1 CD4 и, в меньшей степени — NK-клетками [77, 78]. Употребление МП с питьевой водой в течение 8 нед. вызывало длительное течение артрита у мышей с СНИKV-инфекцией. В качестве МП использовали гранулы сефадекса размером 1 мкм, нагруженные флуоресцентным красителем. Пероральная доза микрочастиц для мыши, использованная авторами, была сравнима с нижним пределом предполагаемого потребления МП человеком. Усиление воспаления суставов, по мнению D. J. Rawle и соавт. [74], связано с воспалительными изменениями в кишечнике, вызванными МП. Картина напоминала энтеропатический артрит [79, 80].

L. Lu и соавт. [81], используя в качестве носителя полистироловый МП, а в качестве вирусной модели — бактериофаг *E.coli* T4 (Caudovirales: Myoviridae, *Tequatrovirus*), показали, что на МП адсорбируются до 98,6±0,2% добавленных вирусов, при этом степень адсорбции зависит от размера частиц и функциональных свойств поверхности микропластика. Этот факт был подтверждён инфракрасной спектроскопией с преобразованием Фурье и конфокальной микроскопией с флуоресцентной меткой. Полистирол был выбран авторами в связи с тем, что он имеет плотность 1,04–1,11 г/см³ и находится в воде во взвешенном состоянии. Адсорбционную способность пластика повышала обработка его ультрафиолетом (модель старения пластика). Обработанные УФ и не подвергшиеся воздействию УФ МП значительно продлевали инфекционность адсорбированных вирусов даже при повышении температуры. Основным механизмом адсорбции вируса было электростатическое взаимодействие.

Микропластик стабилизирует структуру SARS-CoV-2 и может быть его носителем в воде и воздухе, способствуя проникновению в пищеварительный тракт и органы дыхания человека. Выживаемость коронавируса во внешней среде считают относительно высокой [29, 30, 32]. О возможности проникновения вируса SARS-CoV-2 в организм человека с участием МП свидетельствуют исследования L. F. Amato-Lourenco и соавт. [37]. Поскольку основным способом передачи SARS-CoV-2 является аэрозольный, авторы определяли количество РНК вируса и МП, присутствующих в воздухе, в общем количестве взвешенных частиц. Образцы воздуха были собраны в районе, расположенном рядом с одним из крупных медицинских центров Латинской Америки во время пандемии COVID-19. МП измеряли количественно и под флуоресцентным микроско-

пом. Полимерный состав определяли с помощью инфракрасной микроспектроскопии с преобразованием Фурье. Вирусную нагрузку измеряли при помощи ПЦР в реальном времени. Результаты оказались весьма интересными и информативными. Пробы воздуха дали положительный результат на SARS-CoV-2 в 22 из 38 образцов, взятых с 3 участков местности. 80% микрочастиц принадлежали к полиэстеру. Общее количество МП показало положительную корреляцию с количеством генов оболочки вируса и отрицательную — с температурой и влажностью воздуха.

В других исследованиях было определено содержание SARS-CoV-2 в воздухе в больничных условиях [82]. Образцы воздуха собирали в отделениях интенсивной терапии и в общих палатах. Результаты исследования показали, что 35 и 12,5%, соответственно, образцов воздуха были загрязнены вирусом, и что возбудитель может перемещаться по воздуху с максимальной передачей на расстояние примерно 4 метра от источника. SARS-CoV-2 в виде аэрозоля может связываться с МП (его достаточно много в воздухе) и проникать в органы дыхания человека. Полагают, что вирусы размещаются в ПСФ на поверхности частиц [26] и могут переноситься с ними на большие расстояния. Отношение площади поверхности к объёму частиц очень велико, что делает их хорошими сорбентами загрязняющих веществ и вирусов [32].

Методы *in silico* являются новым эффективным подходом к выяснению механизмов взаимодействия вирусов с МП/НП [83, 84]. Этот метод оказался удобным инструментом для изучения взаимодействия между МП/НП и SARS-CoV-2. В связи с этим значительный интерес представляет работа E. Zhang и соавт. [85]. Авторы использовали молекулярно-динамическое моделирование для исследования молекулярных взаимодействий между 5 различными МП и фрагментами РНК SARS-CoV, SARS-CoV-2 и вируса гепатита В (HBV — Hepatitis B virus) (Blubervirales: Hepadnaviridae, *Orthohepadnavirus*) в воздушной среде, вакууме и в водной фазе. Было установлено, что аффинность взаимодействия микрочастиц с фрагментом РНК SARS-CoV-2 была более сильной, чем взаимодействие с двумя другими вирусами независимо от окружающей среды, температуры и типа пластика. Механизмы взаимодействия между микрочастицами и фрагментом РНК SARS-CoV-2 включали электростатические и гидрофобные процессы, а аффинность взаимодействия была связана со структурными параметрами мономеров МП.

Повышение инфекционности псевдовirusа SARS-CoV-2, адсорбированного на микропластике, сопровождалось увеличением экспрессии генов воспалительных маркеров: каспазы-3, IL-8 и TNFα [85]. Фрагмент РНК SARS-CoV-2, иммобили-

лизированный на МП/НП, становится причиной продления присутствия вирусной РНК в окружающей среде. Известно, что человек подвергается воздействию микропластика через воздух, и сильное взаимодействие МП с генным материалом SARS-CoV-2, по-видимому, играет роль в развитии и характере течения COVID-19. Попадание коронавируса в пластисферу микрочастиц пластика можно считать чрезвычайно важным процессом, в значительной степени обуславливающим глобальную экологическую ситуацию, связанную с обсеменением МП/НП.

Частицы МП/НП могут перемещаться по воздуху, а также по водным магистралям на большие расстояния и заражать людей на новых территориях. Глубокое изучение этих путей передачи может дать ответ на вопрос, почему появляется заболеваемость в регионах и населённых пунктах, где не было источника заражения — больного человека.

Влияние микро- и нанопластика на распространение арбовирусов

Нельзя не упомянуть ещё один важный аспект влияния МП/НП на заболеваемость вирусными инфекциями. Накопление и загрязнение МП/НП может напрямую влиять на арбовирусы, передаваемые кровососущими комарами (Diptera: Culicidae), создавая благоприятные условия жизни на нём. Например, *Aedes aegypti*, переносящие широкий спектр арбовирусов, например, CHIKV, денге (DENV — Dengue virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*), жёлтой лихорадки (YFV — Yellow fever virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*), Западного Нила (WNV — West Nile virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*), Зика (ZIKV — Zika virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*), являются антропофильными и развиваются в скоплениях мусора (пластиковых контейнерах, шинах, пластиковых бутылках, чашках и других ёмкостях) и встречаются рядом с домохозяйствами [48, 86]. По данным O. J. Brady и S. I. Hay [87], в настоящее время более половины населения мира подвержены риску заражения переносимыми комарами *Aedes* вирусами, поскольку пластиковый мусор может влиять на передачу инфекции. Пластиковые отходы делают местом обитания своих половозрелых стадий переносчики вирусов японского энцефалита (JEV — Japanese encephalitis virus) (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*), Синдбис (SINV — Sindbis virus) (Martellivirales: Togaviridae, *Alphavirus*), Гера (GTV — Getah virus) (Martellivirales: Togaviridae, *Alphavirus*) и серогруппы калифорний-

ского энцефалита (CEV — California encephalitis virus) (Bunyavirales: Peribunyaviridae, *Orthobunyavirus*): Инко (INKV — Inkoo virus), Тягиня (TAHV — Tahina virus), зайца-беляка (SHV — Snowshoe hare virus), Хатанга (KHATV — Khatanga virus) [48, 88]. Пластиковые отходы и микропластик почти не поддаются биологическому разложению и могут оставаться во внешней среде длительное время, способствуя размножению переносчиков вирусных болезней и переносу их в другие регионы с водой и потоками воздуха.

Влияние МП/НП на проницаемость естественных барьеров — входных ворот для патогенных вирусов

Снижение проницаемости естественных барьеров организма и воспалительный процесс, которые способны спровоцировать МП/НП, могут создавать благоприятные условия для проникновения вирусов. В литературе достаточно много работ, касающихся этого вопроса. Так, показано, что попадая в ротовую полость с пищевыми продуктами, водой и вдыхаемым воздухом, микропластик может наносить повреждения клеткам ротовой полости. S. Caputi и соавт. [89] продемонстрировали токсическое действие МП/НП различного размера на культуру фибробластов — основных клеточных элементов эпителия дёсен человека [90]. Воздействие частиц приводило к снижению выживаемости клеток и увеличению уровня провоспалительных маркеров, что авторы связывают с развитием в фибробластах окислительного стресса [89].

Уникальная защитная способность гелеобразной слизи, выстилающей желудочно-кишечный тракт на всём протяжении, обусловлена, в частности, высоким содержанием гликопротеинов, которые непрерывно синтезируются одноклеточными железами — бокаловидными клетками (мукоцитами) слизистой оболочки кишечника [91]. Однако функция этих клеток может быть нарушена микрочастицами МП/НП [92]. Показано, что при воздействии введённых мышам перорально полистироловых МП двух разных размеров (0,5 и 50 мкм в диаметре, 100 и 1000 мкг в течение 5 нед.) снижалась секреция слизи и уровень транскрипта основного гена, связанного с экспрессией муцина MUC1 в толстом кишечнике при действии обоих образцов микрочастиц, что свидетельствовало о нарушении барьерной функции слизистой оболочки. Об уменьшении слоя муцина под действием МП сообщают также Y. Jin и соавт. [93], H. Sun и соавт. [94]. Дефекты слизистой барьера могут при-

водить к повышению проницаемости и воспалительному процессу в кишечнике [95]. Однако даже если слизистый слой нарушен, это не всегда означает, что кишечник проницаем для патогенов. Эпителиальные клетки сами образуют физический барьер, работающий в обе стороны. Он защищает от патогенов и в то же время не даёт просачиваться важным компонентам организма в просвет кишки. Барьерная функция поддерживается за счёт крепкой связи клеток, что обеспечивается плотными соединениями — белками ZO-1 и окклюдина [96]. Но и здесь вмешиваются микропластики. НП может значительно подавлять экспрессию и ZO-1 и окклюдина, что подтверждается исследованиями действия НП размером 100 нм в дозе 20 мкг L. Lu и соавт. [92].

Основными местами захвата и перемещения частиц являются пейеровы бляшки — лимфоидная ткань тонкого кишечника — вторичный орган иммунной системы, представляющий одну из первых линий защиты организма от проникновения патогенов [97]. Эпителий в области бляшек содержит 5–10% М-клеток. МП используют транцитозную способность этих клеточных элементов для пересечения эпителиального барьера и дальнейшего проникновения. Захваченные из просвета кишечника микропластики, попав в базолатеральный «карман» М-клетки, контактируют с находящимся под эпителиальным куполом пейеровой бляшки дендритными клетками, макрофагами и моноцитами. Скопления микропластика в этой области, если он задерживается, а не разносится по организму, значительно снижает уровень иммунного надзора местного иммунитета [35] и создаёт возможность проникновения в организм вирусов.

S. Yang и соавт. [98] продемонстрировали патологические изменения в эпителиальных клетках лёгких человека под действием полистироловых НП. Авторы использовали в экспериментах два типа эпителиальных клеток дыхательных путей:

бронхиальный эпителий и лёгочные альвеолярные эпителиальные клетки человека. Нанопластик значительно снижал жизнеспособность клеток, при этом эффект зависел от дозы. Метод микроципирования позволил установить, что 770 генов (при дозе воздействия 7,5 мкг/см²) и 1951 ген (при дозе воздействия 30 мкг/см²) были изменены по сравнению с контрольной группой. Главную роль в повреждении клеток дыхательных путей человека играет окислительный стресс, который провоцируют микропластики. Таким образом, полистироловые (и, по всей вероятности, микропластики пластика иной химической природы) нарушают окислительно-восстановительный баланс в клетках дыхательных путей, запускают пути апоптоза, вызывают воспалительный процесс, обуславливая тем самым патологические изменения в клетках и в зависимости от тяжести процесса — их гибель. Такие «подготовленные» дыхательные пути становятся беззащитными перед респираторными вирусами.

Заключение

МП/НП являются хорошими сорбентами различных оболочечных и безоболочечных вирусов, новым вектором их распространения на большие расстояния. Существование в составе пластисферы и репликация в биоплёнке, по-видимому, ускоряет обмен генами между разными видами вирусов. В связи с этим во внешней среде могут бесконтрольно формироваться новые геноварианты с повышенной инфекционностью и более высокой устойчивостью к существующим лекарственным препаратам. Пока ещё мало материалов, касающихся «путешествующих» на МП и НП вирусов. Однако то, что уже представлено в литературе, требует пристального внимания учёных различных специальностей к междисциплинарной разработке этой проблемы в связи с её важнейшим значением для человечества.

Литература/References

1. Sul I., Labrenz M. Microplastics into the anthropocene. In: Roca-Santos, T., Costa M., Mouneyrac C. (eds). Handbook of microplastics in the environment. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-030-10618-8_25-2.
2. Padervand M., Lichtfouse E., Didier R., Wang C. Removal of microplastics from the environment. A review. Environmental Chemistry Letters. 2020; 18: 807–828. doi: <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00983-1>.
3. Fang C., Zheng R., Hong F. et al. Microplastics in three typical benthic species from the Arctic: occurrence, characteristics, sources and environmental implications. Environmental Research. 2021; 182: 110326. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110326>.
4. Dusacre E., Bourciquet-Gonzales J. Are bacteria and viruses associated with microplastics? A one health challenge. One Health Newsletter; 2022; 14 (1).
5. Вавилин В.А., Шchelkanov М.Ю., Локишина Л.Я. Влияние диффузии жирных кислот в водной среде на распространение концентрационных волн при разложении твёрдых бытовых отходов. Водные ресурсы. 2001; 28 (6): 756–762. [Vavilin V.A., Shchelkanov M.Yu., Lokshina L.Ya. Vliyaniye diffuzii zhirnykh kislot v vodnoy srede na rasprostraneniye kontsentratsionnykh voln pri razlozhenii tverdykh bytovykh otkhodov. Vodnye Resursy. 2001; 28 (6): 756–762. (in Russian)]
6. Vavilin V.A., Shchelkanov M.Yu., Rytov S.V. Effect of mass transfer on concentration wave propagation during anaerobic digestion of solid waste. Water Res. 2002; 36 (9): 2405–2409. doi: 10.1016/S0043-1354(01)00454-7.
7. Vavilin V.A., Shchelkanov M.Yu., Lokshina L.Y. et al. A comparative analysis of a balance between the rates of polymer hydrolysis and acetoclastic methanogenesis during anaerobic digestion of solid waste. Water Science and Technology. 2002; 45 (10): 249–254.
8. Costa J.P., Santos P.S.M., Costa A.D., Rocha-Santos T. Nanoplastics in the environment—sources, fates and effects. Sci Total Environ. 2016; 566–567: 15–26. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.041.
9. Boucher J., Friot D. Primary microplastics in the oceans: a global evaluation of sources. Gland, Switzerland: IUCN. 43 pp. doi: <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.01en>.
10. Ефимова И.В., Чубаренко И.П. Фрагментация пластикового мусора в прибойной зоне моря: лабораторный эксперимент на примере пенополистирола. Изв. Саратовского университета. Нов. сер. Сер. Науки о земле. 2018; 18 (1):10–13. [Efimova I.V., Chubarenko I.P. Fragmentatsiya plastikovogo musora v pribojnoy zone morya: laboratornyy eksperiment na primere penopolistirola. Izv. Saratovskogo Universiteta. Nov. Ser. Ser. Nauki o Zemle. 2018; 18 (1):10–13. (in Russian)]

11. Thompson R.C., Napper I. Microplastics in the environment. From the Book: Microplastics in the environment. 2019. doi: 10.1039/9781788013314-00060.
12. Cai L., Wang J., Peng J. et al. Characteristic of microplastics in the atmospheric fallout from Dongguan city, China: preliminary research and first evidence. *Environ Sci Pollut* 2017; Res. 24: 24928–24935. doi: 10.1007/s11356-017-0116-x.
13. Wibowo A.T., Nugrahapraja H., Wahyuno R.A. et al. Microplastic contamination in the human gastrointestinal tract and daily consumables associated with an Indonesian farming community. *Sustainability*. 2021; 13: 12840. doi: 10.3390/su132212840.
14. Kumar R., Manna C., Padha S. et al. Micro(nano) plastics pollution and human health: how plastics can induce carcinogenesis to humans? *Chemosphere*. 2022; 298: 134267. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134267.
15. Campanale C., Massarelli C., Savino L. et al. A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17 (4): 1212. doi: 10.3390/ijerph17041212.
16. Karaagac E., Koch T., Archodoulaki V.-M. The effect of contamination in recycled high-density polyethylene (rPE-HD) from post-consumer bottle waste and their compatibilization with olefin block copolymer (OBC). *Waste Management*. 2021; 119: 285–294. doi: 10.1016/j.wasman.2020.10.011.
17. Pauly J.L., Stegmeier S.J., Allaart H.A. et al. Inhaled cellulosic and plastic fibers found in human lung tissue. *Cancer Epidemiol. Prev Biomarkers*. 1998; 5: 419–428.
18. Urban R.M., Jakobs J.J., Tomlinson M.J. et al. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *JBJS*. 2000; 82 (4): 45. doi: 10.2106/00004623-200004000-00002.
19. Ragusa A., Svelato A., Santacroce C. et al. Plasticenta: first evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*. 2021; 146: 106274. doi: 10.1016/j.envint.2020.106274.
20. Ibrahim J.S., Anuar S.T., Azmi A.A. et al. Detection of microplastics in human colectomy specimens. *JGH Open. J. of gastroenterology and hepatology*. 2021; 5 (1): 116–121. doi: 10.1002/jgh3.12457.
21. Senathirajah K., Attwood S., Bhagwat G. et al. Estimation of the mass of microplastics ingested — a pivotal first step towards human health risk assessment. *J Hazard Mater*. 2021; 404 (B): 124004. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124004.
22. Liu S., Lin G., Liu X. et al. Detection of various microplastics in placentas, meconium, infant feces, breastmilk and infant formula: a pilot prospective study. *Sci Total Environ*. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158699.
23. Kannan K., Vimalkumar K. A review of human exposure to microplastics and insight into microplastics as obesogens. *Front Endocrinol*. 2021; 724989. doi: 10.3389/fendo.2021.724989.
24. Loiseau C., Sorci G. Can microplastics facilitate the emergence of infectious diseases? *Sci Total Environ*. 2022; 823: 153694. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153694.
25. Hansen P., Borgen K., Junger-Leif A., Haas A. Laboratore plasticware induces expression of a bacterial virulence factor. *Research Article*. 2022; 7 (5): e00311–22. doi: 10.1128/msphere.00311-22.
26. Moresco V., Oliver D.M., Weidmann M. et al. Survival of human enteric and respiratory viruses on soil, freshwater, and marine environments. *Environ Res*. 2021; 199: 111367. doi: 10.1016/j.envres.2021.111367.
27. Roemmich D. Physical oceanography: Super spin in the southern seas. *Nature*. 2007; 449 (7158): 34–35. doi: 10.1038/449034a.
28. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г. и др. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidivirales: Coronaviridae). *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10 (2): 221–246. doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412. [Shchelkanov M.Jyu., Popova A.Jyu., Dedkov V.G. i dr. Istoriya izucheniya i sovremennaya klassifikatsiya koronavirusov (Nidivirales: Coronaviridae). *Infektsiya i Immunitet*. 2020; 10 (2): 221–246. doi: 10.15789/2220-7619-HOI-1412. (in Russian)]
29. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А. и др. COVID-19: этиология, клиника, лечение. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(3):421–445. doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473. [Shchelkanov M.Jyu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A. i dr. COVID-19: etiologiya, klinika, lechenie. *Infektsiya i Immunitet*. 2020; 10(3):421–445. doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473. (in Russian)]
30. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернобровкина Т.Я. и др. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): клинико-эпидемиологические аспекты. *Архивъ внутренней медицины*. 2020; 10 (2): 87–93. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93. [Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernobrovkina T.Ya. i dr. Novaya koronavirusnaya infektsiya (COVID-19): kliniko-epidemiologicheskie aspekty. *Arkhiv# Vnutrennej Meditsiny*. 2020; 10 (2): 87–93. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93. (in Russian)]
31. Hansen-Barkun C., Kherad O., Donovan A.A. et al. Personal protective equipment portraits in the era of COVID-19. *Eur J Intern Med*. 2022; 102: 125–127. doi: 10.1016/j.ejim.2022.05.026.
32. Enyoh C.E., Verla A.V., Verla E.N. Novel coronavirus (SARS-CoV-2) and airborne microplastics. *J. of Materials and Environmental Science*. 2020; 11 (9): 1454–1461. <https://www.jmaterenvironsci.com>
33. Smith M., Love D.C., Rochman C.M. et al. Microplastics in seafood and the implications for human health. *Curr. Envir. Health. Rpt*. 2018; 5: 375–386. doi: 10.1007/s40572-018-0206-z.
34. Lusher A.L., Welden N.A., Sobral P., Cole M. Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Anal Methods*. 2017; 9: 1346. doi: 10.1039/c6ay02415g.
35. Wright S.L., Kelly F.J. Plastic and human health: a micro issue? *Environ Sci. Technol*. 2017; 51 (12): 6634–6647. doi: 10.1021/acs.est7b00423.
36. Prata J.C. Airborne microplastics: consequences to human health? *Environ Pollut*. 2018; 234: 115–126. doi: 10.1016/j.envpol.2017.11.043.
37. Amato-Lourenco L.E., Oliveira R.C., Junior G.R. et al. Microplastics inhalation: evidence in human lung tissue. *European Respiratory J*. 2021; 58: PA1792. doi: 10.1183/13993003.congress-2021.PA1792.
38. Liu C., Li J., Zhang Y. et al. Widespread distribution of PET and PC microplastics in dust in urban China and their estimated human exposure. *Environment International*. 2019; 128: 116–124. doi: 10.1016/j.envint.2019.04.024.
39. Jud C., Clift M.D., Petri-Fink A., Rothen-Rutishauser B. Nanomaterials and the human lung: what is known and what must Swiss Med. Wkly [internet]. 2013; 143 (0910): w13758. <https://smw.ch/index/>
40. Revel M., Chatel A., Mouneyrac C. Micro(nano)plastics: a treat to human health? *Current Opinion in Environmental Science and Health*. 2018; 1: 17–23. <https://doi.org/doi:10.1016/j.coesh.2017.10.003>.
41. Cheung P.K., Fok L. Characterization of plastic microbeads in facial scrubs and their estimated emissions in Mainland China. *Water Res*. 2017; 122: 53–61. doi: 10.1016/j.watres.2017.05.053.
42. Gopinath P.M., Twayana K.S., Ravanan P. et al. Prospects on the nanoplastic particles internalization and induction of cellular response in human keratinocytes. *Part Fibre Toxicol*. 2021; 18: 35. doi: 10.1186/s12989-021-00428-9.
43. Зобков М.Б., Евсюкова Е.Е. Микропластик в морской среде: обзор методов отбора, подготовки и анализа проб воды, донных отложений и береговых наносов. *Океанология*. 2018; 58 (1): 149–157. doi: 10.7868/S0030157418010148. [Zobkov M.B., Eusjyukova E.E. Mikroplastik v morskoy srede: obzor metodov otbora, podgotovki i analiza prob vody, donnykh otlozhenij i beregovykh nanosov. *Okeanologiya*. 2018; 58 (1): 149–157. doi: 10.7868/S0030157418010148. (in Russian)]
44. Ly N.H., Kim M.-K., Lee H. et al. Advanced microplastics monitoring using raman spectroscopy with a combination of nanostructure-based substrates. *J Nanostructure Chem*. 2022; 18: 1–24. doi: 10.1007/s40097-022-00506-0.
45. Karmakar S. Particle size distribution and zeta-potential based on dynamic light scattering techniques to characterize stability and surface distribution of charged colloids. *Recent Trends in Materials: Physics and Chemistry*. 2019; <https://www.researchgate.net/publication/328577330>
46. Eckert E.M., Cesare A.D., Kettner M.T. et al. Microplastics increase impact of treated wastewater on freshwater microbial community. *Environ Pollut*. 2018; 234: 495–502. doi: 10.1016/j.envpol.2017.11.070.
47. Moresco V., Charatzidou A., Oliver D.M. et al. Binding, recovery, and infectiveness of enveloped and non-enveloped viruses associated with plastic pollution in surface water. *Environ Pollut*. 2022; 308: 119594. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119594.
48. Львов Д.К. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные болезни человека и животных. М. «МИА». 2013; 1200. [L'vov D.K. *Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye bolezni cheloveka i zhivotnykh*. Moscow. «МИА». 2013; 1200. (in Russian)]
49. Щелканов М.Ю., Суняйкин А.Б.б Коваленко Т.С., Львов Д.К. Современная таксономия пикорнавирусов (Picovirales, Picomaviridae). *Журнал для непрерывного медицинского образования*. 2015; 3: 56–68. [Shchelkanov M.Jyu., Sunyajkin A.B.b Kovalenko T.S., L'vov D.K. *Sovremennaya taksonomiya pikornavirusov (Picovirales, Picomaviridae)*. *Zhurnal dlya Nepreryvnogo Meditsinskogo Obrazovaniya*. 2015; 3: 56–68. (in Russian)]
50. Farkas K., Cooper D.M., McDonald J.E. et al. Seasonal and spatial dynamics of enteric viruses in wastewater and in riverine and estuarine receiving waters. *Sci Total Environ*. 2018; 634: 1174–1183. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.038.
51. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемиологической опасности. *Лечащий врач*. 2013; 10: 49–54. [Shchelkanov M.Jyu., Kolobukhina L.V., L'vov D.K. *Koronavirusy cheloveka (Nidovirales, Coronaviridae): vozrosshij uroven' epidemiologicheskoy opasnosti. Lechashchij Vrach*. 2013; 10: 49–54. (in Russian)]
52. Ye Y., Ellenberg R.M., Graham K.E., Wigginton K.R. Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. *Environ Sci Technol*. 2016; 50: 5077–5085. doi: 10.1021/acs.est.6b00876.

53. Dika C., Duval J.F.L., Franciuj G. et al. Isoelectric point is an inadequate descriptor of MS2, PhiX174 and PRD1 phages adhesion on abiotic surfaces. *J Colloid Interface Sci.* 2015; 446: 327–334. doi: 10.1016/j.jcis.2014.08.055. Epub 2014 Sep 6.
54. Kelly J.J., London M.G., McCormick A.R. et al. Wastewater treatment alters microbial colonization of microplastics. *PLoS One.* 2021; 16: 1–19. doi: 10.1371/journal.pone.0244443
55. Wigginton K.R., Kohn T. Virus disinfection mechanisms: the role of virus composition, structure, and function. *Curr Opin Virol.* 2012; 2 (1): 84–89. doi: 10.1016/j.coviro.2011.11.003.
56. Prado T., de Castro Bruni A., Barbosa M.R.F. et al. Performance of wastewater reclamation systems in enteric virus removal. *Sci Total Environ.* 2019; 678: 33–42. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.435.
57. Kim S.W., Rillig M.C. Research trends of microplastics in the soil environment: Comprehensive screening of effects. *Soil Ecol Lett.* 2022; 4: 109–118. doi: 10.1007/s42832-021-0077-3.
58. Visnapuu A., Gucht M.V., Wagemans J., Lavigne R. Deconstructing the phage-bacterial biofilm interaction as a basis to establish new antibiofilm strategies. *Viruses.* 2022; 14 (5): 1057. doi: 10.3390/v14051057.
59. Suran M. Microplastics are found outside in nature and inside of health risks is inconclusive. *JAMA.* 2022; 328 (10): 911–913. doi: 10.1001/jama.2022.11254.
60. Liang B., Zhong Y., Huang Y. et al. Underestimated health risks: polystyrene micro- and nanoplastics jointly induce intestinal barrier dysfunction by ROS-mediated epithelial cell apoptosis. *Part Fibre Toxicol.* 2021; 18:20; <https://doi.org/10.1186/s12989-021-00414-1>
61. Li R., Zhu L., Cui L., Zhu Y-G. et al. Viral diversity and potential environmental risk in microplastic at watershed scale: evidence from metagenomics analysis of platisphere. *Environ Internat.* 2022; 161: 107146. doi: 10.1016/j.envint.2022.107146.
62. Atanasova N.S., Roine E., Oren A. et al. Global network of specific virus-host interactions in hyphersaline environments. *Environ Microbiol.* 2012; 14 (2): 426–440. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02603.x.
63. Almand E.A., Moore M.D., Jaykus L.A. Virus-bacteria interactions: an emerging topic in human infection. *Viruses.* 2017; 9 (3): 58. doi: 10.3390/v9030058.
64. Gagne M-J., Savard T., Brassard J. Interactions between infectious food-borne viruses and bacterial biofilms formed on different food contact surfaces. *Food Environ Virol.* 2022; 14 (3): 267–279. doi: 10.1007/s12560-022-09534-z.
65. Bridier A., Sanchez-Vizuet P., Guilbaud M. et al. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiology.* 2015; 45 (Pt B): 167–178. doi: 10.1016/j.fm.2014.04.015.
66. Jones M.K., Watanabe M., Zhu S. et al. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells. *Science.* 2014; 346 (6210): 755–759. doi: 10.1126/science.1257147.
67. Moore M.D., Jaykus L.A. Virus-bacteria interactions: implications and potential for the applied and agricultural sciences. *Viruses.* 2018; 10 (2): 61. doi: 10.3390/v10020061.
68. Sullender M.E., Baldridge M.T. Norovirus interactions with the commensal microbiota. *PLoS Pathogens.* 2018; 14 (9): e1007183. doi: 10.1371/journal.ppat.1007183
69. Cai L., Wang H., Liang L. et al. Response of formed-biofilm of *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, and *Citrobacter freundii* to chlorite-based disinfectants. *J Food Science.* 2018; 83 (5): 1326–1332. doi: 10.1111/1750-3841.14149.
70. Chen Q., Zhu Z., Wang J. et al. Probiotic *E.coli* Nissle 1917 biofilms on silicone substrates for bacterial interference against pathogen colonization. *Acta Biomater.* 2017; 50: 353–360. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.011.
71. Gonzalez-Fernandez C., Cuesta A. Nanoplastics increase fish susceptibility to Nodavirus infection and reduce antiviral immune responses. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(3): 1483; doi: 10.3390/ijms23031483.
72. Gonzalez-Fernandez C., Cuesta A. Nanoplastics increase fish susceptibility to Nodovirus infection and reduce antiviral immune responses. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (3): 1483. doi: 10.3390/ijms23031483.
73. Deng Y., Jiang X., Zhao H. et al. Microplastic polystyrene ingestion promotes the susceptibility of honeybee to viral infection. *Environ. Sci Technol.* 2021. 55 (17): 11680–11692. doi: 10.1021/acs.est.1c01619.
74. Rawle D.J., Dumenil T., Tang B. et al. Microplastic consumption induces inflammatory signatures in the colon and prolongs a viral arthritis. *Sci Total Environ.* 2022; 809: 152212. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152212.
75. Gardner J., Anraku I., Le T.T., Larcher T., Major L. et al. Chikungunya virus arthritis in adult wild-type mice. *J Virol.* 2010; 84: 8021–8032. doi: 10.1128/JVI.02603-09.
76. Prow N.A., Hirata T.D.C., Tang B. et al. Exacerbation of Chikungunya virus rheumatic immunopathology by a high fiber diet and butyrate. *Front Immunol.* 2019; 10: 2736. doi: 10.3389/fimmu.2019.02736. eCollection 2019.
77. Nakaya H.I., Gardner J., Poo Y.S. et al. Gene profiling of Chikungunya virus arthritis in a mouse model reveals significant overlap with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 3553–3563. doi: 10.1002/art.34631.
78. Suhrbier A., Jaffar-Bandjee M-C., Gasque P. Arthritogenic alphaviruses—an overview. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8 (7): 420–429. doi: 10.1038/nrrheum.2012.64.
79. Farisogullari B., Yardimci G. K., San A. et al. Is the impact of biologic agents in enteropathic spondylitis different from other spondylitis? Real life data from the HUR-BIO Registry. *Clin Exp Rheumatol.* 2022 40 (1): 112–119. doi: 10.55563/clinexprheumatol/uxcofr. Epub 2021 Feb 25.
80. Gutiérrez-Gonzalez L.A., Macías E., Herrera-Vivas F. Biomarkers in enteropathic arthritis. *Ann Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020; 4: 039–044. doi: 10.29328/journal.acgh.1001021.
81. Lu L., Wan Z., Luo T. et al. Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *Sci Total Environ.* 2018; 631–632: 449–458. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.051.
82. Zhen-Dong, G., Wang Z.Y., Wang S.F. et al. Aerosol and surface distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in hospital wards, Wuhan, China, Emerg Infect Dis. 2020; 26 (7): 1583–1591. doi: 10.3201/eid2607.200885.
83. Chen X., Li X, Li Y. Toxicity inhibition strategy of microplastics to aquatic organisms through molecular docking, molecular dynamics simulation and molecular modification. *Exotoxicol Environ Saf.* 2021; 266: 112870. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112870.
84. Feng H., Liu Y., Xu Y. et al. Benzo[a]pyrene and heavy metal ion adsorption on nanoplastic regulated by humic acid: cooperation/competition mechanisms revealed by molecular dynamics simulations. *J Hazard Mater.* 2022; 424 (Pt B): 127431. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127431.
85. Zhang F., Wang Z., Vijver M.G., Peijnenburg W. J.G.M. Theoretical investigation on the interaction of microplastics with a SARS-CoV-2 RNA fragment and their potential impacts on viral transport and exposure. *Sci Total Environ.* 2022; 842: 156812. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156812.
86. Maquart P-O., Froehlich Y., Boyer S. Plastic pollution and infectious diseases. *Lancet Planet Health.* 2022; 6 (10): 842–e845. doi: 10.1016/S2542-5196(22)00198-X.
87. Brady O.J., Hay S.I. The global expansion of dengue: how Aedes aegypti mosquitoes enabled the first pandemic arbovirus. *Annu Rev Entomol.* 2020; 65: 191–208. doi: 10.1146/annurev-ento-011019-024918.
88. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology.* Amsterdam: Academic Press, 2015; 452. doi: 10.1016/C2014-0-01020-9.
89. Caputi S., Diomedea E., Lanuti P. et al. Microplastics affect the inflammation pathway in human gingival fibroblasts: a study in the Adriatic sea. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; 19 (13): 7782. doi: 10.3390/ijerph19137782.
90. Луговец Д.В., Фадеев Ф.А., Саркисян Н.Г., Меликян С.Г. Оценка возможности применения дермальных фибробластов для лечения дефектов полости рта. *Пародонтология.* 2019; 24 (1–24): 22–28. [Lugovets D.V., Fadeev F.A., Sarkisyan N.G., Melikyan S.G. Otsenka vozmozhnosti primeneniya dermal'nykh fibroblastov dlya lecheniya defektov polosti rta. *Parodontologiya.* 2019; 24 (1–24): 22–28. (in Russian)]
91. Шарапов И.Ю., Кварцхелия А.Г., Болгучева М.Б., Коротких К.Н. Функциональная морфология бокаловидных клеток тонкой кишки при действии различных факторов. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2021; 10 (2): 73–79. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-73-79. [Sharapov I.Jyu., Kvartskheliya A.G., Bolgucheva M.B., Korotkikh K.N. Funktsional'naya morfologiya bokalovidnykh kletok tonkoj kishki pri dejstvii razlichnykh faktorov. *Zhurnal Anatomii i Gistopatologii.* 2021; 10 (2): 73–79. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-73-79. (in Russian)]
92. Lu L., Wan Z., Luo T. et al. Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *Sci. Total Environ.* 2018; 631–632: 449–458. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.051.
93. Jin Y., Lu L., Tu W. et al. Impacts of polystyrene microplastic on the gut barrier, microbiota and metabolism of mice. *Sci Total Environ.* 2019; 649: 308–317. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.353.
94. Sun H., Chen O., Chen N. et al. Effect induced by polyethylene microplastics oral exposure on colon mucin release, inflammation, gut microflora composition and metabolism in mice. *Exsotoxicol Environ Saf.* 2021; 220: 112340. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112340.
95. Michielan A., D'Inca R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 628157. doi: 10.1155/2015/628157.
96. Nagpal R., Yadav H. Bacterial translocation from the gut to the distant organs: an overview. *Ann Nutr Metab.* 2017; 71 (1): 11–16. doi: 10.1159/000479918.
97. Нишанов Ю.Н., Палванова М.С., Юлдашева М.Т., Шерматов Р.М. Особенности кровоснабжения стенки тонкой кишки и его Пейеровых бляшек. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.

логия. 2020; 175 (3): 66–70. doi: 10.31146/1682-8658.ecg-175-3-66-70. [Nishanov Jyu.N., Palvanova M.S., Jyuldasheva M.T., Shermatov R.M. Osobennosti krovnosnabzheniya stenki tonkoj kishki i ego Pejerovykh blyashkek. Eksperimental' naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya. 2020; 175 (3): 66–70. doi: 10.31146/1682-8658.ecg-175-3-66-70. (in Russian)]

98. Yang S., Cheng Y., Chen Z. et al. In vitro evaluation of nanoplastics using human lung epithelial cells, microarray analysis and co-culture model. Exotoxicol Environ Saf. 2021; 226: 112837. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112837.

Информация об авторах

Андрюков Борис Георгиевич — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0003-4456-808X. Researcher ID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

Беседнова Наталия Николаевна — д. м. н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002

Запорожец Татьяна Станиславовна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории респираторных инфекций ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0002-8879-8496. Researcher ID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN-код: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

Яковлев Анатолий Александрович — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. eLIBRARY SPIN-код: 8049-7571. Scopus Author ID: 57197683046

Матосова Екатерина Владимировна — научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия. Researcher ID: J-4316-2018. eLIBRARY SPIN-код: 9527-6527. Scopus Author ID: 57194106798

Крыжановский Сергей Петрович — д. м. н., научный руководитель Медицинского объединения ДВО РАН, Владивосток, Россия. Scopus Author ID: 56105918900

Щелканов Михаил Юрьевич — д. б. н., директор «ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора; заведующий лабораторией вирусологии ФГБНУ «Федеральный научный Центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН; ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Национальный научный Центр морской биологии» ДВО РАН, Владивосток, Россия. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN-код: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.

About the authors

Boris G. Andryukov — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher at Laboratory of Molecular Microbiology, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0003-4456-808X. Researcher ID: J-3752-2018. eLIBRARY SPIN: 7757-3838. Scopus Author ID: 57191370698

Natalia N. Besednova — D. Sc. in Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher at the Laboratory of Immunology, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-2760-9778. eLIBRARY SPIN: 8931-9002

Tatyana S. Zaporozhets — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher of the Laboratory of Respiratory Infections, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0002-8879-8496. Researcher ID: Y-9425-2018. eLIBRARY SPIN: 8931-9002. Scopus Author ID: 7006805123

Anatoly A. Yakovlev — D. Sc. in Medicine, Leading Researcher at the Laboratory of Intestinal Infections, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia. eLIBRARY SPIN: 8049-7571. Scopus Author ID: 57197683046

Ekaterina V. Matosova — Researcher at the Laboratory of Intestinal Infections, Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov, Vladivostok, Russia. Researcher ID: J-4316-2018. eLIBRARY SPIN: 9527-6527. Scopus Author ID: 57194106798

Sergey P. Kryzhanovsky — D. Sc. in Medicine, Scientific Supervisor of the Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. Scopus Author ID: 56105918900

Mikhail Yu. Shchelkanov — D. Sc. in Biology, Director of the Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G. P. Somov; Head of the Laboratory of Virology of the Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences; Leading Researcher at the A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology of the Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia. ORCID: 0000-0001-8610-7623. Researcher ID: L-6164-2016. eLIBRARY SPIN: 5736-7230. Scopus Author ID: 7004251692.

Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам

С. Н. КОВАЛЬЧУК, Л. С. ФЕДОРОВА, *Е. Н. ИЛЬИНА

ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Molecular Mechanisms of Microbial Resistance to Disinfectants

SVETLANA N. KOVALCHUK, LYUDMILA S. FEDOROVA, *ELENA N. ILINA

Scientific Research Institute for Systems Biology and Medicine of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Резюме

Распространение микробной устойчивости к антимикробным препаратам, в том числе дезинфицирующим средствам, является одной из острых проблем современности, несущей биологические и экономические угрозы для всех стран. Знание механизмов формирования микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам является необходимой научной базой для поиска путей её преодоления. Несмотря на широкое использование дезинфицирующих средств, формирование микробной устойчивости к ним изучены гораздо меньше, чем к антибиотикам. В настоящем обзоре представлены данные об основных молекулярных механизмах микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам.

Ключевые слова: бактерии; дезинфицирующие средства; устойчивость; механизмы

Для цитирования: Ковальчук С. Н., Федорова Л. С., Ильина Е. Н. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68: 1–2: 45–56. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56>.

Abstract

Dissemination of microbial resistance to biocides, including disinfectants, is one of the acute problem, which poses biological and economic threats to all countries in the world. Understanding the mechanisms of microbial resistance to disinfectants is a necessary scientific basis for searching ways to overcome it. Despite the wide use of disinfectants, developing bacterial resistance to them has been less studied than to antibiotics. This review presents data on the main molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants.

Keywords: bacteria; disinfectants; resistance; mechanisms

For citation: Kovalchuk S. N., Fedorova L. S., Ilina E. N. Molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 45–56. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56>.

Дезинфицирующие средства (ДС) широко используются для неспецифической профилактики инфекций в медицинских учреждениях, на предприятиях общественного питания, пищевой промышленности, на коммунальных объектах, в образовательных учреждениях и в быту. Однако наблюдаемый уже с 1950-х годов феномен устойчивости микроорганизмов к ДС [1] приводит к резкому снижению эффективности дезинфекционных мероприятий.

Основным свойством ДС является антимикробная активность, которую обеспечивают химические соединения, входящие в их состав — действующие вещества (ДВ). Наиболее распространёнными являются ДВ из группы хлорактивных соединений, кислородоактивных соединений,

а также катионных поверхностно-активных веществ — четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), третичные алкиламины, производные гуанидина, а также альдегиды и спирты (табл. 1). В состав ДС могут входить как индивидуальные соединения, так и комплекс ДВ и вспомогательных компонентов. В отличие от антибиотиков, для ДС характерно отсутствие специфичности к какому-либо определённым молекулярным мишеням и воздействие на несколько клеточных структур, включая клеточную стенку, цитоплазматическую и наружную мембраны (см. табл. 1).

Так, АДБАХ и хлоргексидин взаимодействуют с отрицательно заряженными компонентами клеточной стенки грамотрицательных бактерий, необратимо связываются с фосфолипидами и бел-

Таблица 1. Группы ДС и их мишени
Table 1. Groups of disinfectants and their targets

Группа ДС	Дезинфицирующие вещества	Мишени	Ссылки
Четвертичные аммониевые соединения	Алкилдиметилбензиламмония хлорид (АДБАХ), цетилтриметиламмония хлорид, тетрафенилфосфоний	Цитоплазматическая мембрана	[2–4]
Производные гуанидина	Хлоргестидин, полигексаметиленгуанидин-гидрохлорид (ПГМГ-ГХ)	Цитоплазматическая мембрана, структурные белки и ферменты, липополисахариды	
Хлорактивные соединения	Хлорная известь, гипохлориты кальция и натрия, хлорамины, соли дихлоризоциануровой кислоты, дихлордиметилгидантоин	Мембранные и цитоплазматические структурные белки и ферменты	
Кислородактивные соединения	Перекись водорода, пероксигидрат фторида калия, пербораты, персульфаты, перфосфаты, перкарбонаты	Мембранные и цитоплазматические белки, ДНК и РНК	
Спирты	Этиловый, изопропиловый	Мембрана, белки, ДНК и РНК	
Фенолы	Ортофенилфенол, ортобензилпарахлорфенол	Цитоплазматическая мембрана, белки	
Альдегиды	Формальдегид, глутаровый и ортофталевый альдегид	Белки клеточной стенки и наружной мембраны, РНК и ДНК	

ками внешней и плазматической мембран, вызывая изменения их свойств и функций, за которыми следует потеря целостности клетки, что, в конечном итоге, приводит к утечке основных внутриклеточных компонентов [2, 3]. Спирты и фенолы разрушают билипидный слой мембран, а также ингибируют ферменты, участвующие в гликолизе, синтезе жирных кислот, фосфолипидов, ДНК, РНК, пептидогликана и белков. Альдегиды воздействуют на белки, ДНК и РНК, взаимодействуя с их аминными, сульфгидрильными и гидроксильными группами. Кислородактивные соединения способствуют окислению фосфолипидов и нуклеозидов, ингибированию ферментов и синтеза белков [2–4].

Молекулярные механизмы микробной устойчивости к ДС

Устойчивость бактерий к ДС определяется в основном их таксономической принадлежностью и химической природой ДВ. Различают природную, приобретённую и фенотипическую устойчивость бактерий к ДС. Природная устойчивость является постоянным генетически обусловленным видовым признаком бактерий. Под приобретённой резистентностью понимают свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при концентрациях ДС, подавляющих основную часть микробной популяции, что связано с появлением новых для них генетических детерминант резистентности [2]. Фенотипическая изменчивость не закреплена генетически и связана, в частности, с образованием биоплёнок [5]. Таксономические группы бактерий могут существенно различаться по уровню чувствительности к ДС, количественным выражением которого является величина минимальной подавляющей концентрации (МПК) [6].

Основными механизмами формирования микробной резистентности к ДС являются: 1) снижение их внутриклеточной концентрации за счёт активного выведения из клетки (эффлюкса) и 2) уменьшение проницаемости клеточной оболочки. Также приобретение резистентности к ДС может быть связано с их биodeградацией и усилением образования биоплёнок [3, 5–7].

На генетическом уровне формирование резистентности к ДС обусловлено модификациями собственного генома и/или приобретением новых генетических детерминант резистентности. Так, воздействие на бактериальную клетку сублетальных концентраций ЧАС приводит к нарушению целостности мембраны, окислительному стрессу и повреждению ДНК, что вызывает в бактериальной клетке индукцию SOS-ответа и активацию транскрипционного фактора RpoS и малой некодирующей РНК SdsR, запускающих процессы рекомбинации, репарации ДНК и мутагенеза [6, 8]. Это может привести к генетическим изменениям, связанным с активацией рекомбиназ и, как следствие, с перемещением внутри генома мобильных генетических элементов (профагов, интегративных конъюгативных элементов (ICE), интегронов, транспозонов), которые могут нести детерминанты резистентности [9], а также к увеличению скорости мутагенеза за счёт ошибок репликации и ингибирования системы репарации некомплементарных нуклеотидов [10]. Появление мутаций в генах, обуславливающих процессы выведения ДС из бактериальной клетки (гены эффлюксных насосов и их регуляторов) или их проникновения в клетку (гены поринов и их регуляторов у грамотрицательных бактерий), могут привести к формированию резистентности к ДС [3]. Приобретение путём горизонтального переноса плазмид и ICE, несущих детерминанты устойчивости, является ещё одним

распространённым механизмом формирования и распространения микробной резистентности как к ДС, так и антибиотикам [7, 9, 11, 12] (рис. 1).

Эффлюксные насосы и их регуляция

Снижение внутриклеточной концентрации ДС достигается за счёт его активного выведения из микробной клетки с помощью эффлюксных насосов. Эффлюксные насосы представляют собой трансмембранные белковые комплексы, которые широко распространены у бактерий и играют важную роль в их физиологии [13, 14]. На основе структурного сходства и особенностей функционирования эффлюксные насосы объединены в 5 суперсемейств: 1) RND (Resistance-Nodulation-Division), 2) SMR (Small Multidrug Resistance), 3) MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion), 4) MFS (Major Facilitator Superfamily), 5) ABC (ATP-Binding Cassette) (рис. 2).

Эффлюксные насосы надсемейства RND наиболее значимы в формировании резистентности к ДС и антибиотикам [12, 15] и встречаются только у грамотрицательных бактерий в силу особенностей строения их клеточной оболочки, которая, в отличие от грамположительных бактерий, имеет наружную мембрану (см. рис. 2). Детально изученным эффлюксным насосом суперсемейства RND у *Escherichia coli* и других представителей семейства Enterobacteriaceae является AcrAB-TolC [16–19], который состоит из белка наружной мембраны TolC, транспортного белка AcrB, расположенного во внутренней мембране, и периплазматического белка AcrA (см. рис. 2).

Функционирование эффлюксных насосов находится под сложной многоуровневой регуляцией, что позволяет обеспечивать активацию эффлюкса при воздействии ДС. Так, экспрессия генов *acrAB* и *tolC* эффлюксного насоса AcrAB-TolC у *E. coli* регулируется репрессором AcrR и индуктором MarA [19–22]. Транскрипция гена *acrR*

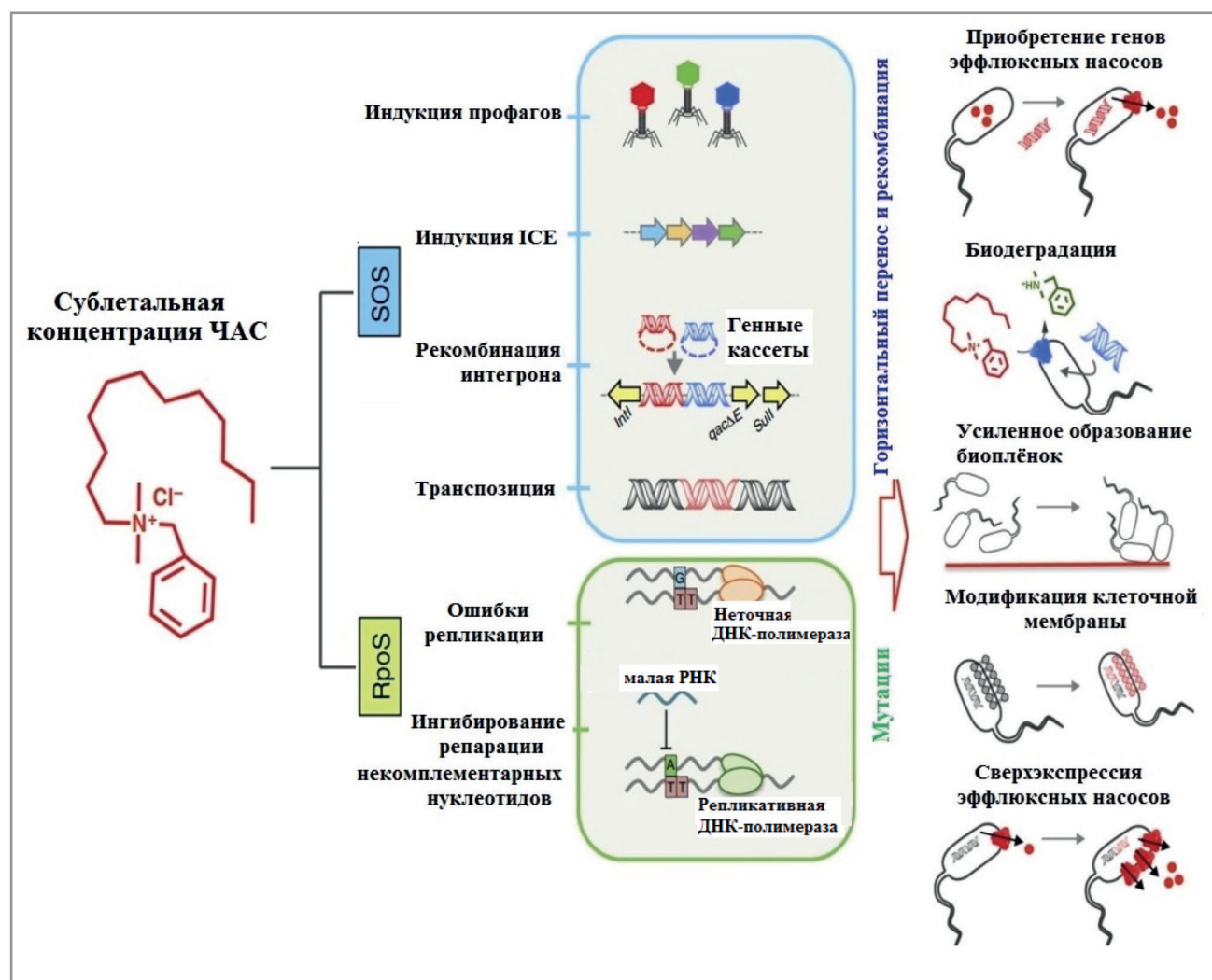


Рис. 1. Молекулярные механизмы бактериальной устойчивости к ЧАС [6].
Fig. 1. Molecular mechanisms of bacterial resistance to Q.A.C. [7].

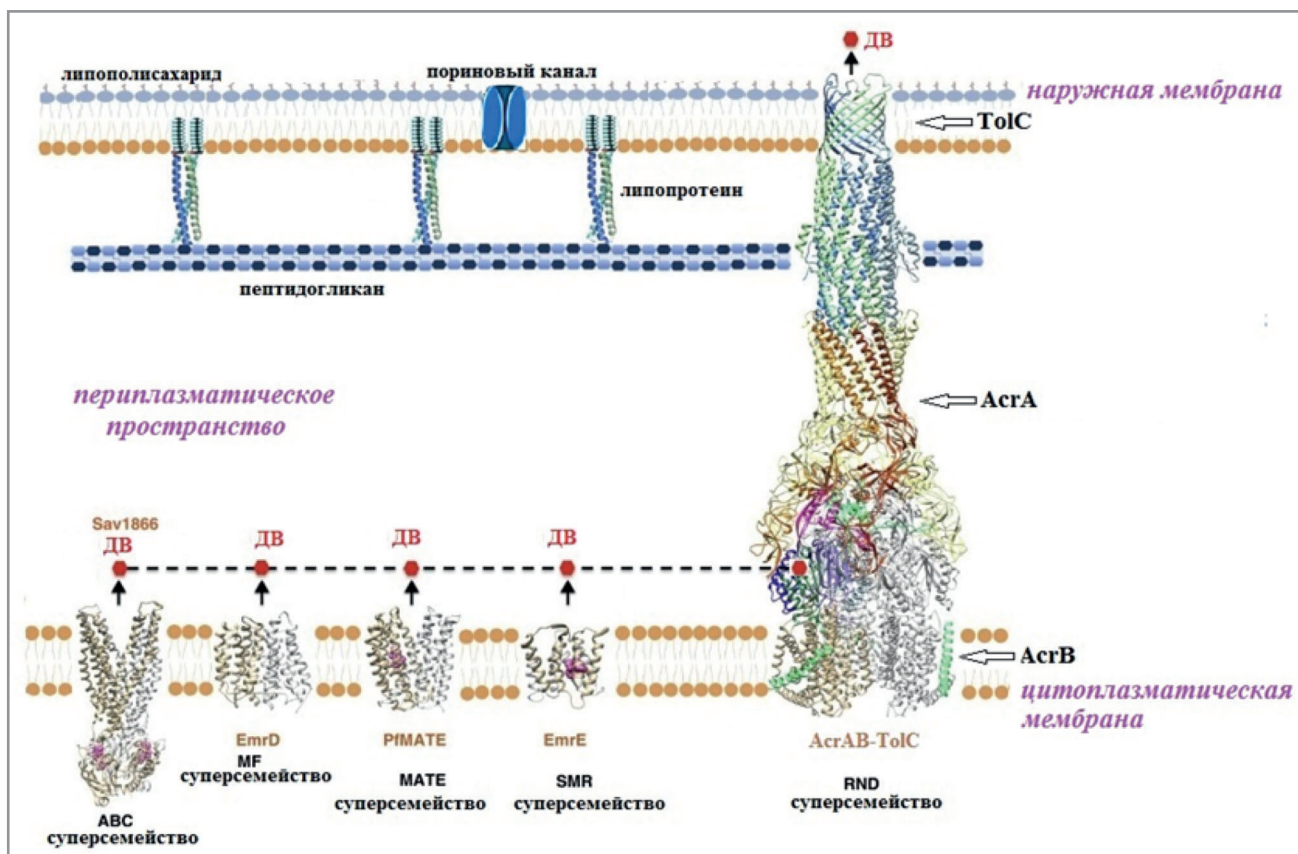


Рис. 2. Структурная организация клеточной оболочки грамотрицательных бактерий и эффлюксных насосов [13].
Fig. 2. Structural organization of the cell wall of gram-negative bacteria and efflux pumps [13].

увеличивается в условиях общего стресса, в том числе вызванного воздействием ДС и антибиотиков [21]. Транскрипционный фактор MarA, а также его структурные гомологи SoxS и Rob, повышают экспрессию генов *acrAB* и *tolC*, что приводит к увеличению в клетке количества эффлюксных насосов AcrAB-TolC и, как следствие, способствует усилению эффлюкса ряда ДС (АДБАХ, дидецилдиметиламмоний хлорида и котримоксазола) и антибиотиков [20, 23, 24]. При этом сам ген *marA* находится под регуляцией со стороны транскрипционных факторов MarR и MarB, которые вместе с MarA образуют общий оперон. Для MarA белок MarR является репрессором, MarB — активатором [19].

На посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях функционирование AcrAB-TolC регулируется белком CsrA и протеазой Lon. Протеаза Lon регулирует активатор MarA путём его протеолитической деградации [25], в то время как CsrA, связываясь с 5'-концом транскрипта AcrAB, приводит к его более эффективной трансляции [26]. У бактерий

Klebsiella pneumoniae, *Salmonella enterica*, *Enterobacter aerogenes* и *Enterobacter cloacae* гомологом транскрипционного фактора MarA является белок RamA [19, 27]. Схематично регуляция генов *acrA*, *acrB* и *tolC* эффлюксного насоса AcrAB-TolC *E. coli* представлена на рис. 3.

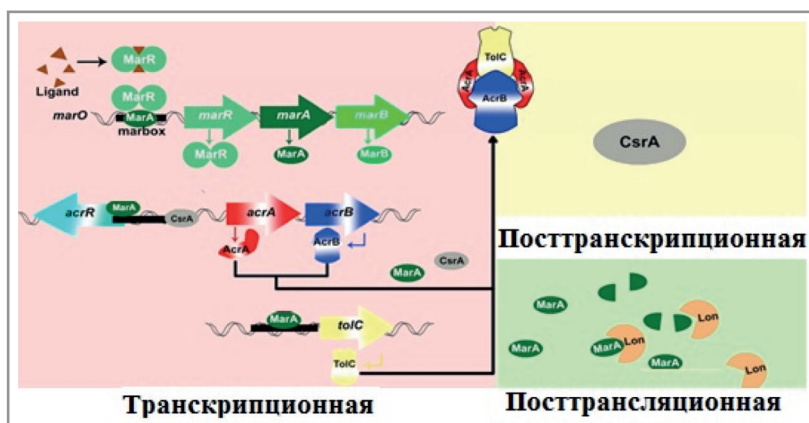


Рис. 3. Схема регуляции генов *acrA*, *acrB* и *tolC* эффлюксного насоса AcrAB-TolC *E. coli* транскрипционными факторами MarRAB; посттранскрипционная и посттрансляционная регуляция AcrAB-TolC с помощью белка CsrA и протеазы Lon [19].

Fig. 3. Scheme of regulation of *acrA*, *acrB* and *tolC* genes of the AcrAB-TolC efflux pump of *E. coli* by MarRAB transcription factors; post-transcriptional and post-translational regulation of AcrAB-TolC by CsrA protein and Lon protease [19].

Возникновение мутаций в регуляторных генах способны оказывать значительное влияние на экспрессию генов эффлюксных насосов и, следовательно, на их количество в бактериальной клетке, тем самым способствуя формированию резистентности как к ДС, так и к антибиотикам. Так, был обнаружен ряд мутаций в генах *acrR*, *marR* и *ramR*, которые приводили к суперэкспрессии генов *acrAB* и *tolC* в клетках *E.coli* и *K.pneumoniae*, что приводило к формированию фенотипа множественной лекарственной устойчивости [28–31]. Мутации в самих генах насоса AcrAB-TolC могут влиять на его специфичность к химическим соединениям и резистентность к ним [32].

У грамположительных бактерий широко распространены эффлюксные насосы суперсемейства MFS, из которых наиболее изучен NorA из *Staphylococcus aureus* [33, 34]. NorA обеспечивает эффлюкс большого спектра биоцидов, включая ЧАС и антибиотики [11, 34–36]. Повышенная экспрессия NorA, способствующая формированию резистентности, может возникать благодаря приобретению мутаций в промоторной области гена *norA* или в регуляторных белках MgrA и MepR [36–38].

Приобретение эффлюксных насосов путём горизонтального переноса генов посредством плазмид и ICE является ещё одним распространённым генетическим механизмом формирования и распространения микробной резистентности к ДС [6, 9, 39]. Так, у *S.aureus* был обнаружен широкий спектр эффлюксных насосов группы qac, которые способствуют формированию устойчивости к ЧАС и ряду антибиотиков и находятся в составе плазмид [6, 9, 35, 40]. Клинические изоляты стафилококков часто являются носителями нескольких плазмид с детерминантами резистентности [9, 41, 42]. Было показано, что мутации в генах qac могут обеспечивать различные уровни устойчивости *S.aureus* к ДС и антибиотикам [43].

У грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae хорошо изучены эффлюксные насосы OqxA и OqxV надсемейства RND, которые были обнаружены в составе плазмид, и сверхэкспрессия которых придаёт устойчивость к АДБАХ, додецилсульфату натрия и триклозану, а также ряду антибиотиков [44] (табл. 2). Было показано, что гены *oqxA* и *oqxV* изначально находились в хромосоме *K.pneumoniae* и уже позже появились в составе плазмид, при этом транспозиция этих генов из хромосомы в плазмиды способна более чем в 80 раз увеличить уровень экспрессии эффлюксных насосов OqxA и OqxV, что способствует формированию резистентности к ДС [59]. Выявлены два белка — RarA (активатор) и OqxR (репрессор), — которые играют

важную роль в регуляции экспрессии генов *oqxA* и *oqxV* [12]. Было показано, что вызванная мутациями сверхэкспрессия гена *rarA* может повышать уровень экспрессии генов *oqxA/V* [60]. Также были выявлены мутации в гене репрессора OqxR, которые подавляли его активность, что также приводило к сверхэкспрессии генов *oqxA/V* [60, 61]. Считается, что горизонтальный перенос плазмид, несущих детерминанты резистентности *oqxA/V* и *qac*, может представлять большой риск, связанный с развитием множественной лекарственной устойчивости [11, 12].

Учитывая роль эффлюксных насосов в формировании микробной резистентности к ДС и антибиотикам, предпринимаются попытки найти соединения, способные их ингибировать [62–64], что позволит снизить минимальные подавляющие концентрации, необходимые для элиминации бактериальных патогенов.

Порины

Изменение проницаемости наружной мембраны является ещё одним механизмом резистентности к ДС грамотрицательных бактерий. Транспорт гидрофильных ДС внутрь микробной клетки осуществляется через каналы, образованные белками поринами (см. рис. 2). Количество поринов в бактериальной клетке может быть довольно высоким, до 10^6 на клетку [65], и контролируется путём регуляции экспрессии генов, кодирующих порины, что приводит к изменению проницаемости наружной мембраны для гидрофильных ДС. При уменьшении количества поринов эффективность транспорта ДС резко снижается, что проявляется в формировании устойчивости к ним, как это было продемонстрировано для штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* и *Mycobacterium smegmatis* после воздействия АДБАХ [66–69]. Так, адаптация *E.coli* к АДБАХ привела к снижению присутствия поринов OmpA, OmpF и OmpT [66].

Для ряда поринов была определена кристаллическая структура и выявлен высококонсервативный участок L3, определяющий диаметр поринового канала и его заряд [70–73]. Мутации, влияющие на структуру поринов и/или их экспрессию, оказывают непосредственное влияние на восприимчивость бактерий к антимикробным препаратам. Эти мутации могут иметь различные последствия, такие как потеря или уменьшение количества поринов, изменение размера или проводимости пориновых каналов. Было показано, что мутации в участке L3 порина Omp36 из *Enterobacter aerogenes* [74, 75], OmpK36 из *K.pneumonia* [76], OmpF и OmpC из *E.coli* [77–80] влияют на транспорт антибиотиков и воспри-

имчивость к ним. В результате лабораторной адаптации штаммов *E. coli* к ДС с последующим полногеномным секвенированием были также идентифицированы мутации в белках EnvZ и OmpR, участвующих в регуляции экспрессии поринов OmpF и OmpC, которые способствовали формированию резистентности к хлорофену и повидон-йодиду [81]. Примечательно, что экспрессия генов поринов находится под

регуляцией тех же транскрипционных факторов (Mar, RamA, Rob и SoxS), что и гены эффлюксных насосов [82], и мутации в них могут ингибировать экспрессию поринов и прямо или косвенно вызывать сверхэкспрессию эффлюксных насосов [83, 84]. Наличие у грамотрицательных бактерий этих двух механизмов делают их чрезвычайно устойчивыми к широкому спектру ДС и антибиотиков (см. табл. 2).

Таблица 2. Эффлюксные насосы, связанные с перекрёстной устойчивостью бактерий группы ESKAPE к ДВ и антибиотикам

Table 2. Efflux pumps associated with the cross-resistance of ESKAPE group bacteria to disinfectants and antibiotics

Вид	Эффлюкс- ный насос	Супер- семейство	Устойчивость к антимикробным средствам		Ссылки
			ДВ	Антибиотики	
Грамположительные					
<i>Staphylococcus aureus</i>	QacA	MFS	АДБАХ, хлоргексидин	Цетримид, пропамидина изетионат, диаминодифениламин дигидрохлорид, пентамидин, акрифлавин, пентамидин	[11]
	QacB	MFS	АДБАХ, тетрафенилфосфоний, хлоргексидин	Акрифлавин	[11]
	NorA	MFS	АДБАХ, тетрафенилфосфоний	Норфлоксацин, эноксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин, пентамидин, цетримид, акрифлавин	[11, 36]
	NorB	MFS	АДБАХ, тетрафенилфосфоний	Норфлоксацин, эноксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин, пентамидин, цетримид, бромид акрифлавин, моксифлоксацин, спарфлоксацин, тетрациклин	[12, 36]
	MdeA	MFS	АДБАХ, тетрафенилфосфоний	Норфлоксацин, виргиниамин, новобиоцин, мупироцин, фузидовая кислота, доксорубин, даунорубин	[26, 125]
	MerA	MATE	АДБАХ, хлоргексидин, тетрафенилфосфоний	Ципрофлоксацин, норфлоксацин, моксифлоксацин, спарфлоксацин, тигециклин, пентамидин, цетримид, деквалиний, акрифлавин	[11]
	LmrS	MFS	тетрафенилфосфоний, доцеилсульфат натрия	Оксазолидинон, флорфеникол, триметоприм, эритромицин, канамицин, фузидовая кислота	[11]
	MerA	MATE	тетрафенилфосфоний, цетримид, АДБАХ	Тигециклин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, моксифлоксацин, спарфлоксацин	[11]
Грамотрицательные					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	AcrAB-TolC	RND	АДБАХ, дидецилди-метиламмония хлорид, ко-тримоксазол хлоргестидин	Хинолоны, хлорамфеникол, тетрациклины–тигециклин, макролиды, триметоприм и новобиоцин	[31, 45, 46]
	KpnEFO	SMR	Додецилсульфат натрия АДБАХ, хлоргексидин триклозан, перекись водорода	Цефепим, цефтриаксон, колистин, эритромицин, рифамицин, тетрациклин и стрептомицин	[47]
	OqxAB	RND	ЧАС	Хлорамфеникол и фторхинолоны	[44]
<i>Acinetobacter baumannii</i>	AdeABC	RND	додецилсульфат натрия, АДБАХ, хлоргексидин, тетрафенилфосфоний	Аминогликозиды, бета-лактамы, хлорамфеникол, тетрациклин, тигециклин, триметоприм, фторхинолоны	[48, 49]
	AdeI	RND	АДБАХ, додецилсульфат натрия	Хлорамфеникол, новобиоцин, гентамицин, канамицин, налидиксовая кислота, тетрациклин	[49, 50]

Продолжение табл. 2.
Continuation of the table 2.

Вид	Эффлюкс- ный насос	Супер- семейство	Устойчивость к антимикробным средствам		Ссылки
			ДВ	Антибиотики	
<i>Escherichia coli</i>	AdeT1 AdeT2	RND	АДБАХ, тетрафенилфосфоний, додецилсульфат натрия	Хлорамфеникол, новобиоцин, гентамицин, канамицин, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, эритромицин	[51]
	AbeS	SMR	АДБАХ, тетрафенилфосфоний, додецилсульфат натрия, цетримид, цетилпиридиний хлорид, хлоргексидин	Эритромицин, новомицин, амикацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, тетрациклин, триметоприн	[52]
	AcrAB-TolC	RND	АДБАХ, цетримид, тетрафенилфосфоний	Бета-лактамы, тетрациклин, новобиоцин и флуорохинолоны, феникол	[12–14, 53, 54]
	AcrE/EnvC AcrF/EnvD	RND	Додецилсульфат натрия, тетрафенилфосфоний, АДБАХ	Акрифлавин; новомицин	[55]
	M3dfA/Cmr	MFS	АДБАХ, тетрафенилфосфоний	Рифампицин, тетрациклин, пурамицин, хлорамфеникол, эритромицин, некоторые аминогликозиды и фторхинолоны	[46, 55]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MdtE/YhiU MdtF/YhiV MdtK/YdhE	RND	АДБАХ, додецилсульфат натрия, тетрафенилфосфоний	Эритромицин, доксорубицин, норфлоксацин, ципрофлоксацин, эноксацин, триметоприм, хлорамфеникол, фосфомицин, акрифлавин	[56]
	MexAB-OprM	RND	АДБАХ	Фторхинолоны, цефалоспорины, аминогликозиды	[57]
	PmpM	MATE	АДБАХ, тетрафенилфосфоний	Акрифлавин, фторхинолоны	[58]

Помимо изменений в профиле экспрессии поринов, состав других компонентов наружной мембраны грамотрицательных бактерий может быть связан с приобретением устойчивости к ДС. Так, было показано, что устойчивые и восприимчивые к ЧАС штаммы *Paeruginosa* и *E.coli* имели разный состав фосфолипидов, жирных кислот и липополисахаридов [85–89]. Также было высказано предположение, что штаммы *Pseudomonas* могут адаптироваться к АДБАХ путём уменьшения отрицательного заряда внешней мембраны за счёт увеличения экспрессии генов, определяющих синтез полиаминов, и модификации липида А [69].

Биодеградация

Приобретение микробной резистентности к ДС за счёт их биодеградации было показано для некоторых видов бактерий рода *Pseudomonas*. Так, были выделены изоляты *Pseudomonas putida* и *Pseudomonas nitroreducens*, способные метаболизировать ЧАС [90–92]. Был изучен механизм расщепления АДБАХ до диметиламина и бензойной кислоты с образованием в качестве промежуточного продукта бензилдиметиламина, который в 500 раз менее токсичен, чем АДБАХ [90,

91, 93, 94]. Были идентифицированы ферменты, участвующие в биодеградации ЧАС, такие как тетрадецилтриметил аммоний бромид монооксигеназа (ТТАВМО) из *Pputida* ATCC 12633 [92], аминоксидаза С из *Pnitroreducens* АОх-ВАС [91], оксигеназа охуВАС [95], а также диоксигеназа, гидролизующая ароматические соединения (aromatic ringhydroxylating dioxygenase), из изолятов *Pseudomonas* spp. [90]. При этом гены аминоксидаз и диоксигеназ, катализирующие трансформацию бензилдиметиламина и бензойной кислоты, соответственно [93], могут находиться в составе мобильных генетических элементов [90], что свидетельствует о возможности их горизонтального переноса. Кроме того, согласно результатам метагеномных исследований, у микробного сообщества, в котором доминировали виды *Pseudomonas* spp. и для которого АДБАХ был единственным источником углерода, была выявлена перепредавленность генов дегидрогеназ, окисляющих формальдегиды, альдегиды, формиаты, амины и ацил-КоА, а также генов монооксигеназы и цитратлиазы, которые также участвуют в деградации ДС [90, 91]. Помимо ЧАС, бактерии рода *Pseudomonas* способны расщеплять фенол и формальдегид [96–101]. Так, был обнаружен штамм

Paeruginosa IES-Ps-1, способный за 56 ч трансформировать фенол в катехол с помощью фенолгидроксилазы, который затем расщепляется катехол-1,2-диоксигеназой с образованием цис-муконовой кислоты [101]. Была изучена биодеградация формальдегида до муравьиной кислоты и метанола штаммом *Pputida*, продуцирующим фермент формальдегид дисмутаза [97]. Биотрансформация формальдегида с помощью формальдегид дегидрогеназ была показана для *Pputida* и *E.coli* [102, 103]. Микробная устойчивость к перекиси водорода обусловлена её расщеплением широким спектром каталаз [104]. Принимая во внимание роль биодеградации ДС в формировании бактериями устойчивости к ним, представляется необходимым проведение молекулярно-генетического мониторинга штаммов, обладающих соответствующими ферментами, и поиск их ингибиторов.

Образование биоплёнок

Устойчивость микроорганизмов к ДС часто связана с способностью бактерий образовывать биоплёнки, представляющие собой прикрепленные к поверхностям сообщества микроорганизмов, заключенные в синтезированный ими экзополимерный матрикс, состав которого различен у бактерий разных таксономических групп [105, 106]. Фенотипы бактериальных клеток в составе биоплёнки отличаются от фенотипов их планктонных форм, в том числе, повышенной устойчивостью к ДС и антибиотикам [5, 107, 108]. Воздействие ДС может усиливать образование бактериями биоплёнок [109–111]. Так, было показано, что штаммы бактерий *E.coli* и *Listeria monocytogenes*, устойчивые к АДБАХ, обладали повышенной способностью к образованию биоплёнок [110, 112]. С помощью сканирующей электронной микроскопии было показано, что воздействие на бактерии *Paeruginosa* и *E.coli* сублетальных концентраций АДБАХ в течение 5 дней привело к образованию биоплёнок большей толщины, содержащих большее количество полисахаридов и белков по сравнению с контролем [111]. Также воздействие АДБАХ стимулировало образование биоплёнок у *Staphylococcus epidermidis* CIP53124 [113].

Формирование биоплёнок индуцируется сигналами окружающей среды и контролируется на генетическом уровне. При этом изменяется экспрессия около 40% бактериальных генов, участвующих в процессах мембранного транспорта, секреции, синтеза компонентов клеточной оболочки (фосфолипидов, полисахаридов, липополисахаридов и др.), регуляции транскрипции и др. [114]. Так, у бактерий рода

Salmonella spp. образование биоплёнки контролируется регуляторными генами *csgD*, *csgA*, *adrA* и *bcsA*, которые напрямую или опосредованно контролируют синтез фимбрий и целлюлозы [115–119]. Было показано, что экспрессия генов *hrcA* и *dnaK* теплового шока класса I, контролирующих синтез и формирование третичной структуры белков у бактерий, а также гена сигма-фактора стрессового ответа SigB, усиливает образование биоплёнок штаммами *L.monocytogenes* и *Streptococcus mutans* и способствует устойчивости к ДС [120–122].

Ключевыми регуляторами формирования биоплёнки является система кворум-сенсинга (quorum sensing — QS) и сигнальные пути с участием бис-(3'-5')-циклического димерного гуанозинмонофосфата (c-di-GMP) [123]. QS обеспечивает межклеточные коммуникации у бактерий и может контролировать до 10% бактериальных генов, участвующих в регулировании поведения бактериальной популяции, включая образование биоплёнки, секрецию факторов вирулентности и формирование устойчивости к антибактериальным средствам [124]. Сигнальная молекула c-di-GMP участвует в регуляции синтеза экзополисахаридов, адгезинов, секреции внеклеточной ДНК, а также контролирует подвижность бактериальных клеток и их гибель [123, 125]. Гены, ответственные за метаболизм c-di-GMP, обнаружены у многих видов бактерий, но отсутствуют у высших эукариотов, что делает c-di-GMP перспективной мишенью для разработки антибиоплёночных препаратов [126].

Перекры́стная резистентность

Вопрос о том, может ли устойчивость к ДС играть роль в селекции антибиотикорезистентных штаммов, остаётся дискуссионным [127–130]. Сведения относительно наличия связи между устойчивостью к антибиотикам и ДС противоречивы, однако есть доказательства в пользу того, что имеет место совместный отбор штаммов с пониженной чувствительностью к ДС антибиотикорезистентными бактериями, и наоборот, что обусловлено, в том числе, реализацией сходных генетических механизмов формирования фенотипа резистентности [130–132]. Формирование перекрёстной устойчивости к антибиотикам было продемонстрировано в результате лабораторной селекции бактерий, устойчивых к АДБАХ [66, 133, 134], хлоргексидину [21, 121, 122] и другим ДС [3, 53, 81, 136] и подробно рассмотрены в обзоре Kampf [130]. В табл. 2 представлен ряд данных о перекрёстной резистентности к ДВ и антибиотикам и связанными с ней эффлюксными насосами у бактерий группы ESKAPE, которые, согласно

ВОЗ, являются клинически значимыми видами бактерий, обладающими множественной лекарственной устойчивостью [137].

Заключение

Серьёзность проблемы формирования микробной резистентности к дезинфектантам и перекрёстной устойчивости к антибиотикам в полной мере осознана международным научным сообществом, что нашло отражение в принятой ВОЗ в 2001 г. «Глобальной стратегии по сдерживанию антимикробной резистентности». В связи с этим крайне важно усиление мониторинга резистентности микроорганизмов и поиск путей её преодоления, что является частью национальной «Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности

в Российской Федерации на период до 2030 года». Возникновение у бактерий приобретённой микробной резистентности к дезинфицирующим средствам невозможно прогнозировать. При этом уже имеющиеся данные указывают на то, что механизмы резистентности к ДС и антибиотикам не универсальны и специфичны как для разных видов бактерий, так и для разных штаммов внутри вида. Исходя из этого, основными стратегиями предотвращения распространения приобретённой микробной резистентности к ДС являются её мониторинг, в том числе на уровне выявления известных и обнаружения новых генетических детерминант устойчивости к ДС, а также поиск средств преодоления приобретённой резистентности исходя из всестороннего и глубокого изучения механизмов её формирования.

Литература/References

1. Chaplin C.E. Bacterial resistance to quaternary ammonium disinfectants. J Bacteriol. 1951; 63: 453–8. doi: 10.1128/jb.63.4.453-458.1952.
2. McDonnell G., Russell A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin Microbiol Rev. 1999 Jan;12 (1): 147–79. doi: 10.1128/CMR.12.1.147.
3. Gnanadhas D.P., Marathe S.A., Chakravorty D. Biocides-resistance, cross-resistance mechanisms and assessment. Expert Opin Investig Drugs. 2013 Feb; 22 (2): 191–206. doi: 10.1517/13543784.2013.748035.
4. Ortega Morente E., Fernández-Fuentes M.A., Grande Burgos M.J., Abriouel H., Pérez Pulido R., Gálvez A. Biocide tolerance in bacteria. Int J Food Microbiol. 2013 Mar 1; 162 (1): 13–25. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.028.
5. Bridier A., Briandet R., Thomas V., Dubois-Brissonnet F. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. Biofouling. 2011 Oct; 27 (9): 1017–1032. doi: 10.1080/08927014.2011.626899.
6. Tezel U., Pavlostathis S.G. Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology. Curr Opin Biotechnol. 2015 Jun; 33: 296–304. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.018.
7. Fox L.J., Kelly P.P., Humphreys G.J., Waigh T.A., Lu J.R., McBain A.J. Assessing the risk of resistance to cationic biocides incorporating realism-based and biophysical approaches. J Ind Microbiol Biotechnol. 2022 Jan 20; 49 (1): kuab074. doi: 10.1093/jimb/kuab074.
8. Schlacher K., Goodman M.F. Lessons from 50 years of SOS DNA-damage-induced mutagenesis. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Jul; 8 (7): 587–594. doi: 10.1038/nrm2198.
9. Mc Carlie S., Boucher C.E., Bragg R.R. Molecular basis of bacterial disinfectant resistance. Drug Resist Updat. 2020 Jan; 48: 100672. doi: 10.1016/j.drug.2019.100672.
10. Goodman M.F. Error-prone repair DNA polymerases in prokaryotes and eukaryotes. Annu Rev Biochem. 2002; 71: 17–50. doi: 10.1146/annurev.biochem.71.083101.124707.
11. Costa S.S., Viveiros M., Amaral L., Couto I. Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: an update. Open Microbiol J. 2013; 7: 59–71. doi: 10.2174/1874285801307010059.
12. Li J., Zhang H., Ning J., Sajid A., Cheng G., Yuan Z., Hao H. The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump. Antimicrob Resist Infect Control. 2019 Feb 22; 8: 44. doi: 10.1186/s13756-019-0489-3.
13. Du D., van Veen H.W., Murakami S., Pos K.M., Luisi B.F. Structure, mechanism and cooperation of bacterial multidrug transporters. Curr Opin Struct Biol. 2015 Aug; 33: 76–91. doi: 10.1016/j.sbi.2015.07.015.
14. Hernando-Amado S., Blanco P., Alcalde-Rico M., Corona E., Reales-Calderón J.A., Sánchez M.B., Martínez J.L. Multidrug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. Drug Resist Updat. 2016 Sep; 28: 13–27. doi: 10.1016/j.drug.2016.06.007.
15. Colclough A.L., Alav I., Whittle E.E., Pugh H.L., Darby E.M., Legood S.W., McNeil H.E., Blair J.M. RND efflux pumps in Gram-negative bacteria; regulation, structure and role in antibiotic resistance. Future Microbiol. 2020 Jan; 15: 143–157. doi: 10.2217/fmb-2019-0235.
16. Du D., Wang Z., James N.R., Voss J.E., Klimont E., Ohene-Agyei T., Venter H., Chiu W., Luisi B.F. Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump. Nature. 2014 May 22; 509 (7501): 512–515. doi: 10.1038/nature13205.
17. Zgurskaya H.I., Krishnamoorthy G., Ntrel A., Lu S. Mechanism and function of the outer membrane channel TolC in multidrug resistance and physiology of *Enterobacteria*. Front Microbiol. 2011 Sep 16; 2: 189. doi: 10.3389/fmicb.2011.00189.
18. Müller R.T., Pos K.M. The assembly and disassembly of the AcrAB-TolC three-component multidrug efflux pump. Biol Chem. 2015 Sep; 396 (9–10): 1083–1089. doi: 10.1515/hsz-2015-0150.
19. Weston N., Sharma P., Ricci V., Piddock L.J.V. Regulation of the AcrAB-TolC efflux pump in Enterobacteriaceae. Res Microbiol. 2018 Sep-Oct; 169 (7–8): 425–431. doi: 10.1016/j.resmic.2017.10.005.
20. Pos K.M. Drug transport mechanism of the AcrB efflux pump. Biochim Biophys Acta. 2009 May; 1794 (5): 782–93. doi: 10.1016/j.bbapap.2008.12.015.
21. Ma D., Alberti M., Lynch C., Nikaido H., Hearst J.E. The local repressor AcrR plays a modulating role in the regulation of *acrAB* genes of *Escherichia coli* by global stress signals. Mol Microbiol. 1996 Jan; 19 (1): 101–112. doi: 10.1046/j.1365-2958.1996.357881.x.
22. Su C.C., Rutherford D.J., Yu E.W. Characterization of the multidrug efflux regulator AcrR from *Escherichia coli*. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Sep 14; 361 (1): 85–90. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.06.175.
23. Okusu H., Ma D., Nikaido H. AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (Mar) mutants. J Bacteriol. 1996 Jan; 178 (1): 306–308. doi: 10.1128/jb.178.1.306-308.1996.
24. Buffet-Bataillon S., Le Jeune A., Le Gall-David S., Bonnaure-Mallet M., Jolivet-Gougeon A. Molecular mechanisms of higher MICs of antibiotics and quaternary ammonium compounds for *Escherichia coli* isolated from bacteraemia. J Antimicrob Chemother. 2012 Dec; 67 (12): 2837–2842. doi: 10.1093/jac/dks321.
25. Griffith K.L., Shah I.M., Wolf R.E. Jr. Proteolytic degradation of *Escherichia coli* transcription activators SoxS and MarA as the mechanism for reversing the induction of the superoxide (SoxRS) and multiple antibiotic resistance (Mar) regulons. Mol Microbiol. 2004 Mar; 51 (6): 1801–1816. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03952.x.
26. Ricci V., Attah V., Overton T., Grainger D.C., Piddock L.J.V. CsrA maximizes expression of the AcrAB multidrug resistance transporter. Nucleic Acids Res. 2017 Dec 15; 45 (22): 12798–12807. doi: 10.1093/nar/gkx929.
27. Baucheron S., Coste E., Canepa S., Maurel M.C., Giraud E., Culard E., Castaing B., Roussel A., Cloeckaert A. Binding of the RamR repressor to wild-type and mutated promoters of the *ramA* gene involved in efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Feb; 56 (2): 942–8. doi: 10.1128/AAC.05444-11.
28. Olliver A., Valle M., Chaslus-Dancla E., Cloeckaert A. Role of an *acrR* mutation in multidrug resistance of *in vitro*-selected fluoroquinolone-resistant mutants of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. FEMS Microbiol Lett. 2004 Sep 1; 238 (1): 267–272. doi: 10.1016/j.femsle.2004.07.046.
29. Webber M.A., Talukder A., Piddock L.J. Contribution of mutation at amino acid 45 of AcrR to *acrB* expression and ciprofloxacin resistance in clinical and veterinary *Escherichia coli* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Oct; 49 (10): 4390–4392. doi: 10.1128/AAC.49.10.4390-4392.2005.

30. Nicoloff H., Perreten V., McMurry L.M., Levy S.B. Role for tandem duplication and lon protease in AcrAB-TolC-dependent multiple antibiotic resistance (Mar) in an *Escherichia coli* mutant without mutations in marRAB or acrRAB. *J Bacteriol.* 2006 Jun; 188 (12): 4413–4423. doi: 10.1128/JB.01502-05. PMID: 16740948; PMCID: PMC1482967.
31. Wand M.E., Darby E.M., Blair J.M.A., Sutton J.M. Contribution of the efflux pump AcrAB-TolC to the tolerance of chlorhexidine and other biocides in *Klebsiella* spp. *J Med Microbiol.* 2022 Mar; 71 (3): 001496. doi: 10.1099/jmm.0.001496.
32. Marshall R.L., Bavro V.N. Mutations in the TolC periplasmic domain affect substrate specificity of the AcrAB-TolC pump. *Front Mol Biosci.* 2020 Jul 21; 7: 166. doi: 10.3389/fmolb.2020.00166.
33. Drew D., North R.A., Nagarathinam K., Tanabe M. Structures and general transport mechanisms by the major facilitator superfamily (MFS). *Chem Rev.* 2021 May 12; 121 (9): 5289–5335. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00983.
34. Kaatz G.W., Seo S.M. Inducible NorA-mediated multidrug resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Dec; 39 (12): 2650–2655. doi: 10.1128/AAC.39.12.2650.
35. LaBreck P.T., Bochi-Layec A.C., Stanbro J., Dabbah-Krancher G., Simons M.P., Merrell D.S. Systematic Analysis of efflux pump-mediated antiseptic resistance in *Staphylococcus aureus* suggests a need for greater antiseptic stewardship. *mSphere.* 2020 Jan 15; 5 (1): e00959-19. doi: 10.1128/mSphere.00959-19.
36. Huet A.A., Raygada J.L., Mendiratta K., Seo S.M., Kaatz G.W. Multidrug efflux pump overexpression in *Staphylococcus aureus* after single and multiple *in vitro* exposures to biocides and dyes. *Microbiology (Reading).* 2008 Oct; 154 (Pt 10): 3144–3153. doi: 10.1099/mic.0.2008/021188-0.
37. Kaatz G.W., Seo S.M., Foster T.J. Introduction of a norA promoter region mutation into the chromosome of a fluoroquinolone-susceptible strain of *Staphylococcus aureus* using plasmid integration. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 Sep; 43 (9): 2222–2224. doi: 10.1128/AAC.43.9.2222.
38. DeMarco C.E., Cushing L.A., Frempong-Manso E., Seo S.M., Jaravaza T.A., Kaatz G.W. Efflux-related resistance to norfloxacin, dyes, and biocides in bloodstream isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Sep; 51 (9): 3235–3239. doi: 10.1128/AAC.00430-07.
39. Popowska M., Krawczyk-Balska A. Broad-host-range IncP-1 plasmids and their resistance potential. *Front Microbiol.* 2013 Mar 7; 4: 44. doi: 10.3389/fmicb.2013.00044.
40. Furi L., Haigh R., Al Jabri Z.J., Morrissey I., Ou H.Y., León-Sampedro R., Martínez J.L., Coque T.M., Oggioni M.R. Dissemination of novel antimicrobial resistance mechanisms through the Insertion sequence mediated spread of metabolic genes. *Front Microbiol.* 2016 Jun 28; 7: 1008. doi: 10.3389/fmicb.2016.01008.
41. Malachowa N., DeLeo F.R. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell Mol Life Sci.* 2010 Sep; 67 (18): 3057–3071. doi: 10.1007/s00018-010-0389-4.
42. Baines S.L., Jensen S.O., Firth N., Gonçalves da Silva A., Seemann T., Carter G.P., Williamson D.A., Howden B.P., Stinear T.P. Remodeling of pSK1 family plasmids and enhanced chlorhexidine tolerance in a dominant hospital lineage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Apr 25; 63 (5): e02356-18. doi: 10.1128/AAC.02356-18.
43. Alam M.M., Kobayashi N., Uehara N., Watanabe N. Analysis on distribution and genomic diversity of high-level antiseptic resistance genes qacA and qacB in human clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Microb Drug Resist.* 2003 Summer; 9 (2): 109–121. doi: 10.1089/107662903765826697.
44. Hansen L.H., Johannesen E., Burmølle M., Sørensen A.H., Sørensen S.J. Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Sep; 48 (9): 3332–3337. doi: 10.1128/AAC.48.9.3332-3337.2004.
45. Yamada Y., Shiota S., Mizushima T., Kuroda T., Tsuchiya T. Functional gene cloning and characterization of MdeA, a multidrug efflux pump from *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull.* 2006 Apr; 29 (4): 801–804. doi: 10.1248/bph.29.801.
46. Sulavik M.C., Houseweart C., Cramer C., Jiwani N., Murgolo N., Greene J., DiDomenico B., Shaw K.J., Miller G.H., Hare R., Shimer G. Antibiotic susceptibility profiles of *Escherichia coli* strains lacking multidrug efflux pump genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Apr; 45 (4): 1126–1136. doi: 10.1128/AAC.45.4.1126-1136.2001.
47. Srinivasan V.B., Rajamohan G. KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Sep; 57 (9): 4449–4462. doi: 10.1128/AAC.02284-12.
48. Magnet S., Courvalin P., Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Dec; 45 (12): 3375–3380. doi: 10.1128/AAC.45.12.3375-3380.2001.
49. Rajamohan G., Srinivasan V.B., Gebreyes W.A. Novel role of *Acinetobacter baumannii* RND efflux transporters in mediating decreased susceptibility to biocides. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Feb; 65 (2): 228–232. doi: 10.1093/jac/dkp427.
50. Damier-Piolle L., Magnat S., Brémont S., Lambert T., Courvalin P. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Feb; 52 (2): 557–62. doi: 10.1128/AAC.00732-07.
51. Srinivasan V.B., Rajamohan G., Pancholi P., Marcon M., Gebreyes W.A. Molecular cloning and functional characterization of two novel membrane fusion proteins in conferring antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Mar; 66 (3): 499–504. doi: 10.1093/jac/dkq469.
52. Srinivasan V.B., Rajamohan G., Gebreyes W.A. Role of AbeS, a novel efflux pump of the SMR family of transporters, in resistance to antimicrobial agents in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Dec; 53 (12): 5312–5316. doi: 10.1128/AAC.00748-09.
53. Soumet C., Fourreau E., Legrandois P., Maris P. Resistance to phenicol compounds following adaptation to quaternary ammonium compounds in *Escherichia coli*. *Vet Microbiol.* 2012 Jul 6; 158 (1–2): 147–52. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.01.030.
54. Nishino K., Yamaguchi A. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2001 Oct; 183 (20): 5803–5812. doi: 10.1128/JB.183.20.5803-5812.2001.
55. Nishino K., Yamaguchi A. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2001 Oct; 183 (20): 5803–12. doi: 10.1128/JB.183.20.5803-5812.2001.
56. Masuda N., Church G.M. *Escherichia coli* gene expression responsive to levels of the response regulator EvgA. *J Bacteriol.* 2002 Nov; 184 (22): 6225–6234. doi: 10.1128/JB.184.22.6225-6234.2002.
57. Amsalu A., Sapula S.A., De Barros Lopes M., Hart B.J., Nguyen A.H., Drigo B., Turnidge J., Leong L.E., Venter H. Efflux pump-driven antibiotic and biocide cross-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different ecological niches: a case study in the development of multidrug resistance in environmental hotspots. *Microorganisms.* 2020 Oct 24; 8 (11): 1647. doi: 10.3390/microorganisms8111647.
58. He G.X., Kuroda T., Mima T., Morita Y., Mizushima T., Tsuchiya T. An H(+) coupled multidrug efflux pump, PmpM, a member of the MATE family of transporters, from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 2004 Jan; 186 (1): 262–265. doi: 10.1128/JB.186.1.262-265.2004.
59. Wong M.H., Chan E.W., Chen S. Evolution and dissemination of OqxAB-like efflux pumps, an emerging quinolone resistance determinant among members of Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59 (6): 3290–3297. doi: 10.1128/AAC.00310-15.
60. Veleba M., Higgins P.G., Gonzalez G., Seifert H., Schneiders T. Characterization of RarA, a novel AraC family multidrug resistance regulator in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Aug; 56 (8): 4450–4458. doi: 10.1128/AAC.00456-12.
61. Bialek-Davenet S., Lavigne J.P., Guyot K., Mayer N., Tournèze R., Brisse S., Leflon-Guibout V., Nicolas-Chanoine M.H. Differential contribution of AcrAB and OqxAB efflux pumps to multidrug resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2015 Jan; 70 (1): 81–88. doi: 10.1093/jac/dku340.
62. Pagès J.M., Masi M., Barbe J. Inhibitors of efflux pumps in Gram-negative bacteria. *Trends Mol Med.* 2005 Aug; 11 (8): 382–389. doi: 10.1016/j.molmed.2005.06.006.
63. Nakashima R., Sakurai K., Yamasaki S., Hayashi K., Nagata C., Hoshino K., Onodera Y., Nishino K., Yamaguchi A. Structural basis for the inhibition of bacterial multidrug exporters. *Nature.* 2013 Aug 1; 500 (7460): 102–106. doi: 10.1038/nature12300.
64. Shaheen A., Afridi W.A., Mahboob S., Sana M., Zeeshan N., Ismat F., Mirza O., Iqbal M., Rahman M. Reserpine is the new addition into the repertoire of AcrB efflux pump inhibitors. *Mol Biol (Mosk).* 2019 Jul–Aug; 53 (4): 674–684. (in Russian). doi: 10.1134/S0026898419040128.
65. Achouak W., Heulin T., Pagès J.M. Multiple facets of bacterial porins. *FEMS Microbiol Lett.* 2001 May 15; 199 (1): 1–7. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10642.x.
66. Bore E., Hébraud M., Chafsey I., Chambon C., Skjærset C., Moen B., Møretro T., Langsrud Ø., Rudi K., Langsrud S. Adapted tolerance to benzalkonium chloride in *Escherichia coli* K-12 studied by transcriptome and proteome analyses. *Microbiology (Reading).* 2007 Apr; 153 (Pt 4): 935–946. doi: 10.1099/mic.0.29288-0.
67. Frenzel E., Schmidt S., Niederweis M., Steinhilber K. Importance of porins for biocide efficacy against *Mycobacterium smegmatis*. *Appl Environ Microbiol.* 2011 May; 77 (9): 3068–3073. doi: 10.1128/AEM.02492-10.

68. Machado I., Coquet L., Jouenne T., Pereira M.O. Proteomic approach to *Pseudomonas aeruginosa* adaptive resistance to benzalkonium chloride. J Proteomics. 2013 Aug 26; 89: 273–9. doi: 10.1016/j.jprot.2013.04.030.
69. Kim M., Hatt J.K., Weigand M.R., Krishnan R., Pavlostathis S.G., Konstantinidis K.T. Genomic and transcriptomic insights into how bacteria withstand high concentrations of benzalkonium chloride biocides. Appl Environ Microbiol. 2018 May 31; 84 (12): e00197–18. doi: 10.1128/AEM.00197-18.
70. Cowan S.W., Schirmer T., Rummel G., Steiert M., Ghosh R., Paupit R.A., Jansonius J.N., Rosenbusch J.P. Crystal structures explain functional properties of two *E.coli* porins. Nature. 1992 Aug 27; 358 (6389): 727–733. doi: 10.1038/358727a0.
71. Lou K.L., Saint N., Prilipov A., Rummel G., Benson S.A., Rosenbusch J.P., Schirmer T. Structural and functional characterization of OmpF porin mutants selected for larger pore size. I. Crystallographic analysis. J Biol Chem. 1996 Aug 23; 271 (34): 20669–20675.
72. Dutzler R., Rummel G., Alberti S., Hernández-Allés S., Phale P., Rosenbusch J., Benedi V., Schirmer T. Crystal structure and functional characterization of OmpK36, the osmoporin of *Klebsiella pneumoniae*. Structure. 1999 Apr 15; 7 (4): 425–434. doi: 10.1016/s0969-2126(99)80055-0.
73. Baslé A., Rummel G., Storici P., Rosenbusch J.P., Schirmer T. Crystal structure of osmoporin OmpC from *E. coli* at 2.0 Å. J Mol Biol. 2006 Oct 6; 362 (5): 933–942. doi: 10.1016/j.jmb.2006.08.002.
74. Dé E., Baslé A., Jaquinod M., Saint N., Malléa M., Molle G., Pagès J.M. A new mechanism of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae induced by a structural modification of the major porin. Mol Microbiol. 2001 Jul; 41 (1): 189–198. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02501.x.
75. Thiolas A., Bornet C., Davin-Réglé A., Pagès J.M., Bollet C. Resistance to imipenem, cefepime, and ceftazidime associated with mutation in Omp36 osmoporin of *Enterobacter aerogenes*. Biochem Biophys Res Commun. 2004 May 7; 317 (3): 851–856. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.03.130.
76. García-Fernández A., Miriagou V., Papagiannitsis C.C., Giordano A., Venditti M., Mancini C., Carattoli A. An ertapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone carries a novel OmpK36 porin variant. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Oct; 54 (10): 4178–4184. doi: 10.1128/AAC.01301-09.
77. Saint N., Lou K.L., Widmer C., Luckey M., Schirmer T., Rosenbusch J.P. Structural and functional characterization of OmpF porin mutants selected for larger pore size. II. Functional characterization. J Biol Chem. 1996 Aug 23; 271 (34): 20676–20680.
78. Simonet V., Malléa M., Pagès J.M. Substitutions in the eyelet region disrupt cefepime diffusion through the *Escherichia coli* OmpF channel. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Feb; 44 (2): 311–315. doi: 10.1128/AAC.44.2.311-315.2000.
79. Phale P.S., Philippsen A., Widmer C., Phale V.P., Rosenbusch J.P., Schirmer T. Role of charged residues at the OmpF porin channel constriction probed by mutagenesis and simulation. Biochemistry. 2001 May 29; 40 (21): 6319–6325. doi: 10.1021/bi010046k.
80. Bredin J., Saint N., Malléa M., Dé E., Molle G., Pagès J.M., Simonet V. Alteration of pore properties of *Escherichia coli* OmpF induced by mutation of key residues in anti-loop 3 region. Biochem J. 2002 May 1; 363 (Pt 3): 521–528. doi: 10.1042/0264-6021.3630521.
81. Merchel Piovesan Pereira B., Wang X., Tagkopoulos I. Biocide-Induced Emergence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2021 Feb 26; 12: 640923. doi: 10.3389/fmicb.2021.640923.
82. Holden E.R., Webber M.A. MarA, RamA, and SoxS as mediators of the stress response: survival at a cost. Front Microbiol. 2020 May 5; 11: 828. doi: 10.3389/fmicb.2020.00828.
83. Chubiz L.M., Rao C.V. Role of the mar-sox-rob regulon in regulating outer membrane porin expression. J Bacteriol. 2011 May; 193 (9): 2252–60. doi: 10.1128/JB.01382-10.
84. Merchel Piovesan Pereira B., Tagkopoulos I. Benzalkonium chlorides: uses, regulatory status, and microbial resistance. Appl Environ Microbiol. 2019 Jun 17; 85 (13): e00377–19. doi: 10.1128/AEM.00377-19.
85. Sakagami Y., Yokoyama H., Nishimura H., Ose Y., Tashima T. Mechanism of resistance to benzalkonium chloride by *Pseudomonas aeruginosa*. Appl Environ Microbiol. 1989 Aug; 55 (8): 2036–40. doi: 10.1128/aem.55.8.2036-2040.1989.
86. Méchin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 to didecyltrimethylammonium bromide induces changes in membrane fatty acid composition and in resistance of cells. J Appl Microbiol. 1999 May; 86 (5): 859–866. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00770.x.
87. Guerin-Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Quaternary ammonium compound stresses induce specific variations in fatty acid composition of *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Food Microbiol. 2000 Apr 10; 55 (1–3): 157–9. doi: 10.1016/s0168-1605(00)00189-6.
88. Tattawasart U., Hann A.C., Maillard J.Y., Furr J.R., Russell A.D. Cytological changes in chlorhexidine-resistant isolates of *Pseudomonas stutzeri*. J Antimicrob Chemother. 2000 Feb; 45 (2): 145–152. doi: 10.1093/jac/45.2.145.
89. Ishikawa S., Matsumura Y., Yoshizako E., Tsuchido T. Characterization of a cationic surfactant-resistant mutant isolated spontaneously from *Escherichia coli*. J Appl Microbiol. 2002; 92 (2): 261–268. doi: 10.1046/j.1365-2672.2002.01526.x.
90. Oh S., Tandukar M., Pavlostathis S.G., Chain P.S., Konstantinidis K.T. Microbial community adaptation to quaternary ammonium biocides as revealed by metagenomics. Environ Microbiol. 2013 Oct; 15 (10): 2850–2864. doi: 10.1111/1462-2920.12154.
91. Oh S., Kurt Z., Tsementzi D., Weigand M.R., Kim M., Hatt J.K., Tandukar M., Pavlostathis S.G., Spain J.C., Konstantinidis K.T. Microbial community degradation of widely used quaternary ammonium disinfectants. Appl Environ Microbiol. 2014 Oct; 80 (19): 5892–5900. doi: 10.1128/AEM.01255-14.
92. Liffourrena A.S., Lucchesi G.I. Identification, cloning and biochemical characterization of *Pseudomonas putida* A (ATCC 12633) monooxygenase enzyme necessary for the metabolism of tetradecyltrimethylammonium bromide. Appl Biochem Biotechnol. 2014 May; 173 (2): 552–561. doi: 10.1007/s12010-014-0862-x.
93. Patrauchan M.A., Oriol P.J. Degradation of benzyldimethylalkylammonium chloride by *Aeromonas hydrophila* sp. K. J Appl Microbiol. 2003; 94 (2): 266–72. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01829.x.
94. Tezel U., Tandukar M., Martinez R.J., Sobecky P.A., Pavlostathis S.G. Aerobic biotransformation of n-tetradecylbenzyldimethylammonium chloride by an enriched *Pseudomonas* spp. community. Environ Sci Technol. 2012 Aug 21; 46 (16): 8714–8722. doi: 10.1021/es300518c.
95. Ertekin E., Konstantinidis K.T., Tezel U. A Rieske-type oxygenase of *Pseudomonas* sp. BIOMIG1 converts benzalkonium chlorides to benzyldimethylamine. Environ Sci Technol. 2017 Jan 3; 51 (1): 175–181. doi: 10.1021/acs.est.6b03705.
96. Hill G.A., Robinson C.W. Substrate inhibition kinetics: phenol degradation by *Pseudomonas putida*. Biotechnol Bioeng. 1975; 17: 599–615.
97. Adroer N., Casas C., de Mas C., Solà C. Mechanism of formaldehyde biodegradation by *Pseudomonas putida*. Appl Microbiol Biotechnol. 1990 May; 33 (2): 217–20. doi: 10.1007/BF00176528.
98. Ahmed A.M., Nakhla F.G., Farooq S. Phenol degradation by *Pseudomonas aeruginosa*. J Environ Sci Health A: Environ Sci Eng Toxicol. 1994; 30: 99–107.
99. Kumar A., Kumar S., Kumar S. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194. Biochem Eng J. 2005; 22: 151–159. doi: 10.1016/j.bej.2004.09.006.
100. Agarry S.E., Solomon B.O. Kinetics of batch microbial degradation of phenols by indigenous *Pseudomonas fluorescence*. Int J Environ Sci Technol. 2008; 5: 223–232.
101. Hasan S.A., Jabeen S. Degradation kinetics and pathway of phenol by *Pseudomonas* and *Bacillus* species. Biotechnol Biotechnol Equip. 2015 Jan 2; 29 (1): 45–53. doi: 10.1080/13102818.2014.991638.
102. Kümmerle N., Feucht H.H., Kaulfers P.M. Plasmid-mediated formaldehyde resistance in *Escherichia coli*: characterization of resistance gene. Antimicrob Agents Chemother. 1996 Oct; 40 (10): 2276–2279. doi: 10.1128/AAC.40.10.2276.
103. Roca A., Rodríguez-Herva J.J., Duque E., Ramos J.L. Physiological responses of *Pseudomonas putida* to formaldehyde during detoxification. Microb Biotechnol. 2008 Mar; 1 (2): 158–69. doi: 10.1111/j.1751-7915.2007.00014.x.
104. Mishra S., Imlay J. Why do bacteria use so many enzymes to scavenge hydrogen peroxide? Arch Biochem Biophys. 2012 Sep 15; 525 (2): 145–160. doi: 10.1016/j.abb.2012.04.014.
105. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995; 49: 711–745. doi: 10.1146/annurev.mi.49.100195.003431.
106. Branda S.S., Vik S., Friedman L., Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. Trends Microbiol. 2005 Jan; 13 (1): 20–26. doi: 10.1016/j.tim.2004.11.006.
107. Smith K., Hunter I.S. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. J Med Microbiol. 2008 Aug; 57 (Pt 8): 966–973. doi: 10.1099/jmm.0.47668-0.
108. Wong H.S., Townsend K.M., Fenwick S.G., Trengove R.D., O'Handley R.M. Comparative susceptibility of planktonic and 3-day-old *Salmonella* Typhimurium biofilms to disinfectants. J Appl Microbiol. 2010 Jun; 108 (6): 2222–8. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04630.x.
109. Houari A., Di Martino P. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. Lett Appl Microbiol. 2007 Dec; 45 (6): 652–656. doi: 10.1111/j.1472-765X.2007.02249.x.
110. Pagedar A., Singh J., Batish V.K. Adaptation to benzalkonium chloride and ciprofloxacin affects biofilm formation potential, efflux pump and haemolysin activity of *Escherichia coli* of dairy origin. J Dairy Res. 2012 Nov; 79 (4): 383–9. doi: 10.1017/S0022029912000295.

111. Machado I., Lopes S.P., Sousa A.M., Pereira M.O. Adaptive response of single and binary *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms to benzalkonium chloride. J Basic Microbiol. 2012 Feb; 52 (1): 43–52. doi: 10.1002/jobm.201100137.
112. Nakamura H., Takakura K., Sone Y., Itano Y., Nishikawa Y. Biofilm formation and resistance to benzalkonium chloride in *Listeria monocytogenes* isolated from a fish processing plant. J Food Prot. 2013 Jul; 76 (7): 1179–1186. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-225.
113. Houari A., Di Martino P. Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. Lett Appl Microbiol. 2007; 45: 652–656. doi: 10.1111/j.1472-765x.2007.02249.x.
114. Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities. Annu Rev Microbiol. 2002; 56: 187–209. doi: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
115. Zakikhany K., Harrington C.R., Nimtz M., Hinton J.C., Römling U. Unphosphorylated CsgD controls biofilm formation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Mol Microbiol. 2010 Aug; 77 (3): 771–786. doi: 10.1111/j.1365-2958.2010.07247.x.
116. Omadjela O., Narahari A., Strumillo J., Mélida H., Mazur O., Bulone V., Zimmer J. BcsA and BcsB form the catalytically active core of bacterial cellulose synthase sufficient for in vitro cellulose synthesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Oct 29; 110 (44): 17856–17861. doi: 10.1073/pnas.1314063110.
117. Simm R., Ahmad I., Rhen M., Le Guyon S., Römling U. Regulation of biofilm formation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Future Microbiol. 2014; 9 (11): 1261–1282. doi: 10.2217/fmb.14.88.
118. Liu Z., Niu H., Wu S., Huang R. CsgD regulatory network in a bacterial trait-altering biofilm formation. Emerg Microbes Infect. 2014; 3: 1–5. doi: 10.1038/emi.2014.1.
119. Chen S., Feng Z., Sun H., Zhang R., Qin T., Peng D. Biofilm-formation-related genes csgD and bcsA promote the vertical transmission of *Salmonella enteritidis* in chicken. Front Vet Sci. 2021 Jan 14; 7: 625049. doi: 10.3389/fvets.2020.625049.
120. Lemos J.A., Luzardo Y., Burne R.A. Physiologic effects of forced down-regulation of dnaK and groEL expression in *Streptococcus mutans*. J Bacteriol. 2007 Mar; 189 (5): 1582–1588. doi: 10.1128/JB.01655-06.
121. van der Veen S., Abee T. HrcA and DnaK are important for static and continuous-flow biofilm formation and disinfectant resistance in *Listeria monocytogenes*. Microbiology (Reading). 2010 Dec; 156 (Pt 12): 3782–3790. doi: 10.1099/mic.0.043000-0.
122. van der Veen S., Abee T. Importance of SigB for *Listeria monocytogenes* static and continuous-flow biofilm formation and disinfectant resistance. Appl Environ Microbiol. 2010 Dec; 76 (23): 7854–7860. doi: 10.1128/AEM.01519-10.
123. Wolska K.L., Grudniak A.M., Rudnicka Z., Markowska K. Genetic control of bacterial biofilms. J Appl Genet. 2016 May; 57 (2): 225–238. doi: 10.1007/s13353-015-0309-2.
124. Wagner V.E., Bushnell D., Passador L., Brooks A.I., Iglewski B.H. Microarray analysis of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing regulons: effects of growth phase and environment. J Bacteriol. 2003 Apr; 185 (7): 2080–95. doi: 10.1128/JB.185.7.2080-2095.2003.
125. Cotter P.A., Stibitz S. c-di-GMP-mediated regulation of virulence and biofilm formation. Curr Opin Microbiol. 2007 Feb; 10 (1): 17–23. doi: 10.1016/j.mib.2006.12.006.
126. Kim B., Park J.S., Choi H.Y., Yoon S.S., Kim W.G. Terrein is an inhibitor of quorum sensing and c-di-GMP in *Pseudomonas aeruginosa*: a connection between quorum sensing and c-di-GMP. Sci Rep. 2018 Jun 5; 8 (1): 8617. doi: 10.1038/s41598-018-26974-5.
127. Russell A.D. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria. J Appl Microbiol. 2002; 92 Suppl: 121S–35S.
128. Maillard J.Y. Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment: should it be of genuine concern? J Hosp Infect. 2007 Jun; 65 Suppl 2: 60–72. doi: 10.1016/S0195-6701(07)60018-8.
129. Meyer B., Cookson B. Does microbial resistance or adaptation to biocides create a hazard in infection prevention and control? J Hosp Infect. 2010 Nov; 76 (3): 200–205. doi: 10.1016/j.jhin.2010.05.020.
130. Kampf G. Biocidal agents used for disinfection can enhance antibiotic resistance in gram-negative species. Antibiotics (Basel). 2018 Dec 14; 7 (4): 110. doi: 10.3390/antibiotics7040110.
131. Walsh S.E., Maillard J.Y., Russell A.D., Catrenich C.E., Charbonneau D.L., Bartolo R.G. Development of bacterial resistance to several biocides and effects on antibiotic susceptibility. J Hosp Infect. 2003 Oct; 55 (2): 98–107. doi: 10.1016/S0195-6701(03)00240-8.
132. Narui K., Takano M., Noguchi N., Sasatsu M. Susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates to seven biocides. Biol Pharm Bull. 2007 Mar; 30 (3): 585–587. doi: 10.1248/bpb.30.585.
133. Braoudaki M., Hilton A.C. Adaptive resistance to biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and cross-resistance to antimicrobial agents. J Clin Microbiol. 2004 Jan; 42 (1): 73–78. doi: 10.1128/JCM.42.1.73-78.2004.
134. Abdelaziz A., Sonbol F., Elbanna T., El-Ekhawey E. Exposure to sublethal concentrations of benzalkonium chloride induces antimicrobial resistance and cellular changes in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. Microb Drug Resist. 2019 Jun; 25 (5): 631–638. doi: 10.1089/mdr.2018.0235.
135. Verspecht T., Rodriguez Herrero E., Khodaparast L., Khodaparast L., Boon N., Bernaerts K., Quirynen M., Teughels W. Development of antiseptic adaptation and cross-adaptation in selected oral pathogens in vitro. Sci Rep. 2019 Jun 6; 9 (1): 8326. doi: 10.1038/s41598-019-44822-y.
136. Wand M.E., Bock L.J., Bonney L.C., Sutton J.M. Mechanisms of increased resistance to chlorhexidine and cross-resistance to colistin following exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Dec 27; 61 (1): e01162–16. doi: 10.1128/AAC.01162-16.
137. De Oliveira D.M.P., Forde B.M., Kidd T.J., Harris P.N.A., Schembri M.A., Beatson S.A., Paterson D.L., Walker M.J. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020 May 13; 33 (3): e00181–19. doi: 10.1128/CMR.00181-19.

Информация об авторах

Ковальчук Светлана Николаевна — к. б. н., старший научный сотрудник Лаборатории преодоления микробной резистентности ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Федорова Людмила Самуиловна — д. м. н., заведующая Лабораторией преодоления микробной резистентности ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Ильина Елена Николаевна — д. б. н., член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ФБУН «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора, Москва, Россия

About the authors

Svetlana N. Kovalchuk — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Laboratory of overcoming microbial resistance of the Scientific Research Institute for Systems Biology and Medicine of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Lyudmila S. Fedorova — D. Sc. in Medicine, Head of the Laboratory of overcoming microbial resistance of Scientific Research Institute for Systems Biology and Medicine of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Elena N. Ilina — D. Sc. in Medicine, Corresponding member of RAS, Principal Researcher of the Scientific Research Institute for Systems Biology and Medicine of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Сукцинат и сукцинатдегидрогеназа как «точка опоры» в цикле Кребса при критических состояниях

*Ю. П. ОРЛОВ¹, А. В. БУТРОВ², С. В. СВИРИДОВ³, В. В. АФАНАСЬЕВ⁴,
А. Н. КОНДРАТЬЕВ⁵, Л. М. ЦЕНЦИПЕР⁵, Н. В. ГОВОРОВА¹,
А. И. КОНДРАТЬЕВ¹, Г. А. БАЙТУГАЕВА¹, Е. Н. КАКУЛЯ¹

¹ ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Succinate and Succinate Dehydrogenase as a «Foothold» in the Krebs Cycle in Critical Conditions

*YURII P. ORLOV¹, ANDREY V. BUTROV², SERGEY V. SVIRIDOV³, VASILY V. AFANASIEV⁴,
ANATOLY N. KONDRATIEV⁵, LUBOV M. TSENTSIPER⁵, NATALY V. GOVOROVA¹,
ARKADY I. KONDRATIEV¹, GALINA A. BAYTUGAEVA¹, EVGENY N. KAKULYA¹

¹ Omsk State Medical University, Omsk, Russia

² RUDN University, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

⁴ North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

⁵ Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia

Резюме

Цель. Поиск и представление данных экспериментальных и клинических исследований, отражающих центральную роль сукцината и сукцинатдегидрогеназы в регуляции механизмов адаптации при критических состояниях. **Материал и методы.** Поиск источников литературы проводился с использованием электронных ресурсов российской научной электронной библиотеки eLIBRARY.ru, где использовались следующие ключевые слова «цикл Кребса, сукцинат, сукцинатдегидрогеназа, критические состояния» и в англоязычной текстовой базе медицинских и биологических публикаций по медицинским наукам PUBMED, где были использованы аналогичные ключевые слова «Krebs cycle, succinate, succinate dehydrogenase, critical conditions». **Результаты.** С учётом данных, представленных в обзоре, можно констатировать, что комплекс сукцинат и сукцинатдегидрогеназа является центральным звеном цикла Кребса и главной структурой антигипоксического ансамбля всех клеток организма в период адаптации при критических состояниях. **Заключение.** Данные экспериментальных и клинических исследований, отражающих центральную роль сукцината и сукцинатдегидрогеназы не только в механизмах адаптации к гипоксии, а также в регуляции воспаления, термогенеза, расстройств гемостаза, кислотно-основного состояния, обмена электролитов, сосудистого тонуса и трофики тканей кишечника, а также в иммунологических реакциях организма, позволяют рассматривать субстрат и фермент как центральное звено цикла Кребса и главной структурой антигипоксического ансамбля всех клеток организма. Приведённые в обзоре данные открывают новые перспективы использования сукцинатов при критических состояниях.

Ключевые слова; цикл Кребса; сукцинат; сукцинатдегидрогеназа; критические состояния

Для цитирования: Орлов Ю. П., Бутров А. В., Свиридов С. В., Афанасьев В. В., Кондратьев А. Н., Ценципер Л. М., Говорова Н. В., Кондратьев А. И., Байтугаева Г. А., Какуля Е. Н. Сукцинат и сукцинатдегидрогеназа как «точка опоры» в цикле Кребса при критических состояниях. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68: 1–2: 57–68. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-57-68>.

Abstract

Purpose. Search and presentation of data from experimental and clinical studies reflecting the central role of succinate and succinate dehydrogenase in the regulation of adaptation mechanisms in critical conditions. **Material and methods.** The search for literature sources was carried out using the electronic resources of the Russian scientific electronic library eLIBRARY.ru, with the use of the following keywords: «Krebs cycle, succinate, succinate dehydrogenase, critical conditions», as well as in the English-language text database of medical and biological publications on medical sciences PUBMED, where

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. Ленина, 12, Омский ГМУ, г. Омск, 644099, Сибирский Федеральный округ, Омская область, Сибирский Федеральный округ, Россия, 644099. E-mail: orlov-up@mail.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 12 Lenina st., Omsk State Medical University, Omsk, 644099 Russia. E-mail: orlov-up@mail.ru

similar keywords «Krebs cycle, succinate, succinate dehydrogenase, critical conditions» were used. **Results.** Taking into account the data presented in the review, it can be stated that the complex of succinate and succinate dehydrogenase is the central link in the Krebs cycle and the main structure of the antihypoxic ensemble of all body cells during the adaptation period under critical conditions. **Conclusion.** The data of experimental and clinical studies reflecting the central role of succinate and succinate dehydrogenase not only in the mechanisms of adaptation to hypoxia, but also in the regulation of inflammation, thermogenesis, hemostasis disorders, acid-base state, electrolyte metabolism, vascular tone and trophism of intestinal tissues, as well as in immunological reactions of the body, allow us to consider the substrate and enzyme as the central link of the Krebs cycle and the main structure of the antihypoxic ensemble of all body cells. The data presented in the review open up new prospects for the use of succinates in critical conditions.

Keywords: Krebs cycle; succinate; succinate dehydrogenase; critical conditions

For citation: Orlov Yu. P., Butrov A. V., Sviridov S. V., Afanasiev V. V., Kondratiev A. N., Tsentsiper L. M., Govorova N. V., Kondratiev A. I., Baytugaeva G. A., Kakulya E. N. Succinate and succinate dehydrogenase as a «foothold» in the Krebs cycle in critical conditions. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 57–68. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-57-68>.

Работа биологической системы похожа на работу фабрики: каждая машина (или фермент) на фабрике выполняет одну или несколько взаимосвязанных задач. В установившемся режиме скорость каждой реакции в системе одинакова. Однако скорость, как иногда утверждается, не определяется производительностью самой медленной машины («шаг ограничения скорости»). Вместо этого весь процесс работы динамичен и отзывчив, а регулировка концентраций промежуточных соединений системой координирует скорость каждой машины, но со скоростью всех других, связанных с ней. Такая координация помогает избежать накопления слишком большого количества одного или истощения другого ресурса (фермента), что и обеспечивает бесперебойную работу фабрики.

Введение

В течение миллионов лет в процессе эволюции природой скрупулёзно проверялись реакции, которые бы приводили к адаптации в условиях дефицита кислорода и выбору наиболее подходящих реакций для выживания в условиях гипоксии. С эволюционной точки зрения, цикл Кребса начался не как цикл, а как две линейные и независимые последовательности реакций, которые в определённый момент времени объединились, чтобы организовать циклический путь. Сначала «цикл» носил восстановительный характер — он был признан «циклом Кребса» только по его окислительной функции, и следовательно, он зависит исключительно от молекулярного кислорода. Цикл Кребса — это цепочка химических реакций, происходящих в митохондриях каждой клетки нашего тела, которая называется циклом, потому что продолжается непрерывно. Это нечто вроде «perpetuum mobile», вечный двигатель, где общим конечным путём является окисление ацетильных групп (в виде ацетил-КоА), в которые превращается в процессе распада большая часть органических молекул, играющих роль «клеточного топлива» или «суб-

стратов окисления»: углеводов, жирных кислот и аминокислот.

Некоторые первичные изменения проложили путь для эволюции и поддержания цикла Кребса как центрального метаболического пути для многоклеточных организмов в условиях кислородной среды, и именно сукцинату природа определила главную роль. Нужно отметить, что сукцинат «родился» до открытия цикла Кребса и до открытия дыхательной цепи митохондрий и механизмов тканевого дыхания. Ещё в 1920-х годах янтарная кислота (сукцинат), дикарбоновая кислота, впервые была соотнесена с теорией последовательного окисления углеводов, предложенной Торстеном Тунбергом [1]. В следующем десятилетии эта последовательность окисления была лучше описана благодаря исследованиям Альберта фон Сент-Дьерди на грудных мышцах голубей [2]. Следовательно, была обнаружена каталитическая роль сукцината в качестве переносчика водорода в аэробном дыхании [2]. Уже тогда возникла гипотеза, что при гипоксии дыхательная цепь митохондрий не может принять на себя водород от какого-либо иного субстрата, кроме как от молекулы янтарной кислоты. При её окислении водород поступает на значительное более близкий к кислороду участок дыхательной цепи, что более экономно и быстрее.

Затем, в конце 1930-х годов, Кребс описал ядро аэробного дыхания, цикл Кребса, также называемый циклом трикарбоновой кислоты или циклом лимонной кислоты [3]. С добавлением нескольких дополнительных деталей, этот цикл сегодня остаётся лучшим описанием аэробного дыхания на сегодняшний день [4] (рис. 1). После этого в течение многих десятилетий сукцинат рассматривался только как промежуточный продукт цикла Кребса.

Нужно отметить, что новаторская работа Кребса и других, проведённая в 1960-х годах установила, что во многих органах даже очень короткие периоды гипоксии могут привести к избирательному увеличению тканевого сукцината, что резко контрастирует с падением других проме-

жуточных продуктов цикла. Однако с годами сукцинат был в значительной степени забыт, в то время как роль окислительного стресса и накопления активных форм кислорода (АФК), как основного побочного продукта и признака митохондриального стресса и дефицита энергии при критических состояниях, преобладала [5].

Исследования, сосредоточенные на сукцинатдегидрогеназе и её субстрате сукцинате, достигли кульминации в 50-х годах прошлого века, сопровождая быстрое развитие дальнейших исследований, посвящённых биоэнергетике и промежуточному метаболизму при гипоксии и роли сукцината в типовом патологическом процессе. Это позволило исследователям раскрыть значение двух «игроков» — сукцинатдегидрогеназы и сукцината как в дыхательной цепи митохондрий, так и в цикле Кребса. В настоящее время эта тема переживает настоящий бум возрождения.

Вдохновлённые недавними разработками в научных областях, мы сочли полезным собрать и проанализировать доступные данные, чтобы выделить вопросы, которые до сих пор остаются открытыми. Таким образом, в этом обзоре мы рассмотрим биохимические, метаболические и клинические аспекты, связанные с сукцинатдегидрогеназой и сукцинатом, которые в различных концентрациях нацелены на антиоксидантную защиту в условиях окислительного стресса при критических состояниях.

Место сукцината и сукцинатдегидрогеназы в цикле Кребса и в дыхательной цепи митохондрий

В целом, эволюция, как процесс, связана с генетическими мутациями, которые приводят к созданию более приспособленного организма, способного противостоять изменениям окружающей среды. Это медленный и непрерывный процесс, который не начинается с нуля и не стремится к совершенству, а вместо этого фокусируется на поддержке тех метаболических стратегий, которые приносят улучшения организму и его потомкам. В этом смысле цикл Кребса является абсолютным эволюционным успехом природы, отражённым его повсеместным распространением среди всех существ, зависящих от кислорода. Конечным результатом данного цикла реакций является производство аденозинтрифосфата (АТФ) — вещества, которое представляет собой энергетическую основу жизнедеятельности организма. По-другому этот цикл называется клеточным дыханием, так как большинство его стадий происходят с участием кислорода. Кроме того, выделяют другую важнейшую функцию

цикла Кребса — пластическую (строительную), так как во время цикла вырабатываются важные для жизнедеятельности элементы: углеводы, аминокислоты и другие.

Благодаря работе нескольких выдающихся биохимиков в 1950-х годах были раскрыты основные общественно признанные функции сукцинатдегидрогеназы в митохондриях аэробных организмов. Было обнаружено, что фермент сукцинатдегидрогеназа играет ведущую роль не только в цикле Кребса, но и в дыхательной цепи [6]. У животных, как и у большинства живых организмов, сукцинатдегидрогеназа не имеет клеточной изоформы, в отличие от большинства ферментов цикла Кребса, за исключением цитратсинтазы и сукцинил-КоА-лигазы [7]. Следовательно, в случае дисфункции или дефицита фермента это уменьшает возможность метаболических трансформаций. Интересно, что у эукариотов все реакции цикла Кребса протекают только внутри митохондрий, причём катализирующие их ферменты, кроме одного, находятся в свободном состоянии в митохондриальном матриксе. Исключение составляет только фермент сукцинатдегидрогеназа (или сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза), которая локализуется на внутренней митохондриальной мембране, как бы встраиваясь в липидный бислой [8]. Не зря сукцинатдегидрогеназа, сукцинат и супероксидный радикал сегодня рассматривают как генетический, эпигенетический, метаболический, экологический взрывоопасный перекрёсток!

Сукцинатдегидрогеназа млекопитающих участвует не только в образовании энергии в митохондриях, но также играет роль в чувствительности клетки к кислороду. Фундаментальная роль сукцинатдегидрогеназы в цепи переноса электронов митохондрий делает её жизненно важной для большинства многоклеточных организмов, так как делеция генов этого фермента из генома летальна, что было показано на ранних эмбрионах мышей [9]. Действительно, этот фермент катализирует окисление сукцината до фумарата, то есть обеспечивает энергией центральную стадию цикла Кребса и восстанавливает FAD до FADH₂, который затем восстанавливает убихинон до убихинола [10]. Комплекс II дыхательной цепи является единственным комплексом цепи, который не перекачивает протоны через мембрану и который полностью кодируется ядерной ДНК [7–10].

Сукцинат образуется в митохондриях посредством цикла и может выходить из митохондриального матрикса, функционировать в цитоплазме, а также во внеклеточном пространстве, изменяя паттерны экспрессии генов, модулируя эпигенетический ландшафт или демонстрируя гормоноподобную передачу сигналов [11]. Откры-

тый Бритоном Чансом (Briton Chance) механизм доминирования окисления янтарной кислоты, как главного энергетического субстрата в дыхательной цепи, является самым мощным, из всех других субстратов и путей их окисления. Чансом было установлено, что при стресс-реакциях и при разного рода экстремальных состояниях в организме возникают условия нейрохимической регуляции, которые позволяют янтарной кислоте «монополизировать» дыхательную цепь по отношению к другим НАД-зависимым субстратам окисления. При этом массивный выброс адренергических гормонов-медиаторов обеспечивает мощный «разгон» дыхательной цепи, который более чем на порядок может превосходить окисление других субстратов в цикле, но при значительно меньших потребностях в кислороде. Возникает своеобразная цепная реакция, при которой нейрональный и экстранейрональный выброс катехоламинов в органы и ткани стимулирует процесс образования янтарной кислоты, а она, в свою очередь, стимулирует процесс образования адреналина и норадреналина [12–14].

Таким образом, сукцинат связывает клеточный метаболизм, особенно образование АТФ, с регуляцией клеточной функции. Нарушение регуляции синтеза сукцината и, следовательно, синтеза АТФ происходит при некоторых генетических заболеваниях митохондрий, таких как синдром Ли и синдром Melas (синдром митохондриальной энцефаломиопатии, лактоацидоза и эпизодов, подобных инсульту), а деградация может привести к патологическим состояниям, таким как злокачественная трансформация, воспаление и повреждение тканей [15].

Таким образом, все метаболические пути, которые связаны с циклом Кребса, включая метаболизм углеводов, аминокислот, жирных кислот, холестерина и гема, зависят от временного образования сукцината. Дефицит энергии может также стимулировать пролиферацию митохондрий в гладких мышцах и эндотелиальных клетках мелких кровеносных сосудов, что приводит к ангиопатии и нарушению кровотока в микроциркуляторном русле нескольких органов [16].

Особенностью комплекса II является ещё один важный факт — присутствие в структуре сукцинатдегидрогеназы железосерных кластеров. Дело в том, что комплекс II не взаимодействует с другими комплексами дыхательной цепи электронов и не входит в состав супрамолекулярных комплексов — респирасом. В результате окисления сукцината его электроны переносятся строго на ФАД, а затем передаются по цепи из железосерных кластеров от кластера [Fe-S] к [3Fe-4S]. Там эти электроны переносятся на ожидающую в сайте связывания молекулу убихинона [17]. Первый электрон (как показано на рис. 2), поступаю-

щий к убихинону через [3Fe-4S], может быстро перемещаться вперёд–назад между гемом и связанным с ним убихиноном. Таким образом, гем в структуре субъединицы сукцинатдегидрогеназы играет роль стока электронов, предотвращая их взаимодействие с молекулярным кислородом, которое привело бы к образованию АФК в реакции Фентона [18]. Чем не антиоксидантная функция фермента?

В живых организмах янтарная кислота или сукцинат принимает форму аниона сукцината, который играет множество биологических ролей в качестве метаболического промежуточного звена, превращаемого сукцинат в фумарат ферментом сукцинатдегидрогеназой во II комплексе дыхательной цепи переноса электронов, которая участвует не только в производстве АТФ, но и в качестве сигнальной молекулы, отражающей состояние клеточного метаболизма в условиях дефицита кислорода. В организме всех живых существ существует сенсорная (сигнальная) функция митохондриальной дыхательной цепи по отношению к кислороду. В ответ на гипоксию синтез HIF-1 (гипоксия индуцирующий фактор) начинается по сигналу от сукцинат-зависимого рецептора (GPR91). Когда клетки ощущают гипоксию и активируется HIF-1, он распознаёт и связывается со специальной последовательностью в регуляторном домене генов-мишеней. HIF-1 активирует набор генов, кодирующих ферменты, ответственные за гликолиз (9 из 12 гликолитических ферментов), и, наоборот, другой набор генов, который подавляет окислительное фосфорилирование для облегчения метаболического перепрограммирования [19]. В результате происходит торможение I участка (НАД+) дыхательной цепи митохондрий, ведь он энергозатратный. Поэтому включается более эффективный синтез сукцинатзависимой энергии на II участке и стабилизация HIF-1. При этом активируются ряд шунтов окисления, сопряжённых с эндогенным образованием сукцината (из малата, фумарата и α -кетоглутарата). Это вновь выгодно и экономно при гипоксии, потому что при окислении сукцината водород поступает на значительное более близкий к кислороду участок дыхательной цепи [19].

Роль сукцинатдегидрогеназы и сукцината в условиях гипоксии

В условиях прогрессирующей гипоксии дефицит кислорода, лимитирующий скорость окисления всех субстратов, снижает ценность сукцината и ставит его в один ряд с другими субстратами окисления. Поэтому применение сукцината в качестве антигипоксанта должно быть особенно эффективно в комплексе с препаратами, улуч-

шающими кислородное обеспечение организма [20]. Преимущественное использование сукцината — естественная защита клетки против гипоксии. При этом пополнение фонда субстрата может происходить за счёт реакций цикла Кребса, идущих как в прямом, так и в обратном направлениях [21].

Клеточный стресс, такой как гипоксия, может повлиять на нормальное функционирование цикла лимонной кислоты и заставить часть цикла работать в обратном направлении, что в конечном итоге приводит к увеличению выработки сукцината (рис. 3) [21]. При обратном течении реакций имеющийся запас малата по мере необходимости превращается в фумарат, который восстанавливается в сукцинат. Восстановление фумарата сопровождается выработкой АТФ, и поэтому реакции обращения в системе «малат-фумарат-сукцинат» способны поддерживать окислительное фосфорилирование даже при аноксии [22], что в свою очередь ясно указывает на то, что первые животные возникли в среде, где они сталкивались с низким содержанием кислорода, и что реакция на низкий уровень кислорода остаётся незамеченной до настоящего времени.

В условиях же гипоксии инверсивные превращения фумарата выполняют роль триггера, который в зависимости от концентрации кислорода регулирует течение конечных реакций цикла Кребса в прямом либо в обратном направлениях, и эти реакции сопровождаются синтезом АТФ. При снижении концентрации кислорода роль сукциноксидазного окисления в качестве энергетического субстрата снижается [23]. Однако при этом активируется ряд шунтов окисления, сопряжённых с эндогенным образованием сукцината [23]. Это состояние отражает, видимо, перенапряжение системы (начальная стадия декомпенсации энергетического обмена) и сопряжено с появлением нарушений ультраструктуры митохондрий, а

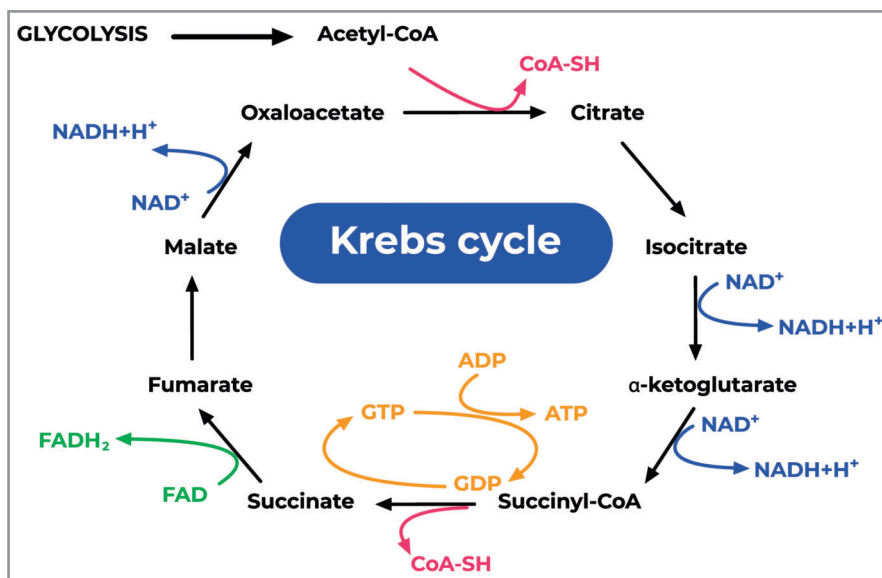


Рис. 1. Упрощённая схема цикла Кребса (цикла трикарбоновых кислот).
Fig. 1. A simplified diagram of the Krebs cycle (tricarboxylic acid cycle).

также снижением экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 (гипоксия индуцирующий фактор-1). Для ишемических и гипоксических состояний доказана возможность вовлечения ещё одного метаболического пути продукции сукцината и сохранения сукциноксидазного пути окисления (II комплекса) при восстановительном обращении цикла Кребса за счёт активации цикла пуриновых нуклеотидов и малат-аспаратного шунта с образованием фумарата, восстанавливающегося в сукцинат [24, 25]. В результате про-

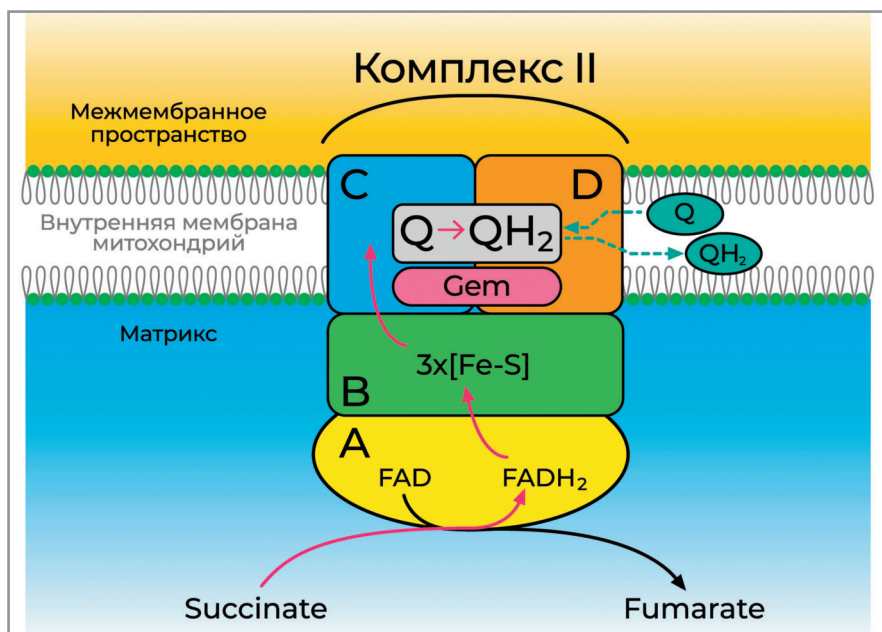


Рис. 2. Субъединица сукцинатдегидрогеназы.

Адаптировано: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Сукцинатдегидрогеназа>

Fig. 2. Subunit of succinate dehydrogenase.

Adapted: https://ru.wikipedia.org/wiki/Succinate_dehydrogenase

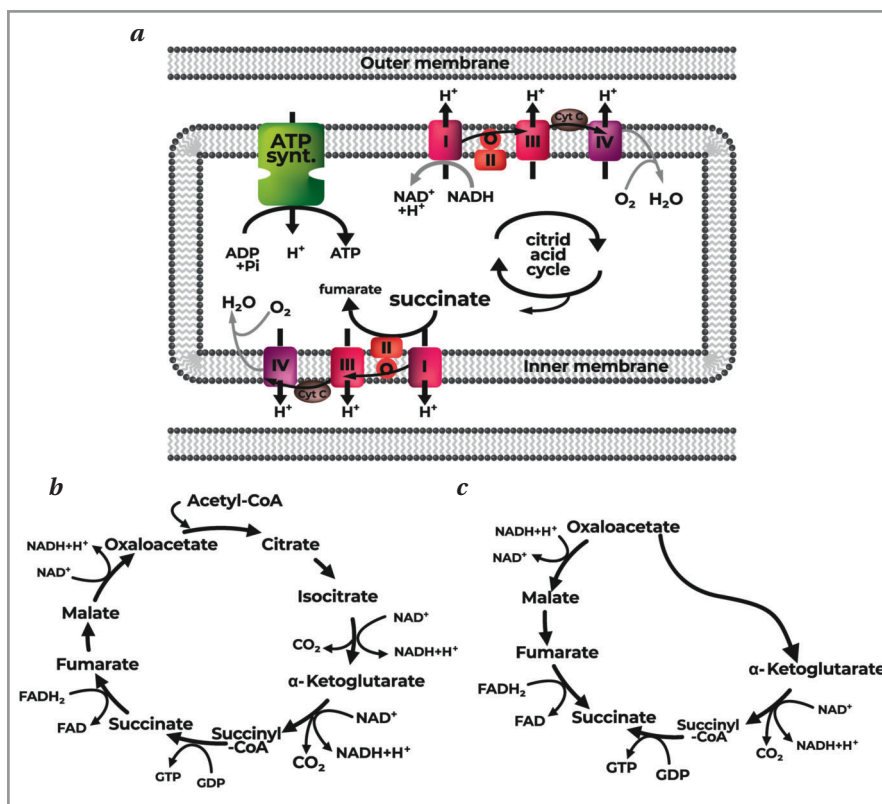


Рис. 3. Генерация сукцината в митохондриях.

Адаптировано: [21].

Fig. 3. Generation of succinate in mitochondria.

Adapted: [21].

исходит снижение степени восстановленности NADH и восстановление активности I комплекса, коррелирующее с резким увеличением содержания АТА-синтазы. Благодаря этому в условиях тяжёлых гипоксических воздействий поставщиками электронов являются как НАД-зависимое, так и сукцинатоксидазное окисление. В работах отечественных авторов была показана важная роль анаэробного образования сукцината в аноксических и гипоксических состояниях и активации окисления сукцината при гипоксии [25].

Все эти механизмы обеспечивают снижение активности I комплекса и включают реверсию цикла трикарбоновых кислот с образованием сукцината и сопряжённую сукцинат-зависимую активацию аминотрансферазных реакций, фосфорилирование субстрата α-кетоглутарата, α-глицерофосфата и активацию пуринового нуклеотидного цикла [25, 26]. Авторами был сделан вывод, что для поддержания энергетики клеток животных в условиях дефицита кислорода целесообразно использовать субстраты, способные участвовать в анаэробном образовании сукцината, тогда как при гипоксии целесообразно использовать сам сукцинат [27, 28].

В 2010 г. на страницах PLoS One была опубликована интересная экспериментальная совмест-

ная работа норвежских, австрийских и немецких авторов «Metabolomic analyses of plasma reveals new insights into asphyxia and resuscitation in pigs» [29], где была показана уникальная роль эндогенного сукцината в условиях гипоксии. Четыре метаболита (из 45 анализируемых веществ) показали резкое увеличение во время гипоксии — 850, 266, 8000 и 587% для лактата, альфа-кето-глутарата, сукцината и fumarата, соответственно. Реоксигенация приводила к снижению этих метаболитов. Но если во всех трёх группах (в зависимости от вентиляции 21% или 100% кислородом в течение 15 мин, а затем вентиляции комнатным воздухом в течение 45 мин (группы 1 $n=8$ и 2 ($n=8$) или для получения 100% кислорода в течение 60 мин (группа 3 ($n=11$)) уровень лактата снижался в одинаковой степени, то интермедиаты цикла Кребса альфа-кето-глутарат, сукцинат и fumarат достоверно снижались с разной

скоростью в зависимости от протокола реанимации, демонстрируя более быстрое снижение в группе реоксигенации на уровне 21%. Оказалось, что реанимация поросят со 100% кислородом задерживает клеточное восстановление. Авторы отмечают, что выраженное снижение интермедиатов цикла Кребса сукцината, fumarата и альфа-кето-глутарата указывает на более раннее восстановление функции митохондрий при использовании 21% кислорода для реанимации по сравнению со 100% кислородом [29].

Полиорганный спектр влияния сукцинатов при критических состояниях

Механизмы запуска полиорганной недостаточности, по-видимому, множественны. Окислительный стресс, опять же, по-видимому, является одним из таких пусковых механизмов и сегодня это общепризнано. При этом существуют разные определения окислительного стресса, но наиболее распространённым и описательным является дисбаланс между выработкой АФК и антиоксидантной способностью клеток, что при избытке АФК потенциально может повреждать клетки и разрушать ткани [30].

За последние несколько лет было проведено большое количество исследований, описывающих окислительный стресс у пациентов с сепсисом, с доказательствами продукции АФК, связанного с этим повреждения и истощения антиоксидантов [31] и описано много экспериментальных исследований относительно вариантов использования сукцинатов при различных критических состояниях, сопровождающихся развитием тканевой гипоксии [32–34].

В 50-е годы прошлого столетия использование сукцинатов было сосредоточено на ситуациях, касающихся исключительно тканевой гипоксии в условиях различной патологии [35], протекающей с острой дыхательной недостаточности: при бронхиальной астме [36, 37], тяжёлых отравлениях [38], при ряде воспалительных и нейродегенеративных процессах [39].

Защитные эффекты инфузии янтарной кислоты при экспериментальной эндотоксемии были продемонстрированы ещё в 90-х годах прошлого века [34] и неоднократно подтверждались в последующих исследованиях [32, 33]. Недавние исследования S. P. Chapela и соавт. [40] ещё раз наглядно показало, снижает ли парентеральное введение сукцината системную выработку АФК? Крысы с перевязкой и пункцией слепой кишки использовали в качестве модели сепсиса и разделили на 4 группы: контрольная группа; сукцинатная группа, которая получала сукцинат парентерально; группа сепсиса; и группа животных с сепсисом, которым вводили парентерально сукцинат. Системные АФК измеряли количественно через 24 ч после процедуры. Крысы, подвергшиеся пункции слепой кишки, получавшие сукцинат, имели меньше количество системных АФК, чем крысы, не получавшие (при $p=0,007$) [40]. Все указанные исследования подтверждают, что при сепсисе активность электрон-транспортной цепи и митохондриальное дыхание снижены, о чём свидетельствуют более низкие уровни потребления кислорода и снижение уровня АТФ и соотношения АТФ/АДФ [41]. По всей видимости, при сепсисе в митохондриях действуют аналогичные механизмы, зависящие от глубины и тяжести гипоксии, так как несколько исследований показали низкую активность в электрон-транспортной цепи комплекса IV в тромбоцитах пациентов с сепсисом [42], в то время как D. Brealey и соавт. [43] показали более низкую активность в комплексе I, но в комплексах II, III и IV не было никакой разницы. Все вышесказанное указывает на природную оригинальность II комплекса, позволяющего проявлять компенсаторный характер в условиях тканевой гипоксии при сепсисе. Это говорит о том, что нарушается утилизация кислорода, но не доставка; состояние, называемое цитопатической гипоксией [44]. В этом контексте нужно отметить

и факт, что сукцинат является высокоаккумулированным метаболитом в макрофагах в ответ на стимуляцию липополисахаридами (ЛПС) [45].

Нарушение спланхического кровотока с развитием ишемии и гипоперфузии в условиях сепсиса или развития любого критического состояния является постоянной проблемой, приводящей к трофическим расстройствам кишечной стенки и с угрозой транслакции кишечной флоры в системный кровоток. В данном контексте интересны и перспективны экспериментальные исследования X. Li и соавт. [46], где сукцинат улучшал морфологию кишечника и снижал проницаемость эпителия кишечника. Авторы отмечают, что сукцинат способствует поддержанию целостности кишечного эпителия, восстановлению и гомеостазу кишечника. Сукцинат активировал несколько провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, активировал врождённый иммунитет и усиливал иммунную функцию кишечника, тем самым защищал целостность эпителия тонкой кишки [46].

Учитывая многофункциональное значение кислорода для всех клеточных структур, можно предположить, что и клетки, обеспечивающие процессы гемостаза, в частности тромбоциты, имеющие в своей структуре митохондрии, будут аналогично обеспечивать работу собственной дыхательной цепи. Особенностью тромбоцита является его способность к активации — быстрому и, как правило, необратимому переходу в новое состояние. Стимулом активации может служить практически любое возмущение окружающей среды, вплоть до простого механического напряжения, но чаще всего стимулом является гипоксическая среда. Несмотря на то что основными физиологическими активаторами тромбоцитов считаются коллаген (главный белок внеклеточного матрикса), тромбин (основной белок плазменной системы свёртывания), АДФ (аденозиндифосфат, появляющийся из разрушенных клеток сосуда или секретируемый самими тромбоцитами) и тромбоксан A₂ (вторичный активатор, синтезируемый и выбрасываемый тромбоцитами; его дополнительная функция заключается в стимуляции вазоконстрикции), выполнение тромбоцитами своей физиологической функции возможно лишь при условии обеспечения клеток достаточным количеством энергии, за выработку которой отвечают собственные митохондрии. Тромбоциты имеют решающее значение для артериального тромбоза, который лежит в основе не только инфаркта миокарда и инсульта, но и микротромбозов при COVID-19, так называемого микрососудистого тромбовоспалительного синдрома (MicroCLOTS), приводящего к обструкции сосудов лёгких [47]. Активированные тромбоциты, независимо от природы их стимуляции, инициируют энергоёмкие процессы, ко-

которые поддерживают образование тромба, адаптируясь к потенциальным неблагоприятным последствиям гипоксии и недостатка питательных веществ. Как и любые клетки, потребляющие кислород, стимулированные тромбоциты переключают свой энергетический метаболизм на аэробный гликолиз путём модуляции ферментов на ключевых контрольных точках метаболизма глюкозы. Р. Р. Kulkarni и соавт. [48] обнаружили, что аэробный гликолиз, в свою очередь, ускоряет поток через пентозофосфатный путь и поддерживает активацию тромбоцитов, что позволяет использовать препараты сукцинатов для регуляции энергообеспечения тромбоцитов.

Следовательно, обратная метаболическая адаптация тромбоцитов может быть эффективной, если внутривенное введение метаболических модуляторов (сукцината) значительно задержит образование и рост тромбов в артериолах и капиллярах, тем самым замедлит и временно интервал для полной окклюзии сосудов. В данном контексте уместно привести результаты исследования И. С. Симутис и соавт. [49], где авторы показали на небольшой группе пациентов с COVID-19, что пациенты, получавшие сукцинат не только быстрее отвечали на проводимую антикоагулянтную терапию, что выражалось в более отчётливой динамике показателей коагулограммы (прирост АЧТВ, сохранение популяции тромбоцитов, снижение концентрации D-димеров и фибриногена), но при этом отмечали значимое снижение частоты тромбоэмболических событий в течение 28 сут лечения, а также сокращение сроков лечения в ОРИТ.

В контексте COVID-19 и положительных эффектов использования сукцинатов в отечественной практике [50], следует ещё раз обратить внимание на наличие в структуре сукцинатдегидрогеназы железных кластеров, обеспечивающих связывание свободных ионов железа. Этот эффект обеспечивает не только антиоксидантную защиту, но и конкуренцию фермента и вируса за железо [51]. По всей видимости, вирулентность SARS-CoV-2 прямо связана с его зависимостью от железа, что в принципе характерно не только для вирусов, но и для бактерий, грибов и многих паразитов, поскольку железо участвует во многих биологических процессах, включая синтез ДНК/РНК и генерацию АТФ, поэтому вирусы нуждаются в железе для своей репликации в клетках-хозяевах. Достаточные внутриклеточные уровни железа поддерживают репликацию коронавируса, тогда как дефицит железа, напротив подрывает процесс его репликации, препятствуя вирусной транскрипции, трансляции, сборке и экзоцитозу [52]. Но оказывается, экзогенный сукцинат может уменьшать степень репликации вирусов [53]. Сукцинат не

ингибирует секрецию медиаторов воспаления, индуцированную вирусом, но блокирует размножение вируса гриппа в эпителиальных клетках лёгких. Авторы наблюдали заметное снижение вирусной нагрузки при лечении сукцинатом в отдельных эпителиальных клетках дыхательных путей человека [53] и значительное уменьшение индуцированного вирусом утолщения альвеолярной стенки, гиалиновой мембраны и некроза эпителия у мышей, получавших сукцинат, по сравнению с контрольными инфицированными животными. Наконец, мыши, инфицированные вирусом LD₅₀, начали терять массу через 5 дней после заражения и в конечном итоге 40% умерли. Мыши, получавшие сукцинат, не теряли в массе и все выжили. Открытие, что сукцинат эффективно нарушает цикл репликации гриппа, открывает новые возможности для улучшения лечения не только гриппозной пневмонии [53], но и SARS-CoV-2, что с успехом подтвердили отечественные авторы [54–57].

В другом исследовании метаболизм сукцината оценивали в альвеолярно-эпителиальном с помощью масс-спектрометрии, а также окислительно-восстановительных измерений и оценки острого повреждения лёгких. У мышей, индуцированных механической вентиляцией, снижалась активность сукцинатдегидрогеназы и увеличивалось содержание сукцината в альвеолярно-эпителиальном слое. *In vitro* сукцинат уменьшал воспаление эпителия во время растяжения. Мыши с сукцинатом выявили уменьшение воспаления лёгких, улучшение функции альвеолярного барьера и ослабление гистологических повреждений [58].

Гипотермия, как некий эквивалент любого критического состояния является прогипоксическим компонентом, как последний элемент защиты от гипоксии. Оказывается, что сукцинат контролирует активацию термогенеза жировой ткани, а фармакологическое повышение циркулирующего сукцината стимулирует термогенез коричневой жировой тканью, что в свою очередь, стимулирует не только надёжную защиту от гипотермии, но и от ожирения, вызванного диетой, и улучшает толерантность к глюкозе [59]. Сукцинат из внеклеточной среды быстро метаболизируется коричневыми адипоцитами, и для активации термогенеза требуется его окисление сукцинатдегидрогеназой. Е. L. Mills и соавт. [59] показали механизм, посредством которого опосредованное сукцинатдегидрогеназой окисление сукцината инициирует выработку АФК и стимулирует термогенное дыхание, тогда как ингибирование сукцинатдегидрогеназы, напротив, подавляет термогенез. Ряд отечественных работ подтверждает указанный факт [60–62]. Эти результаты

раскрывают неожиданный механизм контроля за термогенезом с использованием сукцината в качестве термогенной молекулы системного природного происхождения.

Было показано, что при моделировании тиопенталовой комы у крыс изучали влияние сукцината натрия и/или внешнего согревания для поддержания нормальной температуры тела (изотермический режим) на газообмен, содержание газов в крови, кислотно-щелочной статус и выживаемость. Выживаемость при отсутствии терапии составила 42%, при изолированном применении изотермического режима или сукцинатной терапии — 50%; при их комбинированном применении резко возросла до 92%. Сукцинат увеличивал артериовенозный градиент pO_2 , уменьшал дефицит буферных оснований, повышал концентрацию бикарбоната. При изотермическом режиме накопление CO_2 в крови уменьшалось, его экскреция увеличивалась, pH крови приближался к нормальным значениям. Совместное применение обоих терапевтических средств увеличивало потребление O_2 и усиливало их положительное влияние на кислотно-щелочной статус [63].

Цикл Кребса представляет собой не только серию химических реакций, используемых в аэробных организмах для выработки энергии, но в значительной степени участвует в регуляции иммунных реакций [64]. Среди всех метаболитов цикла сукцинат занимает ведущую роль в регуляции клеточного иммунитета при клеточном стрессе, что позволяет рассматривать сукцинат, как метаболический сигнал, регулирующий локальный стресс, повреждение тканей и иммунологическую опасность путём иммунометаболического перепрограммирования. Иммунная активация связана с гликолизом, поскольку метаболический «переключатель» важен для выживания иммунных клеток в очагах воспаления, где уровень кислорода низкий [65]. В этом процессе HIF-1 α по сигналу от сукцината позволяет клеткам адаптироваться к среде с низким содержанием кислорода в качестве ключевого датчика кислорода. Кроме всего сукцинат является высокоаккумулятированным метаболитом в макрофагах в ответ на стимуляцию липолисахаридами. Это может указывать на роль внутриклеточного сукцината в ингибировании воспалительных реакций, поскольку, как описано, активность SDH изменяется в провоспалительных макрофагах, что приводит к накоплению сукцината и к дозозависимому ингибированию медиаторов воспаления IL-6, TNF- α и NO [66].

Заключение

С учётом данных, представленных в обзоре, можно констатировать, что комплекс сукцинат и сукцинатдегидрогеназа являются центральным звеном цикла Кребса и главной структурой антигипоксического ансамбля всех клеток организма.

Именно этому комплексу поручено обеспечение регуляции работы дыхательной цепи митохондрий, так как внутриклеточный энергетический статус может работать только через высвобождение сукцината и окисление его сукцинатдегидрогеназой, выполняющих антиоксидантную защиту путём связывания избытка ионов железа.

Это согласовывает эволюционно созданную природу сукцината как внутриклеточного метаболита с расширяющимся списком влияния на большинство физиологических процессов жизнеобеспечения, включая расход энергии, воспаление и ренин-ангиотензиновую систему и синтез катехоламинов, что в случаях физиологической гипоксии или внутриклеточного подкисления будут включаться в качестве общего механизма для инициирования автономных режимов регуляции адаптации к гипоксии, снижению репликации вирусов, регуляции термогенеза и гемостаза, кислотно-основного состояния и обмена электролитов, сосудистого тонуса и трофики тканей кишечника.

Сукцинат стал ключевым игроком в активации макрофагов, как метаболический переключатель, который важен для выживания иммунных клеток в очагах воспаления, где уровень кислорода низкий, и, более того, сукцинат показал дозозависимое ингибирование медиаторов воспаления IL-6, TNF- α и NO, что может свидетельствовать о роли внутриклеточного сукцината в ингибировании воспалительных реакций.

Любая клиническая ситуация, диктующая использование тех или иных лекарственных средств, должна опираться, кроме опыта, интуиции и доказательной медицины, на данные экспериментальных фундаментальных исследований, отмахнуться от которых, бывает просто нельзя. Возможность экстраполяции данных эксперимента на пациентов, не должна быть проблемой, так как рассматриваемый вариант роли сукцината и сукцинатдегидрогеназы опирается на общебиологический феномен гипоксии, как типового патологического процесса, одинакового для любого организма, потребляющего кислород.

Литература/References

1. *Thunberg T.* The Hydrogen-activating enzymes of the cells. The Quarterly Review of Biology. 1930; 5 (3): 318–347. doi: <https://doi.org/10.1086/394361>.
2. *Rall J.A.* Generation of life in a test tube: Albert Szent-Gyorgyi, Bruno Straub, and the discovery of actin. Adv Physiol Educ. 2018 Jun 1; 42 (2): 277–288. doi: [10.1152/advan.00189.2017](https://doi.org/10.1152/advan.00189.2017).
3. *Krebs H.A.* Some aspects of the energy transformation in living matter. Br Med Bull. 1953; 9 (2): 97–104. doi: [10.1093/oxfordjournals.bmb.a074347](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a074347).
4. *Krebs H.A.* Die energieliefernden Reaktionen des Stoffwechsels [Energy furnishing reactions of metabolism]. Klin Wochenschr. 1957 Mar 1; 35 (5): 209–13. German. doi: [10.1007/BF01482767](https://doi.org/10.1007/BF01482767).
5. *Lee I., Hüttemann M.* Energy crisis: the role of oxidative phosphorylation in acute inflammation and sepsis. Biochim Biophys Acta. 2014 Sep; 1842 (9): 1579–86. doi: [10.1016/j.bbdis.2014.05.031](https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2014.05.031).
6. *Ackrell B.A.* Progress in understanding structure-function relationships in respiratory chain complex II. FEBS Lett. 2000 Jan 21; 466 (1): 1–5. doi: [10.1016/S0014-5793\(99\)01749-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)01749-4).
7. *Moosavi B., Berry E.A., Zhu X.L., Yang W.C., Yang G.F.* The assembly of succinate dehydrogenase: a key enzyme in bioenergetics. Cell Mol Life Sci. 2019 Oct; 76 (20): 4023–4042. doi: [10.1007/s00018-019-03200-7](https://doi.org/10.1007/s00018-019-03200-7).
8. *Bénit P., Goncalves J., El Khoury R., Rak M., Favier J., Gimenez-Roqueplo A.P., Rustin P.* Succinate dehydrogenase, succinate, and superoxides: a genetic, epigenetic, metabolic, environmental explosive crossroad. Bio-medicines. 2022 Jul 25; 10 (8): 1788. doi: [10.3390/biomedicines10081788](https://doi.org/10.3390/biomedicines10081788).
9. *Protasoni M., Zeviani M.* Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. Int J Mol Sci. 2021 Jan 8; 22 (2): 586. doi: [10.3390/ijms22020586](https://doi.org/10.3390/ijms22020586).
10. *Rutter J.W.D., Schiffman J.D.* Succinate dehydrogenase — Assembly, regulation and role in human disease. Mitochondrion. 2010; 10: 393–401. doi: [10.1016/j.mito.2010.03.001](https://doi.org/10.1016/j.mito.2010.03.001).
11. *Tretter L., Patocs A., Chinopoulos C.* Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. Biochimica et Biophysica Acta. 2016; 1857 (8): 1086–1101. doi: [10.1016/j.bba-bio.2016.03.012](https://doi.org/10.1016/j.bba-bio.2016.03.012).
12. *Chance B., Williams G.R.* A method for the localization of sites for oxidative phosphorylation. Nature. 1955 Aug 6; 176 (4475): 250–254.
13. *Chance B., Williams G.R.* Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. VI. The effects of adenosine diphosphate on azide-treated mitochondria. J Biol Chem. 1956 Jul; 221 (1): 477–489.
14. *Chance B., Hollunger G.* The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. I. General properties and nature of the products of succinate-linked reduction of pyridine nucleotide. J Biol Chem. 1961 May; 236: 1534–1543.
15. *El-Hattab A.W., Adesina A.M., Jones J., Scaglia F.* MELAS syndrome: clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. Mol Genet Metab. 2015 Sep-Oct; 116 (1–2): 4–12. doi: [10.1016/j.jmgme.2015.06.004](https://doi.org/10.1016/j.jmgme.2015.06.004).
16. *Granger D.N., Kvietys P.R.* Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. Redox Biol. 2015 Dec; 6: 524–551. doi: [10.1016/j.redox.2015.08.020](https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.020).
17. Handbook of flavoproteins: volume 2: Complex flavoproteins, dehydrogenases and physical methods / Russ Hille, Susan Miller, Bruce Palfey (eds.). Berlin: Walter de Gruyter & Co. 2013; 2: 141–436.
18. *Ousaka D., Nishibori M.* A new approach to combat the sepsis including COVID-19 by accelerating detoxification of hemolysis-related DAMPs. Nihon Yakurigaku Zasshi. 2022; 157 (6): 422–425. Japanese. doi: [10.1254/fpj.22073](https://doi.org/10.1254/fpj.22073).
19. *Hirota K.* Basic biology of hypoxic responses mediated by the transcription factor HIFs and its implication for medicine. Biomedicines. 2020 Feb 13; 8 (2): 32. doi: [10.3390/biomedicines8020032](https://doi.org/10.3390/biomedicines8020032).
20. *Лукьянова Л.Д.* Сигнальные механизмы гипоксии. М.: Российская академия наук, 2019; 215. ISBN 978-5-907036-45-1. EDN ZXWRHB. [Luk'yanova L. D. Signal'nye mekhanizmy gipoksii. Moscow: Rossijskaya Akademiya Nauk, 2019; 215. ISBN 978-5-907036-45-1. EDN ZXWRHB. (in Russian)]
21. *Ariza A.C., Deen P.M., Robben J.H.* The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions. Front Endocrinol (Lausanne). 2012 Feb 16; 3: 22. doi: [10.3389/fendo.2012.00022](https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00022).
22. *Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. Cell. 2012; 148: 399–408.
23. *Weinberg J.M., Venkatachalam M.A., Roeser N.E., Nissim I.* Mitochondrial dysfunction during hypoxia/reoxygenation and its correction by anaerobic metabolism of citric acid cycle intermediates. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Mar 14; 97 (6): 2826–31. doi: [10.1073/pnas.97.6.2826](https://doi.org/10.1073/pnas.97.6.2826).
24. *Lukyanova L.D., Kirova Y.I.* Mitochondria-controlled signaling mechanisms of brain protection in hypoxia. Front Neurosci. 2015 Oct 1; 9: 320. doi: [10.3389/fnins.2015.00320](https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00320).
25. *Fedotcheva N.I., Sokolov A.P., Kondrashova M.N.* Nonezymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress. Free Radic Biol Med. 2006 Jul 1; 41 (1): 56–64. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2006.02.012](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.02.012).
26. *Lukyanova L., Germanova E., Khmil N., Pavlik L., Mikheeva I., Shigaeva M., Mironova G.* Signaling role of mitochondrial enzymes and ultrastructure in the formation of molecular mechanisms of adaptation to hypoxia. Int J Mol Sci. 2021 Aug 11; 22 (16): 8636. doi: [10.3390/ijms22168636](https://doi.org/10.3390/ijms22168636).
27. *Маевский Е.И., Гришина Е.В., Розенфельд А.С., Зиакун А.М., Верещagina В.М., Кондрашова М.Н.* Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления — возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию. Биофизика. 2000; 45 (3): 509–513. PMID: 10872064. [Maevskij E.I., Grishina E.V., Rozenfel'd A.S., Ziakun A.M., Vereshchagina V.M., Kondrashova M.N. Anaerobnoe obrazovanie suksinata i oblegchenie ego okisleniya — vozmozhnye mekhanizmy adaptatsii kletki k kislorodnomu golodaniyu. Biofizika. 2000; 45 (3): 509–513. PMID: 10872064. (in Russian)]
28. *Маевский Е.И., Розенфельд А.С., Песков А.Б., Кондрашова М.Н.* Сигнальное симпатическое действие сукцината в экспериментальных и клинических исследованиях; Материалы 14-й Европейской конференции по биоэнергетике. Краткие доклады. 2006. М.: Россия. 22–27 июля 2006; 536–537. [Maevskij E.I., Rozenfel'd A.S., Peskov A.B., Kondrashova M.N. Signal'noe simpaticeskoe dejstvie suksinata v eksperimental'nykh i klinicheskikh issledovaniyakh; Materialy 14-j Evropejskoj konferentsii po bioenergetike. Kratkie Doklady. 2006. M.: Rossiya. 22–27 iyulya 2006; 536–537. (in Russian)]
29. *Solberg R., Enot D., Deigner H.P., Koal T., Scholl-Bürgi S., Saugstad O.D., Keller M.* Metabolomic analyses of plasma reveals new insights into asphyxia and resuscitation in pigs. PLoS One. 2010 Mar 9; 5 (3): e9606. doi: [10.1371/journal.pone.0009606](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009606).
30. *Preiser J.-C.* Oxidative stress. J Parenter Enteral Nutr. 2012; 36 (2): 147–154. doi: [10.1177/0148607111434963](https://doi.org/10.1177/0148607111434963).
31. *Galley H. F.* Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. Br J Anaesth. 2011; 107 (1): 57–64. doi: [10.1093/bja/aer093](https://doi.org/10.1093/bja/aer093).
32. *Protti A., Carré J., Frost M. T. et al.* Succinate recovers mitochondrial oxygen consumption in septic rat skeletal muscle. Crit Care Med. 2007; 35 (9): 2150–2155. doi: [10.1097/01.ccm.0000281448.00095.4d](https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000281448.00095.4d).
33. *Ferreira F., Ladrrière L., Vincent J. L., Malaisse W.* Prolongation of survival time by infusion of succinic acid dimethyl ester in a caecal ligation and perforation model of sepsis. Hormone and Metabolic Research. 2000; 32 (8): 335–336. doi: [10.1055/s-2007-978647](https://doi.org/10.1055/s-2007-978647).
34. *Malaisse W. J., Nadi A. B., Ladrrière L., Zhang T. M.* Protective effects of succinic acid dimethyl ester infusion in experimental endotoxemia. Nutrition. 1997; 13 (4): 330–341.
35. *Barrett R.H.* Sodium succinate; clinical use in respiratory depression. Curr Res Anesth Analg. 1948 Nov-Dec; 27 (6): 326–335. PMID: 18893455.
36. *Olletti M.* Esperienze cliniche sul trattamento dell'asma infantile con acido succinico. Clinical experience in the treatment of infantile asthma with succinic acid. Acta Paediatr Lat. 1951 May-Jun; 4 (3): 265–267.
37. *Goupil A., Corolleur J.R., Warnery M., Fargepallet G.* Etude spirométrique de l'action de l'acide succinique chez 117 malades. Spirographic study on the action of succinic acid in 117 patients. Poulmon. 1952 Aug-Sep; 8 (7): 613–624.
38. *Jenkins L.C., Graves H.B.* An appraisal of the present treatment of barbiturate poisoning. Can Anaesth Soc J. 1958 Jan; 5 (1): 41–54. doi: [10.1007/BF03015576](https://doi.org/10.1007/BF03015576). PMID: 13489525.
39. *Aird R.B.* Succinate therapy in multiple sclerosis. Neurology. 1951 May-Jun; 1 (3): 219–227. doi: [10.1212/wnl.1.5.219](https://doi.org/10.1212/wnl.1.5.219). PMID: 14833533.
40. *Chapela S.P., Burgos I., Congost C., Canzonieri R., Muryan A., Alonso M., Stella C.A.* Parenteral succinate reduces systemic ROS production in septic rats, but it does not reduce creatinine levels. Oxid Med Cell Longev. 2018 Nov 6; 2018: 1928945. doi: [10.1155/2018/1928945](https://doi.org/10.1155/2018/1928945).
41. *Van Wyngene L., Vandewalle J., Libert C.* Reprogramming of basic metabolic pathways in microbial sepsis: therapeutic targets at last? EMBO Mol Med. 2018; 10 (8): e8712. doi: [10.15252/emmm.201708712](https://doi.org/10.15252/emmm.201708712).
42. *Lorente L., Martín M. M., López-Gallardo E. et al.* Decrease of oxidative phosphorylation system function in severe septic patients. J Crit Care. 2015; 30 (5): 935–939. doi: [10.1016/j.jcrrc.2015.05.031](https://doi.org/10.1016/j.jcrrc.2015.05.031).
43. *Brealey D., Brand M., Hargreaves I. et al.* Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. Lancet. 2002; 360 (9328): 219–223. doi: [10.1016/S0140-6736\(02\)09459-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09459-X).
44. *Fink M.P.* Bench-to-bedside review: Cytopathic hypoxia. Crit Care. 2002; 6: 491–499. doi: [10.1186/cc1824](https://doi.org/10.1186/cc1824).
45. *Choi I., Son H., Baek J.H.* Tricarboxylic acid (TCA) cycle intermediates: regulators of immune responses. Life (Basel). 2021 Jan 19; 11 (1): 69. doi: [10.3390/life11010069](https://doi.org/10.3390/life11010069).
46. *Li X., Mao M., Zhang Y., Yu K., Zhu W.* Succinate Modulates Intestinal Barrier Function and Inflammation Response in Pigs. Biomolecules. 2019; 9: 486. doi: [10.3390/biom9090486](https://doi.org/10.3390/biom9090486).

47. Ciceri F, Beretta L, Scandroglio A.M., Colombo S., Landoni G., Ruggeri A., Peccatori J., D'Angelo A., De Cobelli F, Rovere-Querini P, Tresoldi M., Dagna L., Zangrillo A. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc.* 2020 Apr 15; 22 (2): 95–97.
48. Kulkarni P.P., Tiwari A., Singh N., Gautam D., Sonkar V.K., Agarwal V., Dash D. Aerobic glycolysis fuels platelet activation: small-molecule modulators of platelet metabolism as anti-thrombotic agents. *Haematologica.* 2019 Apr; 104 (4): 806–818. doi: 10.3324/haematol.2018.205724.
49. Симутис И.С., Бояринов Г.А., Юрьев М.Ю., Петровский Д.С., Коваленко А.Л., Сапожников К.В. Первый опыт применения меглюмина натрия сукцината в коррекции COVID-19-ассоциированной коагулопатии. *Общая реаниматология.* 2021; 17 (3): 50–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-3-5>. [Simutis I.S., Boyarinov G.A., Jyur'ev M.Jyu., Petrovskij D.S., Kovalenko A.L., Sapozhnikov K.V. Pervyj opyt primeneniya megljumi natriya suksinata v korrektsii COVID-19-assotsirovannoj koagulyopatii. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2021; 17 (3): 50–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-3-5>. (in Russian)]
50. Камчатнов П.Р., Ханмурзаева С.Б., Чугунов А.В., Ханмурзаева Н.Б. Неврологические аспекты постковидного синдрома. *Терапия.* 2022; 3 (55): 144–152. [Kamchatnov P.R., Khanmurzaeva S.B., Chugunov A.V., Khanmurzaeva N.B. Nevrologicheskie Aspekty Postkovidnogo Sindroma. *Terapiya.* 2022; 3 (55): 144–152. (in Russian)]
51. Drakesmith H., Prentice A. Viral infection and iron metabolism. *Nat Rev Microbiol.* 2008; 6 (7): 541–552. doi: 10.1038/nrmicro1930.
52. Liu W., Zhang S., Nekhai S., Liu S. Depriving iron supply to the virus represents a promising adjuvant therapeutic against viral survival. *Curr Clin Microbiol Rep.* 2020; 7 (2): 20: 1–7. doi: 10.1007/s40588-020-00140-w.
53. Guillon A., Brea-Diakite D., Cezard A., Wacquez A., Baranek T., Bourgeais J. et al. Host succinate inhibits influenza virus infection through succinylation and nuclear retention of the viral nucleoprotein. *EMBO J.* 2022 Jun 14; 41 (12): e108306. doi: 10.15252/embj.2021108306.
54. Иванова М.И., Щеглова Ю.М., Иванов В.М. и др. Применение реамберина при комплексной амбулаторной реабилитации больных, перенесших пневмонию, обусловленную SARS-CoV-2. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2022; 85 (5): 15–19. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2022-85-5-15-19>. [Ivanova M. I., Shcheglova Jyu. M., Ivanov V. M. i dr. Primenenie reamberina pri kompleksnoj ambulatornoj reabilitatsii bol'nykh, perenesshikh pnevmoniju, obuslovlennuju SARS-CoV-2. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2022; 85 (5): 15–19. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2022-85-5-15-19>. (in Russian)]
55. Яковлев А. Ю., Певнев А. А., Дудорова М. В. и др. Метаболическая терапия и её влияние на респираторную функцию лёгких у пациентов с тяжёлым течением COVID-19. *Казанский медицинский журнал.* 2022; 103 (3): 364–372. doi: <https://doi.org/10.17816/KMJ2022-364>. [Yakovlev A. Jyu., Pevnev A. A., Dudorova M. V. i dr. Metabolicheskaya terapiya i ee vliyaniye na respiratornuyu funktsiyu legkikh u patientsov s tyazhelym techeniem COVID-19. *Kazanskij Meditsinskij Zhurnal.* 2022; 103 (3): 364–372. doi: <https://doi.org/10.17816/KMJ2022-364>. (in Russian)]
56. Шаповалов К. Г., Цыденпилгов Г. А., Лукьянов С. А. и др. Перспективы применения сукцината при тяжёлом течении новой коронавирусной инфекции. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2020; 83 (10): 40–43. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-10-40-43>. [Shapovalov K. G., Tsydenpilov G. A., Luk'yanov S. A. i dr. Perspektivy primeneniya suksinatov pri tyazhelom techenii novoj koronavirusnoj infektsii. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2020; 83 (10): 40–43. doi: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-10-40-43>. (in Russian)]
57. Трухан Д.И., Давыдов Е.Л. Лекарственные поражения печени: возможности полиионного сукцинат метионинового комплекса во время пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19). *Медицинский совет.* 2021; 15: 110–121. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-15-110-121>. [Trukhan D.I., Davydov E.L. Lekarstvennyye porazheniya pecheni: vozmozhnosti poliionnogo suksinat metioninovogo kompleksa vo vremya pandemii novoj koronavirusnoj infektsii (COVID-19). *Meditsinskij Sovet.* 2021; 15: 110–121. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-15-110-121>. (in Russian)]
58. Vohwinkel C.U., Coit E.J., Burns N., Elajaili H., Hernandez-Saavedra D., Yuan X. et al. Targeting alveolar-specific succinate dehydrogenase A attenuates pulmonary inflammation during acute lung injury. *FASEB J.* 2021 Apr; 35 (4): e21468. doi: 10.1096/fj.202002778R.
59. Mills E.L., Pierce K.A., Jedrychowski M.P., Garrity R., Winther S., Vidoni S., Yoneshiro T., Spinelli J.B., Lu G.Z., Kazak L., Banks A.S., Haigis M.C., Kajimura S., Murphy M.P., Cyg S.P., Clish C.B., Chouchani E.T. Accumulation of succinate controls activation of adipose tissue thermogenesis. *Nature.* 2018 Aug; 560 (7716): 102–106. doi: 10.1038/s41586-018-0353-2.
60. Александрович Ю. С., Пишенисов К. В., Красносельский К. Ю. и др. Влияние растворов на основе субстратов цикла трикарбоновых кислот на показатели температуры у детей во время анестезии. *Анестезиология и реаниматология.* 2017; 62 (1): 28–32. doi: <https://doi.org/10.18821/0201-7563-2017-62-1-29-32>. [Aleksandrovich Jyu. S., Psheninsnov K. V., Krasnosel'skij K. Jyu. i dr. Vliyaniye rastvorov na osnove substratov tsikla trikarbonovykh kislot na pokazateli temperatury u detej vo vremya anestezii. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2017; 62 (1): 28–32. doi: <https://doi.org/10.18821/0201-7563-2017-62-1-29-32>. (in Russian)]
61. Александрович Ю.С., Юрьев О.В., Пишенисов К.В., Красносельский К.Ю. Интраоперационная коррекция нарушений температурного гомеостаза у детей. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2012; 75 (5): 39–43. [Aleksandrovich Jyu.S., Jyur'ev O.V., Psheninsnov K.V., Krasnosel'skij K.Jyu. Intraoperatsionnaya korrektsiya narushenij temperaturnogo gomeostaza u detej. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2012; 75 (5): 39–43. (in Russian)]
62. Красносельский К.Ю., Александрович Ю.С., Гордеев В.И., Лосев Н.А. О возможности управления интраоперационным термоденезом. *Анестезиология и реаниматология.* 2007; 3: 33–35. [Krasnosel'skij K.Jyu., Aleksandrovich Jyu.S., Gordeev V.I., Losev N.A. O vozmozhnosti upravleniya intraoperatsionnym termogenezom. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2007; 3: 33–35. (in Russian)]
63. Ivnitsky J.J., Rejniuk V.L., Schäfer T.V., Malakhovsky V.N. Succinate and artificial maintenance of normal body temperature synergistically correct lethal disorders in thiopental coma rat. *Toxicology.* 2006 Jan 20; 218 (1): 22–29. doi: 10.1016/j.tox.2005.09.006.
64. Choi I., Son H., Baek J.H. Tricarboxylic acid (TCA) cycle intermediates: regulators of immune responses. *Life (Basel).* 2021 Jan 19; 11 (1): 69. doi: 10.3390/life11010069.
65. Harber K.J., de Goede K.E., Verberk S.G.S., Meinster E., de Vries H.E., van Weeghel M., de Winther M.P.J., Van den Bossche J. Succinate is an inflammation-induced immunoregulatory metabolite in macrophages. *Metabolites.* 2020; 10: 372. doi: 10.3390/metabo10090372.
66. Mills E.L., Kelly B., Logan A., Costa A.S.H., Varma M., Bryant C.E., Tourlousis P., Däbritz J.H.M., Gottlieb E., Latorre I. et al. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell.* 2016; 167: 457–470. e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.064.

Информация об авторах

Орлов Юрий Петрович — д. м. н., доцент, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет МЗ РФ», Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-6747-998X

Бутров Андрей Валерьевич — д. м. н., профессор врач-анестезиолог-реаниматолог; заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ГОУ ВПО РУДН, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-0033-783X

Свиридов Сергей Викторович — д. м. н., профессор заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии ЛФ, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-9976-8903

About the authors

Yurii P. Orlov — D. Sc. in Medicine, Associate Professor, Professor at the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6747-998X

Andrey V. Butrov — D. Sc. in Medicine, Professor, anesthesiologist-resuscitator; Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, RUDN University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-0033-783X

Sergey V. Sviridov — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of the Department of Anesthesiology, Resuscitation, and Intensive Care, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-9976-8903

Афанасьев Василий Владимирович — д. м. н. врач-токсиколог, профессор кафедры неотложной медицины, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0001-6504-8169

Кондратьев Анатолий Николаевич — д. м. н., профессор, заслуженный врач Российской Федерации, заведующий НИЛ нейропротекции и нейрометаболических нарушений Российского научно-исследовательского нейрохирургического института им. профессора А. Л. Поленова, филиал ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID-0000-0002-7648-2208

Ценципер Любовь Марковна — д. м. н., профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии с клиникой ИМО ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России; ведущий научный сотрудник НИЛ нейропротекции и нейрометаболических нарушений Российского научно-исследовательского нейрохирургического института имени профессора А. Л. Поленова, филиал ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID-0000-0001-7527-7707

Говорова Наталья Валерьевна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой анестезиологии и реаниматологии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-0495-902X

Кондратьев Аркадий Иванович — к. м. н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0001-9761-5957

Байтугаева Галина Абукановна — к. м. н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-6479-7915

Какуля Евгений Николаевич — к. м. н., ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия. ORCID: 0000-0002-2811-6051

Vasily V. Afanasiev — D. Sc. in Medicine, Toxicologist, Professor, Department of Emergency Medicine, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0001-6504-8169

Anatoly N. Kondratiev — D. Sc. in Medicine, Professor, Honored doctor of the Russian Federation, Head of the Research Laboratory of Neuroprotection and Neurometabolic Disorders, Polenov Neurosurgical Institute, branch of Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0002-7648-2208

Lubov M. Tsentsiper — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Almazov National Medical Research Center; Leading researcher of the Research Laboratory of Neuroprotection and Neurometabolic Disorders, Polenov Neurosurgical Institute, branch of Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0001-7527-7707

Nataly V. Govorova — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0495-902X

Arkady I. Kondratiev — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9761-5957

Galina A. Baytugaeva — Ph. D. in Medicine, Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6479-7915

Evgeny N. Kakulya — Ph. D. in Medicine, Assistant of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Omsk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Omsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2811-6051

К вопросу о скрининге и профилактике хронических и оппортунистических инфекций в ревматологии

*Б. С. БЕЛОВ, Г. И. ГРИДНЕВА, Е. С. АРОНОВА, Н. В. МУРАВЬЕВА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой, Москва, Россия

On the Issue of Screening and Prevention of Chronic and Opportunistic Infections in Rheumatology

*BORIS S. BELOV, GALINA I. GRIDNEVA, EVGENIA S. ARONOVA, NATALIA V. MURAVYEVA

V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

Резюме

Проблема коморбидных инфекций в ревматологии по-прежнему сохраняет свою актуальность. На фоне иммуносупрессивной/иммуномодулирующей терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний (ИВРЗ) достаточно часто развиваются хронические и оппортунистические инфекции (ХОИ). Некоторые из этих инфекций можно предотвратить при выполнении своевременных процедур скрининга и профилактических мер. Группой экспертов Европейского альянса ревматологических ассоциаций (EULAR) подготовлены рекомендации, посвящённые процедурам скрининга и мерам профилактики наиболее часто встречающихся ХОИ (туберкулёз, хронические вирусные гепатиты В и С, инфекции, вызванные вирусом иммунодефицита человека и *Herpes zoster*, пневмоцистная пневмония) в рамках ИВРЗ. В настоящей статье представлены основные положения указанного документа. Подчёркивается необходимость периодического пересмотра скрининговых и превентивных процедур по мере накопления новых научных данных.

Ключевые слова: иммуновоспалительные ревматические заболевания; коморбидные инфекции; туберкулёз, гепатит В, гепатит С, вирус иммунодефицита человека, пневмоцистная пневмония; скрининг; профилактика; рекомендации

Для цитирования: Белов Б. С., Гриднева Г. И., Аронова Е. С., Муравьева Н. В. К вопросу о скрининге и профилактике хронических и оппортунистических инфекций в ревматологии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2023; 68: 1–2: 69–76. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-69-76>.

Abstract

The problem of comorbid infections in rheumatology still remains relevant. Against the background of immunosuppressive/immunomodulatory therapy of immuno-inflammatory rheumatic diseases (IIRD), chronic and opportunistic infections (COI) often develop. Some of these infections can be prevented by performing timely screening procedures and preventive measures. A group of experts from the European Alliance of Rheumatology Associations (EULAR) has prepared recommendations on screening procedures and prevention measures for the most common COI (tuberculosis, chronic viral hepatitis B and C, infections caused by the human immunodeficiency virus and *Herpes zoster*, pneumocystis pneumonia) within the framework of the IIRD. This article presents the main provisions of this document. The need for periodic review of screening and preventive procedures is emphasized as new scientific data are accumulated.

Keywords:

For citation: Belov B. S., Gridneva G. I., Aronova E. S., Muravyeva N. V. On the issue of screening and prevention of chronic and opportunistic infections in rheumatology. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68: 1–2: 69–76. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-69-76>.

Введение

На сегодняшний день доказана существующая тесная связь между иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями (ИВРЗ) и возникновением коморбидных инфекций (КИ). Причины этого разнообразны и включают в себя

лежащие в основе ИВРЗ механизмы, которые приводят к дисрегуляции иммунной системы, а также нежелательные эффекты применяемых методов лечения. КИ связаны со значительной морбидностью и смертностью среди больных ИВРЗ и сопряжены с существенными затратами для здра-

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: Каширское шоссе, 34А, НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой, г. Москва, Россия, 115522. E-mail: belovbor@yandex.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 34A Kashirskoye Highway, V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, 115522 Russia. E-mail: belovbor@yandex.ru

Таблица 1. Основопологающие принципы скрининга и профилактики ХОИ у взрослых больных ИВРЗ
Table 1. The basic principles of screening and prevention of COI in adult patients with IIRD

- Риск ХОИ следует учитывать, периодически переоценивать и обсуждать со всеми пациентами с ИВРЗ до начала лечения сБПВП, тБПВП, ГИБП, иммунодепрессантами и/или ГК.
- Важное значение имеет сотрудничество ревматологов и других специалистов, включая инфекционистов, гастроэнтерологов, гепатологов и пульмонологов.
- При принятии решения о скрининге и профилактике ХОИ следует учитывать индивидуальные факторы риска и периодически их переоценивать.
- Следует учитывать национальные руководства и рекомендации, а также другие факторы, касающиеся эндемических инфекционных заболеваний на уровне страны или региона.

Примечание. Здесь и далее в тексте: ГИБП — генно-инженерные биологические препараты; тБПВП — таргетные базисные противовоспалительные препараты; сБПВП — стандартные базисные противовоспалительные препараты; ГК — глюкокортикоиды.

Note. Here and further in the text: ГИБП — genetically engineered biological drugs; тБПВП — targeted basic anti-inflammatory drugs; сБПВП — standard basic anti-inflammatory drugs ; ГК — glucocorticoids.

Таблица 2. Рекомендации по скринингу и профилактике ХОИ у взрослых больных ИВРЗ
Table 2. Recommendations for screening and prevention of COI in adult patients with IIRD

- Скрининг на латентный туберкулёз (ТВ) рекомендуется пациентам до начала лечения ГИБП или тБПВП.
- Скрининг также следует проводить у пациентов с повышенным риском латентного ТВ до начала приёма сБПВП, иммунодепрессантов и/или ГК (в зависимости от дозы и продолжительности).
- Скрининг на латентный ТВ должен проводиться в соответствии с национальными и/или международными рекомендациями и обычно включать рентгенографию грудной клетки и анализ на высвобождение гамма-интерферона, а не туберкулиновую кожную пробу, где это возможно.
- Выбор и сроки терапии латентного ТВ должны определяться национальными и/или международными рекомендациями. Особое внимание следует уделить взаимодействию с препаратами, обычно используемыми для лечения ИВРЗ.
- Все пациенты, которым планируется лечение с/тБПВП, ГИБП, иммунодепрессантами и ГК (в зависимости от дозы и продолжительности), должны быть обследованы на предмет хронического вирусного гепатита В.
- Скрининг на хронический вирусный гепатит С следует проводить у пациентов до начала приёма с/тБПВП, ГИБП, иммунодепрессантов и ГК (в зависимости от дозы и продолжительности). Скрининг рекомендуется пациентам с повышенными уровнями аланинаминотрансферазы (АлТ) или с известными факторами риска.
- Скрининг на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) рекомендуется перед назначением ГИБП, и его следует рассмотреть перед лечением с/тБПВП, иммунодепрессантами и ГК (в зависимости от дозы и продолжительности).
- Все пациенты, начинающие лечение с/тБПВП, ГИБП, иммунодепрессантами и/или ГК (в зависимости от дозы и продолжительности), не имеющие иммунитета к вирусу ветряной оспы (Varicella zoster virus — VZV), должны быть проинформированы о профилактике после контакта с VZV.
- Профилактику пневмоцистной пневмонии (ППн) следует рассматривать у пациентов с ИВРЗ, у которых применяются высокие дозы ГК, особенно в сочетании с иммунодепрессантами и в зависимости от соотношения риска и пользы.

воохранения из-за необходимости назначения дополнительного лечения и госпитализации. Кроме того, при возникновении КИ активную терапию ИВРЗ в большинстве случаев приходится временно прекращать, что может привести к утяжелению течения основного заболевания.

В контексте иммуносупрессивной/иммунотулирующей терапии ИВРЗ достаточно часто развиваются хронические и оппортунистические инфекции (ХОИ). Единодушно признано, что некоторые из этих инфекций можно предотвратить при выполнении своевременных процедур скрининга и профилактических мер. Однако по ряду причин, включая геоэпидемиологические различия между странами/регионами, соответствующие рекомендации либо отсутствуют, либо «разбросаны по всей литературе». Таким образом, существует потребность в сопоставлении данных о различных ИВРЗ и схемах лечения, которые

можно было бы использовать в качестве единой точки отсчёта в рутинной клинической практике.

В связи с этим, группой экспертов Европейского альянса ревматологических ассоциаций (EULAR) был выполнен систематический обзор литературы [1] и на его основе подготовлены рекомендации, посвящённые процедурам скрининга и мерам профилактики наиболее часто встречающихся ХОИ в рамках ИВРЗ [2]. В то же время авторы признают, что создание единого руководства по скринингу и профилактике ХОИ является сложной задачей из-за различий в регионе проживания, типе ИВРЗ и связанном с ним риске, получаемой противоречивой терапии, и других факторах, которые создают дополнительные проблемы, в частности, возраст и сопутствующие заболевания.

В табл. 1–2 представлены основополагающие принципы и рекомендации по скринингу и профилактике ХОИ.

Туберкулёз (ТВ)

По данным рекомендаций абсолютного большинства национальных и международных ревматологических ассоциаций, скрининг на латентный туберкулёз перед началом лечения тБПВП и ГИБП является обязательным. В ряде руководств предполагается проведение скрининга у больных, получающих ГК в дозе > 15 мг/сут в эквиваленте по преднизолону в течение периода времени, составляющего > 4 нед [3–5]. Кроме того, следует рассмотреть возможность скрининга до начала приёма ГК у пациентов, которые имеют сопутствующие факторы риска, в частности злоупотребление алкоголем, курение, проживание с людьми, больными ТБ, проживание в эндемичных регионах и другие. Скрининг на ТВ включает в себя рентгенографию органов грудной клетки, туберкулиновую кожную пробу (ТКП) и/или диагностические тесты, основанные на высвобождении Т-лимфоцитами *in vitro* интерферона- γ (Interferon-gamma release assay — IGRA). При выборе диагностических методов следует иметь в виду, что предыдущая вакцинация BCG чаще даёт ложноположительные результаты ТКП, в то время как лечение ГК (даже в низких дозах) может повлечь за собой получение ложноотрицательных данных. Результаты тестов IGRA в меньшей степени зависят от лечения ГК, ГИБП или иммунодепрессантами (табл. 3).

Отечественными авторами проведено исследование по формированию групп высокого риска развития ТВ — больных, принимающих ингибиторы ФНО- α (более 800 человек). Согласие результатов между внутрикожной пробой с Диаскин-тестом и тестом QuantiFERON-TB Gold оказалось хорошим ($\kappa=0,62$), а взаимосвязь достоверной по точному критерию Фишера ($p=0,037$). Выбор между пробой с Диаскин-тестом или QuantiFERON-TB Gold должен проводиться с учётом их доступности и наличия противопоказаний [22].

Также необходимо подчеркнуть, что в Российской Федерации в связи с достаточно высокой вероятностью контакта больных, получающих ГИБП, с источниками ТВ-инфекции, невозможно ограничиться, по примеру большинства стран Европы, только скринингом перед началом приёма ГИБП. На фоне лечения ГИБП больные должны регулярно (не реже 1 раза в 6 мес.) проходить обследования для исключения развития активного ТВ и оценки динамики состояния латентной ТВ-инфекции. При этом наблюдение за больными со стороны фтизиатра следует продолжать ещё в течение 6 мес. после завершения терапии ГИБП [22].

При проведении превентивного противотуберкулёзного лечения следует учитывать взаимодействие между препаратами, используемыми для лечения ИВРЗ и латентного ТБ. В частности, при одновременном лечении изониазидом и такими

препаратами, как метотрексат и лефлуномид, необходим мониторинг функциональных проб печени [23, 24]. Совместное применение с рифампицином может повлиять на фармакокинетику тБПВП и ГК [25, 26]. Длительность проведения превентивного противотуберкулёзного лечения должна составлять, по меньшей мере, 12 нед.

Вирусный гепатит В (ВГВ)

У всех пациентов с ИВРЗ до начала лечения должен быть выполнен скрининг в отношении инфекции, вызванной вирусом гепатита В (Hepatitis B virus — HBV), с определением поверхностного «австралийского» антигена (HBsAg), антител к ядерному антигену (анти-HBc) и антител к поверхностному антигену (анти-HBs). Это необходимо для оценки риска HBV-реактивации (HBV-r), под которой понимают появление/нарастание ДНК ВГВ или конверсию из HBsAg-отрицательной в HBsAg-положительную форму [27]. Установлено, что носители HBsAg имеют более высокий риск HBV-r при лечении ГИБП и другими иммуносупрессорами, в связи с чем им показано назначение противовирусной профилактической терапии (табл. 4).

По данным наблюдательных исследований, для пациентов с разрешившейся HBV-инфекцией (HBsAg-, анти-HBc+) частота HBV-r при назначении антиревматической терапии ниже и составляет от 0 до 9% [35, 40–43]. Этим пациентам показан регулярный (каждые 3–6 мес.) мониторинг уровня трансаминаз и вирусной нагрузки. Превентивная противовирусная терапия, особенно при высокой исходной вирусной нагрузке, должна быть начата за 1–2 нед. до инициации иммуносупрессивного лечения [44]. Если отсрочка начала лечения иммуносупрессорами не представляется возможной, антивирусные препараты должны быть назначены как можно скорее. Во время терапии необходим регулярный мониторинг уровня виремии и активности трансаминаз каждые 4–12 нед. У больных с латентной HBV-инфекцией при лечении РТМ рекомендуется мониторинг уровней анти-HBs, т. к. снижение их концентрации или исчезновение является первым предвестником появления HBsAg и реактивации HBV [45, 46]. Исходя из имеющихся в литературе данных о сроках прекращения профилактики предлагается продолжить профилактическое лечение в течение, как минимум, 6–12 мес. после окончания противоревматической терапии (при лечении РТМ — вплоть до 18 мес.) [47, 48].

Гепатит С

В ряде исследований показано, что реактивация гепатита С при антиревматической терапии

Таблица 3. Факторы, влияющие на эффективность скрининговых тестов на туберкулёз
Table 3. Factors affecting the effectiveness of screening tests for tuberculosis

Автор [библиографический источник]	Число больных	Заболевание	А. ТКП		
			БЦЖ	ГК	сБПВП
Q. Ruan и соавт. [6]	1940	ИВРЗ	ЛП, ОШ 1,64 (95% ДИ 1,06 2,53)	ЛО; ОШ 0,45 (95% ДИ 0,30 0,69)	—
O. Reitblat и соавт. [7]	65	РА	—	Нет	Нет
S. Agarwal и соавт. [8]	250	РА	—	ЛО (средняя доза ¹ : 6,4), ($p=0,002$)	Нет
E. C. Hsia и соавт. [9]	2303	ВЗС	ЛП ($p<0,0002$ по сравнению с IGRA)	—	—
M. Klein и соавт. [10]	305	ИВРЗ	—	ЛО, ($p=0,0172$)	ЛО (вместе с ГК) ($p=0,0003$)
E. Belard и соавт. [11]	248	ИВРЗ ²	—	ЛО, ($p=0,018$)	—
B. Soborg и соавт. [12]	302	ВЗС	—	ЛО, ОР 0,4 (95% ДИ 0,1 1,0), ($p=0,04$)	—
M. N. Tamborenea и соавт. [13]	105	РА	—	ЛО (средняя доза: 6 мг/день), ОШ 0,72 (95% ДИ 0,55 0,95), $p=0,021$	—
D. Vassilopoulos и соавт. [14]	70	ИВРЗ	ЛП ($p=0,01$)	ЛО (средняя доза: 6,8 мг) ($p=0,04$).	—
M. Arias-Guillen и соавт. [15]	393	ВЗС	—	—	ЛП (МТХ) ОШ 2,15 (95% ДИ от 1,05 до 4,44)
T. Maeda и соавт. [16]	97	РА	ЛП (14/19)	—	—
G. Sargin и соавт. [17]	109	ВЗС	—	Нет	—
K. Lee и соавт. [18]	81	РА	Нет	Нет	нет

Б. IGRA			
Автор [библиографический источник]	Число больных	Заболевание	Ассоциация с IGRA
Q. Ruan и соавт. [6]	1940	ИВРЗ	Нет (ГК, сБПВП)
M. Arias-Guillen и соавт. [15]	393	ВЗС	Нет (МТ)
T. Maeda и соавт. [16]	97	РА	Нет (ГК, средняя доза: 5,7 мг, МТ)
D. Vassilopoulos и соавт. [19]	155	ИВРЗ	ЛО, ГК, средняя доза 6,8 мг, (ОШ=0,31, 95% ДИ 0,1 0,96; $p=0,04$)
O. Shovman и соавт. [20]	35	РА	Нет (ГК, средняя доза: 8,3 мг, МТ)
G. Matulis и соавт. [21]	142	ИВРЗ	Нет (ГК, сБПВП)

Примечание. ЛП — ложноположительная; ЛО — ложноотрицательная; ВЗС — воспалительные заболевания суставов; РА — ревматоидный артрит; МТ — метотрексат; ОР — относительный риск; ОШ — отношение шансов.
¹ — суточная доза ГК в эквиваленте по преднизолону; ² — 93/248 больных имели воспалительное заболевание кишечника.

Note. ЛП — false positive; ЛО — false negative; ВЗС — inflammatory diseases of the joints; РА — rheumatoid arthritis; МТ — methotrexate; ОР — relative risk; ОШ — odds ratio. ¹ — daily dose of glucocorticoids in the equivalent of prednisone; ² — 93/248 patients had inflammatory bowel disease.

(преимущественно ГИБП) действительно происходит, но у небольшого числа больных [49–53]. Однако эти исследования были опубликованы до широкого внедрения в практику препаратов прямого противовирусного действия. Учитывая общественную значимость проблемы, комитетом экспертов EULAR предлагается проведение скрининга, включающего исследование на наличие антител к вирусу гепатита С (Hepatitis C virus — HCV), а при их обнаружении — определение вирусной нагрузки

(РНК HCV) у всех больных ИВРЗ перед началом лечения. Первоочередное обследование на HCV-инфекцию рекомендуется пациентам с сопутствующими факторами риска (например, употребление наркотиков внутривенно) или при повышении лабораторных показателей функции печени, главным образом, АлТ. При выявлении вирусной нагрузки (РНК HCV) больные должны быть направлены к гепатологу или инфекционисту для проведения противовирусного лечения.

Таблица 4. Частота HBV-p у больных ИВРЗ — носителей HBsAg
Table 4. The frequency of HBV-p in patients with HBsAg — carriers of IIRD

Автор [библиографический источник]	Число больных	Заболевание	Терапия	Профилактика, n (%)	Реактивация, n (%)
Y. Q. Mo и соавт. [28]	36	РА	АРП	Да 18 (50) Нет 18 (50)	7 (38,89) 6 (33,3)
T. Matsuzaki и соавт. [29]	20	РА	АРП	0	4 (20)
J. Tan и соавт. [30]	27	РА	сБПВП	0	2/23 (8,7)
U. Kalyoncu и соавт. [31]	76	ВЗС	АРП	Да 41 (54) Нет 33 (43,4)	5 (12,2) 8 (24,2)
М-Н. Chen и соавт. [32]	55	СКВ	Иммуно- супрессоры	0	30 (54,5)
U. Kalyoncu и соавт. [33]	11	ИВРЗ	АРП	11 (100)	0
H. Ming-Xu и соавт. [34]	17	РА	Лефлуномид	НД	5 (31,3)
A. R. Giardina и соавт. [35]	4	ВЗС	иФНО- α	4 (100)	0
S. Zingarelli и соавт. [36]	23	ИВРЗ	иФНО- α	Да 7 (30,4) Нет 16 (69,6)	1 (14,3) 12 (75)
J-L. Lan и соавт. [37]	18	РА	иФНО- α	Да 10 (55,6) Нет 8 (44,4)	0 5 (62,5)
D. Vassilopoulos и соавт. [38]	14	ВЗС	иФНО- α	14 (100)	1 (7,1)
L. F. Chen и соавт. [39]	7	РА	Тоцилизумаб	Да 2 (28,6) Нет 5 (71,4)	0 3 (60)

Примечание. АРП — антиревматические препараты; СКВ — системная красная волчанка; иФНО- α — ингибиторы фактора некроза опухоли- α .

Note. АРП — antirheumatic drugs; СКВ — systemic lupus erythematosus; иФНО- α — tumor necrosis factor inhibitors-alpha.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)

Учитывая общественную значимость проблемы и констатируя отсутствие надёжных данных о безопасности применения противоревматических средств у больных ВИЧ, комитет экспертов считает целесообразным проведение скрининга на данную инфекцию перед началом любой антиревматической терапии, как это предлагается в рекомендациях для конкретных ИВРЗ или в инструкциях по применению отдельных препаратов.

Накапливаемый опыт демонстрирует, что для лечения ИВРЗ у ВИЧ-положительных больных необходимо соблюдение следующих условий: продолжение антиретровирусной терапии; низкая вирусная нагрузка (<60 000 копий/мл); достаточное количество CD4+ Т-клеток (>200/мл) [54].

Herpes zoster (VZV)

Признавая, что на статус иммунитета к VZV могут влиять различные факторы, в том числе национальные нормативные акты, доступ к тестированию, а также предшествующая вакцинация или инфекция в анамнезе, эксперты EULAR сочли нецелесообразным формулировать конкретные рекомендации по этому вопросу. Однако рабочая группа отстаивает важность установления статуса иммунитета к VZV на основе подробного анализа медицинского анамнеза. С учётом ранее опубликованных мнений [55, 56], лица,

идентифицированные как не имеющие VZV-иммунитета или имеющие сомнительные данные в этом отношении, должны быть заранее проинформированы о целесообразности профилактики и превентивных мер после контакта с больным ветряной оспой или опоясывающим лишаем, в соответствии с локальными рекомендациями.

Пневмоцистная пневмония (ППн)

Профилактика ППн в основном изучалась у пациентов с ИВРЗ, получавших ГК. Хотя минимальная доза и продолжительность лечения ГК не определены, данные свидетельствуют о том, что профилактика показана при дозах >15–30 мг/сут в эквиваленте по преднизолону в течение >2–4 нед. (табл. 5).

По мнению ряда авторов, не вызывает сомнений необходимость профилактики ППн у больных гранулематозом с полиангиитом на протяжении индукционной терапии циклофосфаном или ритуксимабом [62, 63]. В рекомендациях, подготовленных экспертами группы ISMIR (Italian group for the Study and Management of Infections in patients with Rheumatic diseases), отмечается, что профилактика ППн показана всем больным РА с количеством CD4+ клеток < 200/мкл или с числом лимфоцитов < 500/мкл с обязательным тщательным мониторингом нежелательных явлений (НЯ). Кроме того, больные РА, имеющие 3 и более факторов риска (возраст старше 65 лет; число лимфоцитов > 500/мкл, но < 1500/мкл; лечение

Таблица 5. Профилактика ППн триметопримом–сульфаметоксазолом у пациентов, получавших ГК
Table 5. Prevention of pneumocystis pneumonia with trimethoprim–sulfamethoxazole in patients treated with glucocorticoids

Автор [библиографический источник]	Число больных	Схема приема ГК	Профилактика <i>n</i> (%)	Результат профилактики
J. W. Park и соавт. [57]	1092	≥30 мг/день в течение ≥4 нед.	262 (24,0)	Снижение заболеваемости ППн ОР=0,07 (95% ДИ 0,01–0,53), <i>p</i> =0,01
N. Honda и соавт. [58]	437	≥50 мг/день	376 (86,0)	Снижение заболеваемости ППн ОР=0 (95% ДИ 0,00–0,38), <i>p</i> =0,003
J. W. Park и соавт. [59]	735	≥15 мг и <30 мг в течение ≥4 нед.	45 (6,1)	Снижение заболеваемости ППн в группе высокого риска ¹ ОР=0,2 (95% ДИ 0,001–2,3)
J. Ogawa и соавт. [60]	124	≥30 мг/день	46 (37,1)	Эффективна у пациентов с высоким риском, <i>p</i> =0,039
P. Vananuvat и соавт. [61]	132	≥20 мг преднизолона в течение >2 нед.	59 (44,7)	Снижение заболеваемости ППн, <i>p</i> =0,038.

Примечание. ¹ — группы высокого риска: пульс-терапия ГК и/или лимфопения.

Note. ¹ — high-risk groups: pulse therapy of GC and/or lymphopenia.

иммунодепрессантами и/или ГК > 3 мес.; применение ГИБП в анамнезе; сопутствующие заболевания лёгких; снижение содержания сывороточного альбумина или IgG), заслуживают особого внимания и рассматриваются в качестве кандидатов для первичной профилактики ППн в индивидуальном порядке [64].

Наиболее часто применяемая схема профилактики ППн — приём триметоприма/сульфаметоксазола (ТМП-СМК) 480 мг/сут или 960 мг три раза в неделю. Альтернативными профилактическими препаратами являются атоваквон, дапсон или пентамидин. Несмотря на определённые разногласия [65], они, по-видимому, имеют одинаковую эффективность с ТМП-СМК [66, 67], однако их применение ограничено такими факторами, как стоимость или потребность в госпитализации [68].

Заключение

Как подчёркивает рабочая группа EULAR, представленные рекомендации следует рассматривать через призму национальных руководств, учитывающих региональные факторы риска, особенности течения, диагностики, терапии и профилактики ХОИ. При этом абсолютно оправ-

данным представляется периодический пересмотр скрининговых и превентивных процедур по мере накопления новых научных данных. Предполагается, что эти рекомендации будут подспорьем в принятии решений для специалистов, проживающих во многих странах и работающих в различных системах здравоохранения. Вместе с тем проблема ХОИ при ИВРЗ содержит большое количество вопросов, ждущих своего решения.

Дополнительная информация

Статья подготовлена в рамках научно-исследовательских работ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой». № государственного задания 1021051503137-7. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Участие авторов. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Литература/References

1. Fragoulis G.E., Dey M., Zhao S. et al. Systematic literature review informing the 2022 EULAR recommendations for screening and prophylaxis of chronic and opportunistic infections in adults with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. RMD Open. 2022; 8 (2): e002726. doi: 10.1136/rmdopen-2022-002726.
2. Fragoulis G.E., Nikiphorou E., Dey M. et al. 2022 EULAR recommendations for screening and prophylaxis of chronic and opportunistic infections in adults with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. Ann Rheum Dis. 2022 Nov 3; ard-2022-223335. doi: 10.1136/ard-2022-223335.
3. Long W., Cai F., Wang X., Zheng N., Wu R. High risk of activation of latent tuberculosis infection in rheumatic disease patients. Infect Dis (Lond). 2020; 52 (2): 80–86. doi: 10.1080/23744235.2019.1682187.
4. Jick S.S., Lieberman E.S., Rahman M.U., Choi H.K. Glucocorticoid use, other associated factors, and the risk of tuberculosis. Arthritis Rheum. 2006; 55 (1): 19–26. doi: 10.1002/art.21705.
5. Prevention CfDCa, National Center for HIV/AIDS VH, STD, and TB Prevention, Elimination DoT. Latent tuberculosis infection: A guide for primary health 2020[Publication Number 22-0468]. URL: <https://www.cdc.gov/tb/publications/ltrbi/default.htm> Access date: 20th January 2023.
6. Ruan Q., Zhang S., Ai J. et al. Screening of latent tuberculosis infection by interferon-γ release assays in rheumatic patients: a systematic review and meta-analysis. Clin Rheumatol. 2016; 35 (2): 417–425. doi: 10.1007/s10067-014-2817-6.
7. Reitblat O., Lerman T.T., Cohen O., Reitblat T. The effect of prednisone on tuberculin skin test reaction in patients with rheumatoid arthritis. Int J Rheumatol. 2018; 2018: 2586916. doi: 10.1155/2018/2586916.

8. Agarwal S., Das S.K., Agarwal G.G., Srivastava R. Steroids decrease prevalence of positive tuberculin skin test in rheumatoid arthritis: implications on anti-TNF Therapies. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2014; 2014: 430134. doi: 10.1155/2014/430134.
9. Hsia E.C., Schluger N., Cush J.J. *et al.* Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (7): 2068–2077. doi: 10.1002/art.34382.
10. Klein M., Jarosová K., Forejtová S. *et al.* Quantiferon TB Gold and tuberculin skin tests for the detection of latent tuberculosis infection in patients treated with tumour necrosis factor alpha blocking agents. *Clin Exp Rheumatol.* 2013; 31 (1): 111–117.
11. Bélaré E., Semb S., Ruhwald M. *et al.* Prednisolone treatment affects the performance of the QuantiFERON gold in-tube test and the tuberculin skin test in patients with autoimmune disorders screened for latent tuberculosis infection. *Inflamm Bowel Dis.* 2011; 17 (11): 2340–2349. doi: 10.1002/ibd.21605.
12. Soborg B., Ruhwald M., Hetland M.L. *et al.* Comparison of screening procedures for Mycobacterium tuberculosis infection among patients with inflammatory diseases. *J Rheumatol.* 2009 Sep; 36 (9): 1876–1884. doi: 10.3899/jrheum.081292.
13. Tamborenea M.N., Tate G., Mysler E. *et al.* Prevalence of positive ppd in a cohort of rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int.* 2010; 30 (5): 613–616. doi: 10.1007/s00296-009-1027-z.
14. Vassilopoulos D., Stamoulis N., Hadziyannis E., Archimandritis A.J. Usefulness of enzyme-linked immunospot assay (Elispot) compared to tuberculin skin testing for latent tuberculosis screening in rheumatic patients scheduled for anti-tumor necrosis factor treatment. *J Rheumatol.* 2008 Jul; 35 (7): 1271–1276.
15. Arias-Guillén M., Sánchez Menéndez M.M. *et al.* High rates of tuberculin skin test positivity due to methotrexate therapy: False positive results? *Semin Arthritis Rheum.* 2018; 48 (3): 538–546. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.03.018.
16. Maeda T., Banno S., Maeda S. *et al.* Comparison of QuantiFERON-TB Gold and the tuberculin skin test for detecting previous tuberculosis infection evaluated by chest CT findings in Japanese rheumatoid arthritis patients. *J Infect Chemother.* 2011; 17 (6): 842–848. doi: 10.1007/s10156-011-0250-1.
17. Sargin G., Şentürk T., Ceylan E. *et al.* TST, QuantiFERON-TB Gold test and T-SPOT.TB test for detecting latent tuberculosis infection in patients with rheumatic disease prior to anti-TNF therapy. *Tuberk Toraks.* 2018; 66 (2): 136–143. doi: 10.5578/tt.66444.
18. Lee K.H., Jung S.Y., Ha Y.J. *et al.* Tuberculin reaction is not attenuated in patients with rheumatoid arthritis living in a region with intermediate burden of tuberculosis. *Rheumatol Int.* 2012; 32 (5): 1421–1424. doi: 10.1007/s00296-011-1889-8.
19. Vassilopoulos D., Tsikrika S., Hatzara C. *et al.* Comparison of two gamma interferon release assays and tuberculin skin testing for tuberculosis screening in a cohort of patients with rheumatic diseases starting anti-tumor necrosis factor therapy. *Clin Vaccine Immunol.* 2011; 18 (12): 2102–2108. doi: 10.1128/CVI.05299-11.
20. Shovman O., Anouk M., Vinnitsky N. *et al.* QuantiFERON-TB Gold in the identification of latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis: a pilot study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009; 13 (11): 1427–1432.
21. Matulis G., Jüni P., Villiger P.M., Gadola S.D. Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases: performance of a Mycobacterium tuberculosis antigen-specific interferon gamma assay. *Ann Rheum Dis.* 2008; 67 (1): 84–90. doi: 10.1136/ard.2007.070789.
22. Скрининг и мониторинг туберкулёзной инфекции у больных, получающих иммуносупрессивные генно-инженерные биологические препараты. Методические рекомендации № 133. М.: 2018; 33. [Screening and monitoring of tuberculosis infection in patients receiving immunosuppressive genetically engineered biological drugs. Methodological recommendations No. 133. Moscow: 2018; 33. (in Russian)]
23. Bourré-Tessier J., Arino-Torregrosa M., Choquette D. Increased incidence of liver enzymes abnormalities in patients treated with isoniazid in combination with disease modifying and/or biologic agents. *Clin Rheumatol.* 2014; 33 (8): 1049–1053. doi: 10.1007/s10067-014-2528-z.
24. Vanhoof J., Landewe S., Van Wijngaerden E., Geusens P. High incidence of hepatotoxicity of isoniazid treatment for tuberculosis chemoprophylaxis in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate or sulfasalazine and anti-tumour necrosis factor inhibitors. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62 (12): 1241–1242. doi: 10.1136/ard.2002.004598.
25. Nam S.H., Oh J.S., Hong S. *et al.* Early discontinuation of tofacitinib in patients with rheumatoid arthritis co-treated with rifampin for latent tuberculosis. *Joint Bone Spine.* 2020; 87 (5): 475–479. doi: 10.1016/j.jbspin.2020.04.010.
26. McAllister W.A., Thompson P.J., Al-Habet S.M., Rogers H.J. Rifampicin reduces effectiveness and bioavailability of prednisolone. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1983; 286 (6369): 923–925. doi: 10.1136/bmj.286.6369.923.
27. Myint A., Tong M.J., Beaven S.W. Reactivation of Hepatitis B Virus: A Review of Clinical Guidelines. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2020; 15 (4): 162–167. doi: 10.1002/cld.883.
28. Mo Y.Q., Liang A.Q., Ma J.D. *et al.* Discontinuation of antiviral prophylaxis correlates with high prevalence of hepatitis B virus (HBV) reactivation in rheumatoid arthritis patients with HBV carrier state: a real-world clinical practice. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014; 15: 449. doi: 10.1186/1471-2474-15-449.
29. Matsuzaki T., Eguchi K., Nagao N. *et al.* Hepatitis B virus reactivation in patients with rheumatoid arthritis: A single-center study. *Mod Rheumatol.* 2018; 28 (5): 808–813. doi: 10.1080/14397595.2017.1419842.
30. Tan J., Zhou J., Zhao P., Wei J. Prospective study of HBV reactivation risk in rheumatoid arthritis patients who received conventional disease-modifying antirheumatic drugs. *Clin Rheumatol.* 2012 Aug; 31 (8): 1169–1175. doi: 10.1007/s10067-012-1988-2.
31. Kalyoncu U., Emmungil H., Onat A.M. *et al.* Current antiviral practice and course of Hepatitis B virus infection in inflammatory arthritis: a multicentric observational study (A + HBV study). *Eur J Rheumatol.* 2015; 2 (4): 149–154. doi: 10.5152/eurjrheum.2015.0111.
32. Chen M.H., Wu C.S., Chen M.H. *et al.* High Risk of Viral Reactivation in Hepatitis B Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (17): 9116. doi: 10.3390/ijms22179116.
33. Kalyoncu U., Yonem O., Calguneri M. *et al.* Prophylactic use of lamivudine with chronic immunosuppressive therapy for rheumatologic disorders. *Rheumatol Int.* 2009; 29 (7): 777–780. doi: 10.1007/s00296-008-0790-6.
34. Ming-Xu H., Chen M., Cai Y., Yan-Jia H. Clinical outcomes of low-dose leflunomide for rheumatoid arthritis complicated with Hepatitis B virus carriage and safety observation. *Pak J Med Sci.* 2015; 31 (2): 320–324. doi: 10.12669/pjms.312.6673.
35. Giardina A.R., Ferraro D., Ciccio F. *et al.* No detection of occult HBV-DNA in patients with various rheumatic diseases treated with anti-TNF agents: a two-year prospective study. *Clin Exp Rheumatol.* 2013; 31 (1): 25–30.
36. Zingarelli S., Frassi M., Bazzani C. *et al.* Use of tumor necrosis factor-alpha-blocking agents in hepatitis B virus-positive patients: reports of 3 cases and review of the literature. *J Rheumatol.* 2009; 36 (6): 1188–1194. doi: 10.3899/jrheum.081246.
37. Lan J.L., Chen Y.M., Hsieh T.Y. *et al.* Kinetics of viral loads and risk of hepatitis B virus reactivation in hepatitis B core antibody-positive rheumatoid arthritis patients undergoing anti-tumour necrosis factor alpha therapy. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70 (10): 1719–1725. doi: 10.1136/ard.2010.148783.
38. Vassilopoulos D., Apostolopoulou A., Hadziyannis E. *et al.* Long-term safety of anti-TNF treatment in patients with rheumatic diseases and chronic or resolved hepatitis B virus infection. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69 (7): 1352–1355. doi: 10.1136/ard.2009.127233.
39. Chen L.F., Mo Y.Q., Jing J. *et al.* Short-course tocilizumab increases risk of hepatitis B virus reactivation in patients with rheumatoid arthritis: a prospective clinical observation. *Int J Rheum Dis.* 2017 Jul; 20 (7): 859–869. doi: 10.1111/1756-185X.13010.
40. Biondo M.L., Germano V., Pietrosanti M. *et al.* Lack of hepatitis B virus reactivation after anti-tumour necrosis factor treatment in potential occult carriers with chronic inflammatory arthropathies. *Eur J Intern Med.* 2014; 25 (5): 482–484. doi: 10.1016/j.ejim.2013.11.014.
41. Wang S.T., Tseng C.W., Hsu C.W. *et al.* Reactivation of hepatitis B virus infection in patients with rheumatoid arthritis receiving tofacitinib. *Int J Rheum Dis.* 2021; 24 (11): 1362–1369. doi: 10.1111/1756-185X.14217.
42. Kuo M.H., Tseng C.W., Lee C.H. *et al.* Moderate Risk of Hepatitis B Virus Reactivation in HBsAg-/HBeAb+ Carriers Receiving Rituximab for Rheumatoid Arthritis. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 2456. doi: 10.1038/s41598-020-59406-4.
43. Tien Y.C., Yen H.H., Chiu Y.M. Incidence and clinical characteristics of hepatitis B virus reactivation in HBsAg-negative/HBeAb-positive patients receiving rituximab for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2017; 35 (5): 831–836.
44. Huang J.P., Lok A.S. Management of patients with hepatitis B who require immunosuppressive therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11 (4): 209–219. doi: 10.1038/nrgastro.2013.216.
45. Chen Y.M., Chen H.H., Huang W.N. *et al.* Reactivation of hepatitis B virus infection following rituximab treatment in HBsAg-negative, HBeAb-positive rheumatoid arthritis patients: A long-term, real-world observation. *Int J Rheum Dis.* 2019; 22 (6): 1145–1151. doi: 10.1111/1756-185X.13582.
46. Watanabe T., Fukae J., Fukaya S. *et al.* Incidence and risk factors for reactivation from resolved hepatitis B virus in rheumatoid arthritis patients treated with biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Int J Rheum Dis.* 2019; 22 (4): 574–582. doi: 10.1111/1756-185X.13401.

47. Рекомендации EASL 2017 года по лечению гепатита В на русском языке. URL: <https://hcv-forum.ru/viewtopic.php?t=937%20#p4876>. Дата доступа 234 января 2023 г. [EASL 2017 Recommendations for the treatment of hepatitis B in Russian. URL: <https://hcv-forum.ru/viewtopic.php?t=937%20#p4876> Access date: 25th January, 2023]
48. Terrault N.A., Lok A.S., McMahon B.J. et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*. 2018; 67 (4): 1560–1599. doi: 10.1002/hep.29800.
49. Brunasso A.M., Puntoni M., Gulia A., Massone C. Safety of anti-tumour necrosis factor agents in patients with chronic hepatitis C infection: a systematic review. *Rheumatology*. 2011; 50 (9):1700–1711. doi: 10.1093/rheumatology/ker190.
50. Costa L., Caso F., Attenu M. et al. Long-term safety of anti-TNF- α in PsA patients with concomitant HCV infection: a retrospective observational multicenter study on 15 patients. *Clin Rheumatol*. 2014; 33 (2): 273–276. doi: 10.1007/s10067-013-2378-0.
51. Parke F.A., Reveille J.D. Anti-tumor necrosis factor agents for rheumatoid arthritis in the setting of chronic hepatitis C infection. *Arthritis Rheum*. 2004; 51 (5): 800–804. doi: 10.1002/art.20702.
52. Peterson J.R., Hsu F.C., Simkin P.A., Wener M.H. Effect of tumour necrosis factor alpha antagonists on serum transaminases and viraemia in patients with rheumatoid arthritis and chronic hepatitis C infection. *Ann Rheum Dis*. 2003; 62 (11): 1078–1782. doi: 10.1136/ard.62.11.1078.
53. Gandhi N.P., Manadan A.M., Block J.A. Retrospective study of patients on etanercept therapy for rheumatic diseases in patients with chronic hepatitis C virus. *J Clin Rheumatol*. 2017; 23 (5): 252–257. doi: 10.1097/RHU.0000000000000536.
54. Гриднева Г.И., Белов Б.С. Актуальные вопросы ведения пациентов с ВИЧ-инфекцией и ревматическими заболеваниями. Современная ревматология. 2021; 15 (6): 7–12. doi: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2021-6-7-12>. [Gridneva G.I., Belov B.S. Current issues in the management of patients with HIV infection and rheumatic diseases. *Modern Rheumatology Journal*. 2021; 15 (6): 7–12. doi: <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2021-6-7-12>. (in Russian)]
55. Cates M., Donati M., Gillet S. et al. Managing varicella zoster virus contact and infection in patients on anti-rheumatic therapy. *Rheumatology (Oxford)*. 2018; 57 (4): 596–605. doi: 10.1093/rheumatology/kex189.
56. Winthrop K.L., Tanaka Y., Lee E.B., Wollenhaupt J., Enizi A., Azevedo V.E., Curtis J.R. Prevention and management of herpes zoster in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis: a clinical review. *Clin Exp Rheumatol*. 2022; 40 (1): 162–172. doi: 10.55563/clinexp Rheumatol/cpu6r9.
57. Park J.W., Curtis J.R., Moon J. et al. Prophylactic effect of trimethoprim-sulfamethoxazole for pneumocystis pneumonia in patients with rheumatic diseases exposed to prolonged high-dose glucocorticoids. *Ann Rheum Dis*. 2018; 77 (5): 644–649. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211796.
58. Honda N., Tagashira Y., Kawai S. et al. Reduction of Pneumocystis jirovecii pneumonia and bloodstream infections by trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in patients with rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol*. 2021; 50 (5): 365–371. doi: 10.1080/03009742.2020.1850854.
59. Park J.W., Curtis J.R., Kim M.J. et al. Pneumocystis pneumonia in patients with rheumatic diseases receiving prolonged, non-high-dose steroids-clinical implication of primary prophylaxis using trimethoprim-sulfamethoxazole. *Arthritis Res Ther*. 2019; 21 (1): 207. doi: 10.1186/s13075-019-1996-6.
60. Ogawa J., Harigai M., Nagasaka K. et al. Prediction of and prophylaxis against Pneumocystis pneumonia in patients with connective tissue diseases undergoing medium- or high-dose corticosteroid therapy. *Mod Rheumatol*. 2005; 15 (2): 91–96. doi: 10.1007/pl00021707.
61. Vananuvat P., Suwannalai P., Sungkanuparph S. et al. Primary prophylaxis for Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with connective tissue diseases. *Semin Arthritis Rheum*. 2011; 41 (3): 497–502. doi: 10.1016/j.semarthrit.2011.05.004.
62. Teichmann L.L., Woenckhaus M., Vogel C. et al. Fatal Pneumocystis pneumonia following rituximab administration for rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2008; 47 (8): 1256–1257. doi: 10.1093/rheumatology/ken234.
63. King C., Harper L., Little M. The complications of vasculitis and its treatment. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018; 32 (1): 125–136. doi: 10.1016/j.berh.2018.07.009.
64. Galli M., Antinori S., Atzeni F. et al. Recommendations for the management of pulmonary fungal infections in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017; 35 (6): 1018–1028.
65. Sonomoto K., Tanaka H., Nguyen T.M. et al. Prophylaxis against pneumocystis pneumonia in rheumatoid arthritis patients treated with b/tsDMARDs: insights from 3787 cases in the FIRST registry. *Rheumatology*. 2022; 61 (5): 1831–1840. doi: 10.1093/rheumatology/keab647.
66. Jinno S., Akashi K., Onishi A. et al. Comparative effectiveness of trimethoprim-sulfamethoxazole versus atovaquone for the prophylaxis of pneumocystis pneumonia in patients with connective tissue diseases receiving prolonged high-dose glucocorticoids. *Rheumatol Int*. 2022; 42 (8): 1403–1409. doi: 10.1007/s00296-021-04945-w.
67. Kitazawa T., Seo K., Yoshino Y. et al. Efficacies of atovaquone, pentamidine, and trimethoprim/sulfamethoxazole for the prevention of Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with connective tissue diseases. *J Infect Chemother*. 2019; 25 (5): 351–354. doi: 10.1016/j.jiac.2019.01.005.
68. Stamp L.K., Hurst M. Is there a role for consensus guidelines for P. jirovecii pneumonia prophylaxis in immunosuppressed patients with rheumatic diseases? *J Rheumatol*. 2010; 37 (4): 686–688. doi: 10.3899/jrheum.091426.

Информация об авторах

Белов Борис Сергеевич — д. м. н., заведующий лабораторией коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-7091-2054. Researcher ID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN-код: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Гриднева Галина Игоревна — к. м. н., научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-0928-3911. ResearcherID: AFN-9929-2022. eLIBRARY SPIN-код: 2849-5029. Scopus Author ID: 56381565500.

Аронова Евгения Сергеевна — к. м. н., научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-1833-5357. Researcher ID AAD-1849-2019. eLIBRARY SPIN-код: 8993-5795. Scopus Author ID 55913403200.

Муравьева Наталья Валерьевна — к. м. н., научный сотрудник лаборатории коморбидных инфекций и вакцинопрофилактики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В. А. Насоновой», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-4327-6720. ResearcherID: AAF-4853-2021. eLIBRARY SPIN-код: 8418-4469. Scopus Author ID: 57210263706

About the authors

Boris S. Belov — D. Sc. in Medicine, Head of the Laboratory of Comorbid Infections and Vaccine Prevention; V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID:0000-0001-7091-2054. Researcher ID: ABD-2219-2020. eLIBRARY SPIN: 3298-4315. Scopus Author ID: 7004592537

Galina I. Gridneva — Ph. D. in Medicine, Researcher at the Laboratory of Comorbid Infections and Vaccine Prevention; V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-0928-3911. ResearcherID: AFN-9929-2022. eLIBRARY SPIN: 2849-5029. Scopus Author ID: 56381565500

Evgenia S. Aronova — Ph. D. in Medicine, Researcher at the Laboratory of Comorbid Infections and Vaccine Prevention; V. A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-1833-5357. Researcher ID: AAD-1849-2019. eLIBRARY SPIN: 8993-5795. Scopus Author ID: 55913403200

Natalia V. Muravyeva — Ph. D. in medicine, Researcher at the Laboratory of Comorbid Infections and Vaccine Prevention; V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-4327-6720. Researcher ID: AAF-4853-2021. eLIBRARY SPIN: 8418-4469. Scopus Author ID: 57210263706